

B. Alimentación y nutrición I, II, III

## ASPROSINA: REGULACIÓN DE LA INGESTA EN EPISODIOS DE ESTRÉS AGUDO

**Leal E<sup>1</sup>, Angotzi R<sup>1</sup>, Blanco AM<sup>2</sup>, Cerdá-Reverter JM<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología y Biotecnología de Peces, Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal, IATS, CSIC, Castellón de la Plana, España.

<sup>2</sup>Departamento de Biología Funcional e Ciencias da Saúde, Universidade de Vigo, Pontevedra, España.

### Resumen

Nuestros datos preliminares muestran que la Asp se conserva evolutivamente y que se expresa en el tejido adiposo desde etapas muy tempranas del desarrollo, sugiriendo que puede ser un péptido importante en la regulación de la ingesta en peces, transduciendo información energética desde el tejido adiposo y utilizando el sistema de melanocortinas como efector central. Hemos evidenciado en el cerebro de pez cebra una co-expresión del receptor de Asp (Ptprd) con células AgRP (proteína relacionada con agutí), apoyando la teoría de una posible función orexigénica de la Asp (Mishra et al., 2022). Nuestros estudios recientes en peces cebra han demostrado que los niveles de expresión de TyKr, se modulan dependiendo del estado fisiológico de los peces cebra. Asimismo, también hemos sido capaces de producir Asp recombinante de pez cebra, detectándola mediante un anticuerpo policlonal de Asp humano (Cloud-Clone) y semi-cuantificarla utilizando Asp recombinante humana como referencia. Inyecciones intraperitoneales de Asp recombinante humana, mitigan la inanición que provoca dicho proceso, quedando por determinar sus efectos a nivel hepático.

### Introducción

La asprosina (Asp) se procesa en la región carboxilo-terminal de la fibrilina 1 (FBN1), una proteína esencial para la formación de fibras elásticas del tejido conjuntivo. Tras su procesado se secreta desde el tejido adiposo al torrente sanguíneo en función del nivel de grasa corporal (Romere et al., 2016). Tras atravesar la barrera hematoencefálica, activa las neuronas hipotalámicas que producen la proteína relacionada con agutí (AGRP), e inhibe las neuronas POMC, a través de una vía dependiente del GABA, para estimular la ingesta (Duerrschmid et al., 2017). Sus mutaciones son responsables del síndrome de Marfan provocando inapetencia, delgadez y laxitud articular entre otros síntomas. Los ratones mutantes para FBN1 muestran un fenotipo similar y la administración de Asp rescata el fenotipo salvaje. Los individuos obesos presentan niveles elevados de Asp, y su neutralización con anticuerpos reduce la ingesta y obesidad (Duerrschmid et al., 2017). A nivel hepático, tiene efecto glucogénico y su administración induce elevaciones glucosa e insulina plasmáticas (Romere et al., 2016). Recientemente, se ha publicado un trabajo en ratones (Mishra et al., 2022), identificando el receptor de la proteína tirosina fosfatasa  $\delta$  (Ptprd) como receptor orexigénico para Asp. En el cual, se ha determinado que la Asp posee una afinidad elevada por Ptprd en neuronas AgRP hipotalámicas, regulando la actividad de este circuito. Su ablación genética provoca una fuerte pérdida de apetito, delgadez e incapacidad para responder a los efectos orexigénicos de la Asp. La introducción del dominio de unión al ligando soluble de Ptprd suprime el apetito y los niveles de glucosa en sangre secuestrando la Asp plasmática.

### Material y Métodos

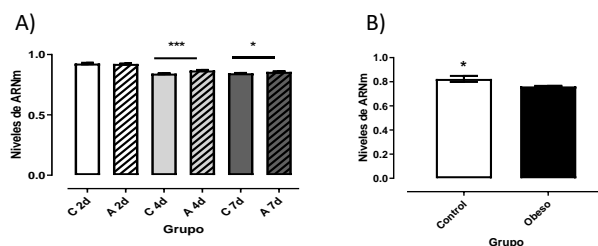
**Animales:** Peces cebra (*Danio rerio*) de la cepa AB KIJ8F3 se mantuvieron a 28°C con un fotoperiodo de 14h luz /10h oscuridad. Antes de su manipulación, los peces fueron anestesiados con tricafina, y se eutanasiaron mediante una sobredosis del mismo anestésico.

**Modulación de los niveles de expresión de Ptprd en función de la condición fisiológica de los peces:** En el primer experimento, los peces se dividieron en 4 grupos (n=7), el grupo control fue alimentado al 2% de su peso corporal, mientras que los otros grupos fueron ayunados durante 2, 4 y 7 días. En el segundo experimento, los peces se dividieron en dos grupos (n=6), durante un mes, el grupo control se alimentó al 2% mientras que el otro grupo fue sobrealimentado al 8% de su peso corporal (obeso).

