

Patología y Sanidad

Diseño de péptidos sintéticos antivirales frente a nodavirus para su uso en acuicultura

Yulema Valero¹, Constanza Cárdenas², Fanny Guzmán², Elena Chaves-Pozo³, Alberto Cuesta¹

¹Grupo de Inmunobiología para la Acuicultura, Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, Murcia, España

²Núcleo Biotecnología Curauma (NBC), Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile

³Grupo de Fisiología y Bienestar de Especies Marinas (PHYSIS), Centro Oceanográfico de Murcia, Instituto Español de Oceanografía (COMU-IEO), CSIC, Carretera de la Azohía s/n. 30860, Puerto de Mazarrón, Murcia, España

Resumen

El diseño de péptidos sintéticos antivirales se postula como una potencial alternativa a la falta de recursos eficientes en la lucha frente a nodavirus (NNV), un virus neurotrópico de fácil dispersión y gran estabilidad en el medio acuático que se ha expandido en las últimas décadas por todo el mundo. Afecta a multitud de especies de agua salada y dulce, tanto salvajes como cultivadas. Además, la cohabitación de distintas cepas ha favorecido la aparición de virus recombinantes que han alterado el patrón de susceptibilidad de las distintas especies de peces, complicando la situación especialmente en especies cultivadas. Actualmente existen sólo dos vacunas comerciales parcialmente eficaces frente a la cepa RGNNV, por lo que la búsqueda de tratamientos preventivos o paliativos alternativos se hace especialmente relevantes en el momento actual. En este trabajo hemos diseñado, a partir de la secuencia de la cápsida de la cepa RGNNV, y sintetizado nueve péptidos que potencialmente interfieren en fases críticas del ciclo vital de NNV. De los nueve péptidos, uno no mostró actividad mientras que ocho tiene actividad antiviral dependiendo del genotipo viral al que se enfrenten. En el caso de la efectividad contra RGNNV, tres mostraron una eficacia superior al 80%, con uno alcanzando el 90%. Estos resultados postulan a estos péptidos como tratamientos alternativos a la prevención por vacunas, aunque son necesarios estudios adicionales que proporcionen información sobre su mecanismo de acción.

Introducción

La incidencia de nodavirus (NNV, familia *Nodaviridae*, género *Betanodavirus*) en peces está en continua expansión, con una amplia diversidad de especies afectadas, tanto de cultivo como salvajes, y una distribución geográfica mundial (Bandín y Souto 2020, Valero y Cuesta 2023). NNV es un virus no envuelto, icosaédrico y bi-partito, de ARN de cadena simple en sentido positivo, causante de una encefalopatía y retinopatía neurotrópica, con signos clínicos específicos como natación errática y espasmódica. Dependiendo de la cepa, se ha descrito que NNV puede mostrar un alto o bajo tropismo por ciertas especies de peces, siendo capaz de infectar persistentemente a especies portadoras asintomáticas o desencadenar brotes extremadamente letales en las especies susceptibles (Bandín y Souto 2020). Así, el NNV del mero rojo (RGNNV) provoca tasas de mortalidad de hasta el 100% en lubina (*Dicentrarchus labrax*) (LeBreton *et al.* 1997). Su estabilidad en el ambiente acuático y su capacidad de replicación y dispersión en un amplio rango de temperaturas del agua se añaden a la falta de medidas de prevención efectivas disponibles hasta la fecha constituyendo un gran riesgo para el sector acuícola. El diseño y síntesis de péptidos antivirales efectivos es una alternativa interesante a otras herramientas antivirales, como las vacunas. La capacidad de crear diseños específicos que pueden adaptarse a condiciones particulares de los cultivos los posiciona como una herramienta con alto potencial. En este trabajo, hemos diseñado y evaluado la actividad antiviral de diferentes péptidos capaces de interferir en el ciclo vital de NNV como primer paso para el desarrollo de antivirales efectivos en peces.

