

HEXAPÉPTIDO ESTIMULA CRECIMIENTO Y SISTEMA INMUNE EN PECES Y CRUSTÁCEOS

ENTIDAD EJECUTORA PRINCIPAL: Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB).

AUTORES PRINCIPALES: Rebeca Martínez (18%), Liz Hernandez (16%) , Yamila Carpio (16%), Mario Pablo Estrada (16%).

OTROS AUTORES: Lazaro Gil Gonzalez, (4%); Antonio Morales (4%); Fidel Herrera (4 %); Amilcar Arenal (4 %) ; Juana Maria Lugo (4 %) ; Sonia Gonzalez (4%), Osmany Gonzalez (4%), Ramon Franco (2); Leonardo Martin (2); Eulogio Pimentel (2%)

COLABORADORES: Olimpia Carrillo, Claudina Zaldívar, Liliana Basabe, Yeny Leal, Alina Rodríguez.

FILIACIÓN: CIGB. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Departamento de Biotecnología Acuática, División de Biotecnología Animal

AUTOR PARA LA CORRESPONDENCIA:

Dr. Rebeca Martínez Rodríguez

Departamento de Biotecnología Acuática

Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.

Ave 31 entre 158 y 190. Cubanacán, Playa. Apartado Postal 6162

Fax: 273 1779, Teléfono: 271 6022 Ext. 5155

E. mail: rebeca.martinez@cigb.edu.cu

RESUMEN

La acuicultura constituye un sector de gran importancia para satisfacer las necesidades de alimento en el mundo actual donde la población crece a ritmo acelerado. Este sector puede constituir una fuente importante de proteína de alto nivel nutricional, aunque los rendimientos para lograr este papel son aún insuficientes. Con este objetivo, la estimulación del crecimiento y del sistema inmune en los organismos acuáticos ha sido uno de los aspectos estudiados, debido al problema que constituye las pérdidas por infecciones de bacterias, virus y parásitos. La búsqueda de moléculas que permitan una respuesta inmune más eficiente en los peces

constituye una importante línea de investigación en este contexto. En este sentido, se ha evidenciado que el empleo de estimuladores del crecimiento contribuyen tanto al crecimiento y como a desarrollo de sistema inmune de peces y crustáceos. El péptido liberador de la hormona de crecimiento (GHRP-6) es un péptido sintético, reconocido por un receptor específico, que ha demostrado sus beneficios en la estimulación de crecimiento y sistema inmune en peces y crustáceos. En el presente trabajo se evidenció el incremento de peso al administrar el péptido por vía oral encapsulado y no encapsulado en juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Además se incluyó en una formulación al pienso y se alimentaron larvas de tilapia (*Oreochromis niloticus*) donde además de la ganancia en peso, estimuló parámetros del sistema inmune de estos animales como título de lectinas y el número de linfocitos intra epiteliales intestinales. Al añadir el péptido por baños de inmersión en camarones incrementó el peso y la talla, el número de espinas rostrales y arcos branquiales, así como la concentración de proteínas y número de hemocitos en los mismos. Se evaluó la capacidad del péptido para estimular la respuesta inmune humoral contra antígenos co –inyectados en tilapia (*Oreochromis niloticus*) y en claria (*Clarias gariepinus*) obteniéndose mayor número de peces que responden a la inmunización y mayor respuesta de anticuerpos específicos en los mismos. En este trabajo se logró, por primera vez, la comprobación de la estimulación del crecimiento y el sistema inmune de un péptido GHRP-6 mediante diferentes vías de administración en peces y crustáceos, así como su función como adyuvante de la respuesta inmune en peces. Estos resultados permiten un mayor conocimiento de la fisiología de los organismos acuáticos así como la posibilidad de aplicar esta molécula en los cultivos de los mismos, incrementando rendimiento y sanidad acuícola.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura constituye un sector de gran importancia para satisfacer las necesidades de alimento en el mundo actual donde la población crece a ritmo acelerado. Este sector puede constituir una fuente importante de proteína de alto nivel nutricional, aunque los rendimientos para lograr este papel son aún insuficientes. Con este objetivo, la estimulación del crecimiento y del sistema inmune en los organismos acuáticos ha sido uno de los aspectos estudiados, debido al problema que constituye las pérdidas por infecciones de bacterias, virus y parásitos. La búsqueda de moléculas que permitan una respuesta inmune más eficiente en los peces constituye una importante línea de investigación en este contexto. En este sentido, se ha evidenciado que el empleo de estimuladores del crecimiento contribuyen tanto al crecimiento y como a desarrollo de sistema inmune de peces y crustáceos.