**Inyecciones intraperitoneales de Asp:** Peces cebra de la cepa Tuebingen (Tu) se individualizaron y durante 8 días se alimentaron con 20 pellets, con el fin de evaluar su ingesta basal tras 2 y 4h. El día 9, 12 peces de cada grupo, se inyectaron intraperitonealmente con Asp recombinante humana (Cloud-Clone) en 2 dosis (0.5 y 2.5  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) para comparar sus niveles de ingesta con los animales inyectados con salino (CTRL). Tras media hora se les administraron 20 pellets y a las 2 y 4h se evaluó su porcentaje de ingesta por gramo de pez.

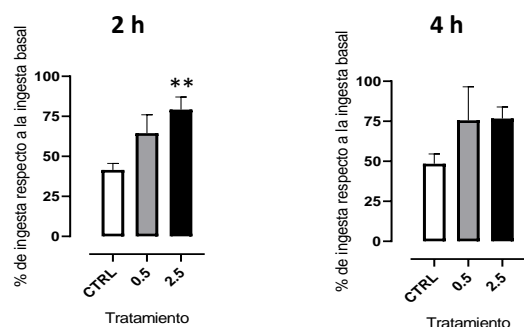
## Resultados y discusión

La condición fisiológica de los peces cebra influye en la modulación de los niveles de expresión de Ptpd. Como muestra la figura 1, el ayuno a partir de 4 días, incrementa significativamente los niveles de expresión encefálica del receptor, mientras que la sobrealimentación, durante un mes, provoca una reducción significativa de sus niveles de ARNm. Nuestros resultados sugieren que, durante periodos de ayuno, el receptor hay una mejora en la sensibilidad de la Asp, que podría desencadenar una respuesta orexigénica. Esta respuesta podría ser mediada a través de la estimulación de las neuronas AGRP, donde ya hemos demostrado la co-expresión del receptor. En concordancia con la hipótesis, se ha descrito una elevación de los niveles de Asp plasmáticos en individuos obesos (humanos y ratones) (Summers et al., 2023).



**Figura 1.** Niveles de expresión de Ptpd en el cerebro. A) Niveles de expresión de Ptpd en peces controles y ayunados (2, 4 y 7 días). B) Niveles de expresión de Ptpd en peces controles y obesos. Los asteriscos marcan diferencias significativas entre grupos tras aplicar un *T-Student*.

La figura 2 muestra como la inyección (Asp o salino) reduce la ingesta en todos los grupos, con referencia al histórico previo (8 días), en un claro efecto del estrés. Sin embargo, en los animales inyectados con la dosis más alta de Asp este descenso no es tan acusado tras 2h, sugiriendo, que la administración de Asp estimula la ingesta durante periodos de estrés agudo. Sin embargo, es difícil discernir entre los efectos de mitigación de la anorexia inducida por el estrés y la inducción de la ingesta *per se*, derivada de la administración de Asp y nuestros experimentos futuros intentarán segregar tal disyuntiva.



**Figura 2.** Porcentaje de los niveles de ingesta tras la inyección de Asp a las 2 y 4 horas respecto a su nivel basal previo registrado durante 8 días consecutivos. Los asteriscos muestran diferencias significativas respecto al control tras aplicar un ANOVA de una vía seguido de un test de Tukey.

## Palabras clave

Pez cebra, asprosin, ingesta, TyKR.

## Bibliografía

Duerrschmid C., He Y., Wang C., Li C., Bournat JC., Romere C., Saha PK., et al., 2017. Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. *Nat Med.* 23(12):1444-1453.

Mishra I., Xie WR., Bournat JC., He Y., Wang C., Silva ES., Liu H., et al., 2022. Protein tyrosine phosphatase receptor  $\delta$  serves as the orexigenic asprosin receptor. *Cell Metabolism* 34, 549–563.

Romere C., Duerrschmid C., Bournat J., Constable P., Jain M., Xia F., et al., 2016. Asprosin, a Fasting-Induced Glucogenic Protein. *Hor Cell* 165(3):566-79.

Summers KM., Bush SJ., Davis MR., Hume DA., Keshvari S., Jennifer A., West JA. 2023. Fibrillin-1 and asprosin, novel players in metabolic syndrome. *Molecular Genetics and Metabolism* 138:106979.

**Agradecimientos.** Financiado por fondos europeos (FSE) de la Generalitat Valenciana, proyecto APOSTD y por el Ministerio Español de Innovación y ciencia, proyecto PID2022-136288OB-C33.

esther@iats.csic.es