Material y métodos

En este trabajo, se realizó el diseño de diversos péptidos que pudiesen interferir en pasos clave del ciclo vital de NNV (Cárdenas *et al.* 2020). Para ello, se utilizó la secuencia de la cápsida de RGNNV (AAZ23225) para evaluar las potenciales regiones a bloquear. A partir de las mismas, se sintetizaron siete péptidos mediante el sistema de péptidos múltiples en fase sólida utilizando aminoácidos Fmoc, de acuerdo

con una metodología previamente descrita (Santana *et al.* 2013). Utilizando la línea celular E-11, se evaluó la actividad antiviral (León *et al.* 2020) de los péptidos sintéticos de forma individualizada o combinada, a diferentes concentraciones, frente a las cuatro cepas de NNV de relevancia en la acuicultura mediterránea: RGNNV, SJNNV, RGNNV/SJNNV y SJNNV/RGNNV.

Resultados y discusión

De los nueve péptidos sintéticos analizados, únicamente tres evidenciaron propiedades antivirales contra RGNNV con una eficacia superior al 80%, destacando uno con una eficiencia del 90%. Notablemente y a pesar de su diseño basado en la secuencia de la cápsida de RGNNV, ocho péptidos exhibieron una actividad del 82-90% frente a SJNNV, independientemente de la concentración utilizada. Sin embargo, solamente un péptido fue eficaz contra RGNNV/SJNNV y ninguno contra SJNNV/RGNNV. Cabe destacar que la utilización combinada de péptidos alteró el perfil antiviral de los mismos, con una única mezcla efectiva contra RGNNV, ninguna contra SJNNV y todas contra RGNNV/SJNNV (eficacia >98%). Contrariamente a los péptidos individuales, la combinación de péptidos fue efectiva SJNNV/RGNNV. Los hallazgos subrayan la importancia de realizar estudios adicionales para entender profundamente el mecanismo de acción de los péptidos.

Palabras Clave:

Nodavirus, péptidos sintéticos, ciclo viral, antiviral

Bibliografía

Bandín, I. y Souto, S. 2020. Betanodavirus and VER disease: A 30-year research review. *Pathogens*. 9: 106.

Cárdenas, C., Guzmán, F., Carmona, M., Muñoz, C., Nilo, L., Labra, A. y Marshall, S. H. 2020. Synthetic peptides as a promising alternative to control viral infections in Atlantic salmon. *Pathogens* 9: 600.

LeBreton, A., Grisez, L., Sweetman, J. y Ollevier, F. 1997. Viral nervous necrosis (VNN) associated with mass mortalities in cage-reared sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L). *J Fish Dis*. 20: 145-51.

León, R., Ruiz, M., Valero, Y., Cárdenas, C., Guzmán, F., Vila, M. y Cuesta, A. 2020. Exploring small cationic peptides of different origin as potential antimicrobial agents in aquaculture. *Fish Shellfish Immunol*. 98: 720-7.

Santana, P. A., Álvarez, C. A., Guzmán, F. y Mercado, L. 2013. Development of a sandwich ELISA for quantifying hepcidin in rainbow trout. *Fish Shellfish Immunol*. 35: 748-55.

Valero, Y. y Cuesta, A. 2023. Reassortant viruses threatening fish aquaculture. *Rev Aquac*. 15: 1720-1731.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 (PID2022-139492NB-I00 a A.C.), por el programa ThinkInAzul (PRTR-C17.I1) cofinanciado por la Unión Europea: NextGenerationEU, el Ministerio de Ciencia e Innovación-Agencia estatal de Investigación: MCIN/AEI 10.13039/501100011033 y la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia: Fundación Séneca, por el programa Juan de la Cierva-Incorporación (IJC2020-042733-I a Y.V.) y por el Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico de Chile (FONDECYT 1210056 a C.C. y F.G.).

Correo del Autor

elena.chaves@ieo.csic.es