

Resumen

El sistema de melanocortinas es un complejo sistema hormonal implicado en la regulación de diversas funciones fisiológicas.

Todas las melanocortinas derivan de un mismo precursor peptídico denominado proopiomelanocortina (POMC), en el que están integradas las diferentes hormonas estimuladoras de los melanocitos (MSHs), la hormona adrenocorticotropa (ACTH), y el péptido opioide β -endorfina. Las melanocortinas señalizan a través de 5 receptores (MC1R-MC5R), con diferentes grados de especificidad hormona-receptor, lo que supone un buen ejemplo de su coevolución. El sistema de melanocortinas es el único sistema hormonal que presenta antagonistas endógenos: la proteína de señalización agouti (ASIP) y la proteína relacionada con agouti (AGRP).

En mamíferos, ASIP actúa como un antagonista de MC1R. La modificación de la señalización del MC1R desequilibra la síntesis de pigmentos en el folículo piloso, potenciando la síntesis de feomelanina (pigmento amarillo-naranja) en lugar de eumelanina (pigmento negro-marrón). La expresión tegumentaria de ASIP es responsable del patrón de pigmentación dorso-ventral polarizado que tienen muchas especies de mamíferos. Esta polaridad puede observarse incluso cuando la especie presenta patrones más complejos. AGRP actúa como antagonista de MC4R, uno de los receptores de sistema nervioso central implicados en el control del metabolismo energético; a través de la regulación de la saciedad.

Se ha demostrado que ASIP es capaz de antagonizar la actividad del MC4R, lo que no ocurre en condiciones normales, ya que ASIP sólo se expresa de forma local en el tegumento, y nunca alcanza el MC4R cerebral. En la cepa de ratones mutantes "yellow" [A(vy)/a], la expresión de ASIP queda bajo el control de un promotor de expresión ubicua que permite su síntesis en todos los tejidos incluyendo el cerebro, accediendo al MC4R central. El bloqueo/disminución de la actividad constitutiva del MC4R en esta cepa de ratones, disminuye la sensación de saciedad, aumentando los niveles de ingesta que conllevan una tasa de crecimiento mayor, pero también el desarrollo de obesidad. En los peces teleósteos los antagonistas endógenos del sistema de melanocortinas están duplicados debido a una tercera duplicación genómica (R3) específica de su rama evolutiva. Los cuatro péptidos antagonistas se identificaron inicialmente como ASIP1, ASIP2, AGRP1, y AGRP2. El principio de parsimonia asocia la expresión polarizada de ASIP1 en el tegumento de estos peces con el desarrollo del patrón de pigmentación dorsoventral que se puede observar en muchas especies y la expresión hipotalámica de AGRP1 con el control de la ingesta.

El objetivo de esta tesis doctoral es demostrar la implicación del sistema de melanocortinas en la regulación de la pigmentación y el balance energético de peces mediante relaciones causas-efecto de sus antagonistas endógenos.

Para alcanzar este objetivo, en primer lugar, caractericé los genes ASIP1 en dos especies de peces planos: el rodaballo (*Scophthalmus maximus*) y el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*). La elección de este grupo de teleósteos se debe a la extrema polaridad pigmentaria dorsoventral que presentan los peces planos, las numerosas malformaciones pigmentarias que aparecen en cultivo, y a la carencia de secuencias génicas caracterizadas de ASIP1 en pleuronectiformes. Los experimentos demostraron que ASIP1 se expresa masivamente en la región ventral y apenas es detectable en la región dorsal. Además, los resultados sugieren que la expresión ectópica de ASIP1 podría ser la responsable del pseudoalbinismo observado en los peces planos de cultivo.

En segundo lugar, desarrollamos una nueva línea transgénica de peces cebrá (*Danio rerio*) (tgASIP1) que expresa el gen ASIP1 de pez dorado (*Carassius auratus*) de forma constitutiva. Esta expresión ubicua rompía la polaridad de la expresión de ASIP1 en el tegumento y, permitía que este antagonista accediera al MC4R cerebral. El antagonismo competitivo de ASIP sobre MC1R y MC4R permite estudiar al mismo tiempo la implicación del sistema de melanocortinas en el control de la pigmentación y de la ingesta/crecimiento.

Los experimentos llevados a cabo revelaron que la sobreexpresión de ASIP1 produce una “ventralización” de la piel dorsal mediante inhibición de la diferenciación de los melanóforos y desvelan la existencia de dos patrones de pigmentación superpuestos en el pez cebrá. Un patrón de pigmentación dorsoventral básico, que se puede considerar como el ancestral, sobre el que se superpone el patrón bandeado característico de la especie, más moderno desde el punto de vista evolutivo. Estos dos patrones de coloración tienen un mecanismo de regulación diferente, como demuestra el hecho de que ASIP1 sea capaz de desorganizar el patrón dorsoventral sin afectar el patrón bandeado.

La expresión ubicua de ASIP también muestra la implicación del sistema de melanocortinas en la regulación del balance energético y el crecimiento de los peces. Los experimentos de ingesta llevados a cabo demostraron que los peces tgASIP1 tienen tasas de ingesta mayores. Los análisis transcriptómicos del cerebro de estos peces revelaron alteraciones en diversos sistemas neurales capaces de modificar la saciedad. Los experimentos de ingesta también demostraron que con tasas de ingesta restringidas los peces tgASIP1 son capaces de crecer hasta un 15% más en longitud, con incrementos asociados de peso de hasta el 50%, sugiriendo una mejora en la conversión de alimento.

Finalmente, la exploración de posibles mecanismos de regulación de la expresión de ASIP, puso de manifiesto que la administración oral de triyodotironina (T3) produce una inhibición reversible de la melanogénesis que conlleva una evidente palidez pigmentaria. Estos resultados sugieren que la presencia demostrada de componentes tirogénicos en los piensos de cultivo podría inducir problemas pigmentarios en los peces cultivados.