El péptido sintético GHRP-6 (Growth Hormone-Releasing Peptide 6) es un péptido sintético de 6 aminoácidos (His-(D-Trp)-Ala-Trp-(D-Phe)-Lys-NH₂, MW = 872.44 Da) y constituye un agonista del receptor de secretagogos de la hormona de crecimiento. Los secretagogos endógenos de la hormona de crecimiento y los compuestos análogos a los secretagogos, poseen numerosas funciones, que no se limitan a la liberación controlada de hormona de crecimiento, sino que incluye: el control y regulación del apetito y la ganancia de peso, la

estimulación del sistema inmune, la cardioprotección, entre otras. La mayoría de los efectos de estos compuestos se han observado en mamíferos, aves y peces. El presente trabajo trata de la demostración del efecto del péptido GHRP-6 sobre el crecimiento y la estimulación del sistema inmune en peces y crustáceos.

La figura 1 muestra que el péptido GHRP-6 estimula el crecimiento en juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus*) cuando se administra oralmente ya sea encapsulado o no encapsulado.

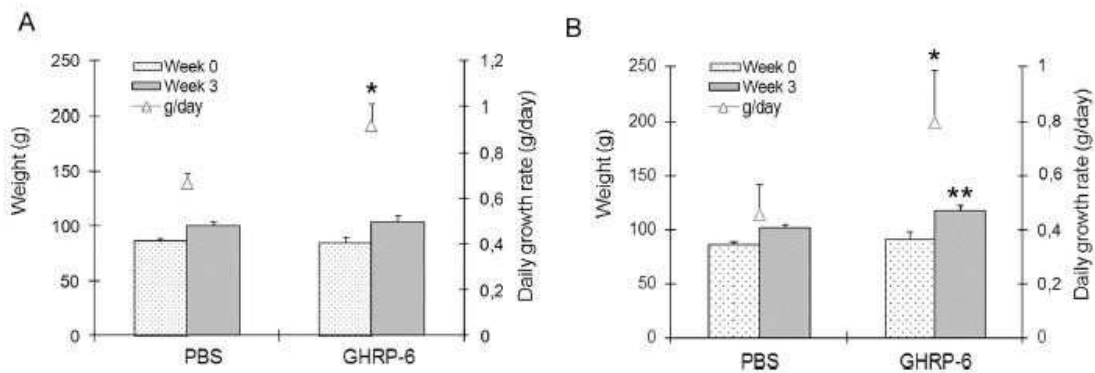


Figura 1. Efecto en el peso corporal y la razón de crecimiento diario de GHRP-6 administrado oralmente en forma no-encapsulada (A) y en forma encapsulada empleando quitosano y alginato (B) en juveniles de tilapia durante 3 semanas. Eje izquierdo: Peso (g). Eje derecho: razón de crecimiento diario (g/día). * indica $p < 0.05$; ** indica $p < 0.01$.

De igual manera en larvas de tilapia, la inclusión en el pienso estimuló el crecimiento y parámetros del sistema inmune como la concentración de proteínas totales, los títulos de lectinas y el número de linfocitos intraepiteliales (Figuras 2, 3 y 4).

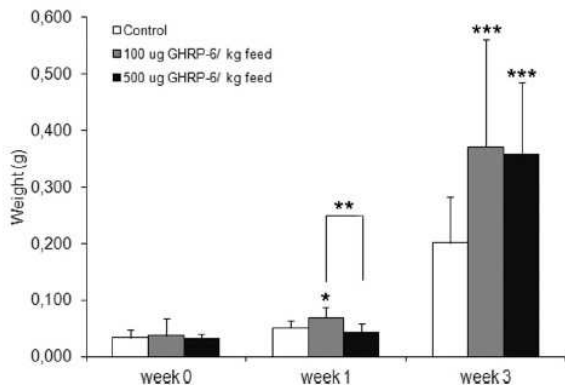


Figura 2. Experimento de crecimiento en larvas de tilapia alimentadas con el péptido GHRP-6. Control negativo: pienso sin péptido GHRP-6 incluido * indica $p < 0.05$; ** indica $p < 0.01$; *** indica $p < 0.001$.

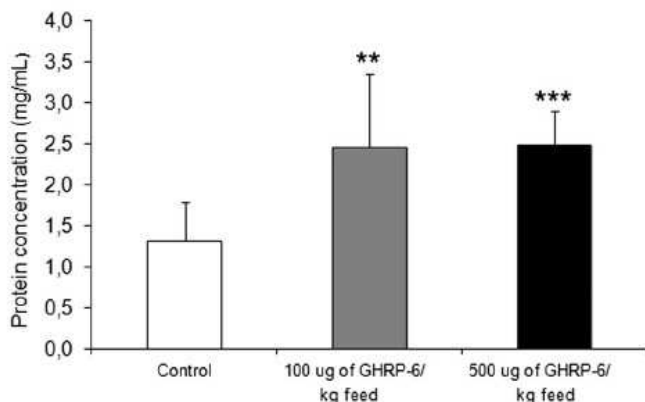


Figura 3. Concentración de proteínas totales en homogenados de larvas de tilapia alimentadas con el péptido GHRP-6. Control negativo: pienso sin péptido GHRP-6 incluido ** indica $p < 0.01$; *** indica $p < 0.001$

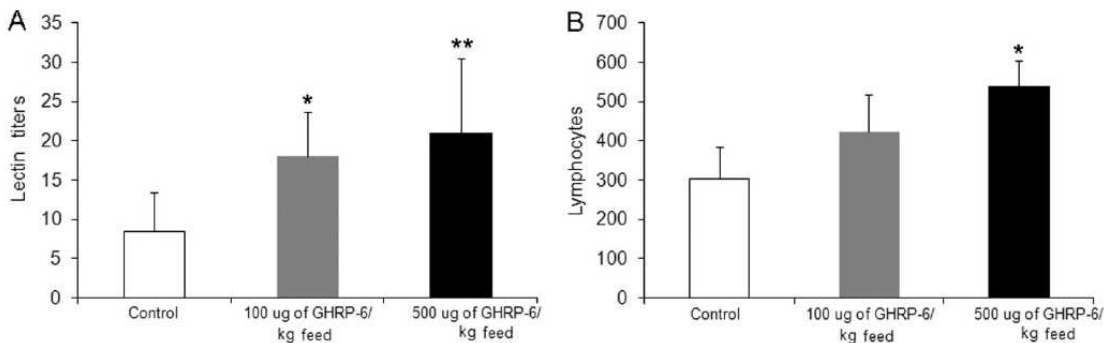


Figura 4. Parámetros inmunes en homogenados de larvas alimentadas con el péptido GHRP-6: Títulos de hemaglutinación de lectinas (A) y linfocitos intraepiteliales (B). Control negativo: pienso sin péptido GHRP-6 incluido (*) indica $p < 0.05$; (**) indica $p < 0.01$.

Estos resultados (*Aquaculture* **452** (2016) 304–310) son de relevancia pues es la primera vez que se demuestra que la inclusión del péptido en el pienso para administrarse por vía oral estimula el crecimiento y parámetros del sistema inmune en tilapias (*O. niloticus*). En este sentido es importante considerar que la nutrición desempeña un papel importante en el funcionamiento de la respuesta inmune innata y esta es potenciada por aditivos o sustancias alimenticias.

Por otra parte, el péptido GHRP-6 administrado por vía intraperitoneal estimuló los títulos de anticuerpos y el número de animales que respondieron ante la inmunización con el antígeno P0-my32Ls (Figura 9).

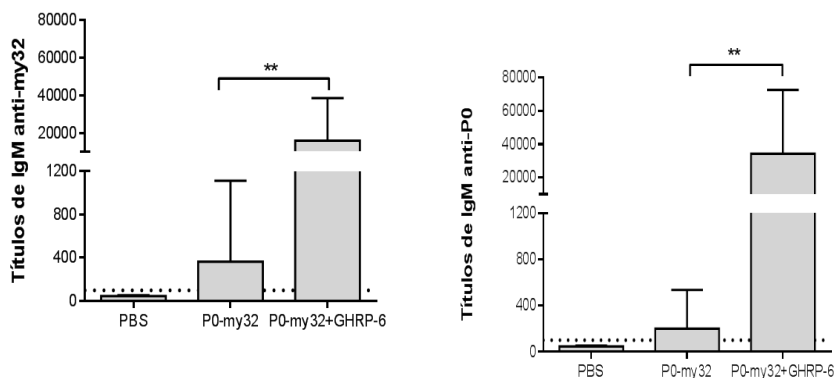


Figura 5 Respuesta de anticuerpos en tilapias (*O.niloticus*) inmunizadas con una mezcla del antígeno P0-my32Ls y el péptido GHRP-6. ** indica diferencias significativas $p < 0.01$.

De forma similar, en clarias (*Clarias gariepinus*) la inyección de GHRP-6 con el antígeno P0-TT estimuló los títulos de anticuerpos en comparación con el grupo control (Figura 10).

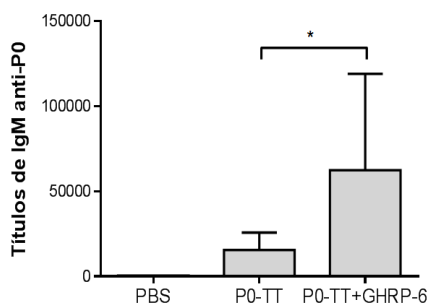


Figura 6. Respuesta de anticuerpos en clarias (*C. gariepinus*) inmunizadas con una mezcla del antígeno P0-TT y el péptido GHRP-6. * indica diferencias significativas $p < 0.05$.

Estos resultados (*Vaccine* **35** (2017) 5722–5728) tiene una gran novedad e importancia práctica debido a que no existen informes previos hasta la fecha acerca del uso de este péptido sintético como adyuvante molecular, y a que se logró estimular una respuesta inmune que incrementó los niveles de anticuerpos y a su vez el número de peces capaces de

responder ante la inmunización. Este último aspecto resulta de importancia en estos organismos debido a la gran variabilidad que presentan.

Por otra parte, la administración del péptido sintético GHRP-6 por baños de inmersión en larvas de camarones (*Litopenaeus schmitii* y *Litopenaeus vannamei*) estimuló parámetros del crecimiento (talla, peso, número de arcos branquiales y espinas rostrales) de los mismos y además tuvo un efecto potenciador sobre factores del sistema inmune (conteo total de hemocitos) (*Aquaculture Research*, 2017, 1–14).

NOVEDAD CIENTÍFICA DEL TRABAJO

✚ Demostración del incremento en peso por acción del péptido GHRP-6 utilizando diferentes vías de administración en peces y crustáceos.

✚ Demostración de la estimulación del sistema inmune por acción del péptido GHRP-6 en peces y crustáceos.

✚ Demostración de la actividad del péptido GHRP-6 como adyuvante molecular, incrementando el valor de la respuesta inmune ante antígenos proteicos y el número de peces respondedores.

IMPORTANCIA PRÁCTICA PRINCIPAL DEL TRABAJO

✚ Evidencia de la actividad estimuladora del crecimiento y el sistema inmune de este péptido, en peces y crustáceos que valida su aplicación en los cultivos, utilizando diversas formas de administración, oral, inmersión, incluido en el pienso, así como formando parte de formulaciones vacunales contra agentes patógenos, lo cual incrementaría la sanidad acuícola.

PUBLICACIONES

✚ Rebeca Martínez, Yamila Carpio, Antonio Morales, Juana María Lugo, Fidel Herrera, Claudina Zaldívar, Olimpia Carrillo, Amílcar Arenal, Eulogio Pimentel, Mario Pablo Estrada. *Aquaculture* **452** 304–310, 2016. **Impact Factor: 2,57** Thomson ISI, SCOPUS. [dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.014](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.014)

✚ Rebeca Martínez*, Yamila Carpio*, Amílcar Arenal, Juana María Lugo, Reynold Morales, Leonardo Martín, Ramón Franco Rodríguez, Jannel Acosta, Antonio Morales, Jorge

Duconge, Mario Pablo Estrada. **Aquaculture Research**. (2017) 1-14. doi:10.1111/are.13286
Impact Factor: 1,46

🇨🇺 Rebeca Martínez, Liz Hernández, Lázaro Gil, Yamila Carpio, Antonio Morales, Fidel Herrera, Alina Rodríguez-Mallón , Yeny Leal , Aracelys Blanco , Mario Pablo Estrada.
Vaccine 35 (2017) 5722–5728. **Impact Factor: 3,23**

🇨🇺 Patente: Uso de péptido secretagogo de la hormona de crecimiento como adyuvante vacunal. (Use of a Growth Hormone Secretagogue Peptide as vaccine adjuvant) Autores: Martínez Rebeca, Hernández Liz, Gil Lázaro, Carpio Yamila, Estrada Mario Pablo.

Number: **CU2016-0161**, Priority date 1 Noviembre de 2016

PRESENTACIONES EN EVENTOS CIENTÍFICOS

🇨🇺 II Taller Internacional Pesca, Contaminación y Medio Ambiente, Habana 2016. 🇨🇺
Vaccipharma , Varadero, Cuba 2017

🇨🇺 XIV Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, México. 2017.

🇨🇺 Premio PAMBA 2017

AVALES:

🇨🇺 Aval de la Prof. Titular Dra Laida Ramos, Centro de Investigaciones Marinas. Universidad de la Habana.

🇨🇺 Aval de la Dra Raquel Silveira. Sub Directora de Sanidad Acuícola Centro de Investigaciones Pesqueras, Cuba.