



AquaTIC

ISSN: 1578-4541

igjaugar@upv.es

Universidad de Zaragoza

España

Valero Cuesta, Yulema

Implicación de la respuesta inmunitaria de la gónada de peces durante una infección con  
nodavirus y desarrollo de vacunas.

AquaTIC, núm. 48, 2017, pp. 38-39

Universidad de Zaragoza

Zaragoza, España

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49454648017>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

**RESUMEN DE TESIS DOCTORAL****Implicación de la respuesta inmunitaria de la gónada de peces durante una infección con nodavirus y desarrollo de vacunas.****Yulema Valero Cuesta**Directores:

Dra. Elena Chaves Pozo

Dr. Alberto Cuesta Peñafiel

Dra. M<sup>a</sup> Ángeles Esteban Abad

Defendida el 27/07/2016 en la Universidad de Murcia.

Realizada en el Instituto Español de Oceanografía, Universidad de Almería.

Mención Internacional, *Cum laude***Resumen**

La dorada (*Sparus aurata*) y la lubina (*Dicentrarchus labrax*) son las especies de peces más importantes de la acuicultura Mediterránea y de España. Entre los principales problemas que impiden la mejora de su cultivo se encuentran las pérdidas económicas provocadas por patologías. Nodavirus (NNV), extendido por todo el mundo, incluido el Mediterráneo, produce elevadas mortalidades en lubina, sobre todo en larvas, mientras que infecta a doradas sin producir enfermedad. Además, NNV se transmite verticalmente y no existen métodos preventivos efectivos. Por ello, en esta Tesis Doctoral hemos estudiado la interacción entre la gónada de dorada/lubina y NNV y la respuesta inmunitaria desencadenada en cerebro y gónada de ambas especies (Parte 1<sup>a</sup> con cuatro capítulos) y cómo prevenir la enfermedad en ejemplares mediante vacunación (Parte 2<sup>a</sup> con 2 capítulos). Para ello, realizamos infecciones experimentales con NNV en lubinas y doradas observándose un 55% de mortalidad en la lubina y total resistencia en la dorada. Inicialmente, demostramos que NNV podía colonizar y replicar en el testículo de ambas especies detectándose RNA viral y rescatándose partículas infectivas mediante pases ciegos en líneas celulares en ambas especies. Además, se localizaron proteínas virales de la cápsida (CP y B2). Es más, NNV infectó células somáticas de ambas especies, aunque sólo células germinales de dorada. La infección con NNV alteró la síntesis y los niveles séricos de 17 $\beta$ -estradiol y 11-ketotestosterone así como la sensibilidad del cerebro y del testículo a estas hormonas, mientras que no hubo alteración de las funciones testiculares en ninguna especie según el índice gonadosomático, la morfología testicular y la expresión del gen *dmrt1*. Respecto a la respuesta inmunitaria, NNV desencadenó una alta respuesta inflamatoria en cerebro y gónada de lubina aunque en dorada dicha respuesta fue mucho menor. El interferón (IFN) es uno de los mecanismos antivirales más potentes. En esta Tesis hemos identificado varios genes de dorada y lubina que codifican moléculas implicadas en la ruta del IFN y evaluamos su expresión durante una infección con NNV en cerebro y gónada. En dorada, los genes identificados fueron *mda5*, *tbk1*, *irf3*, *ifn*, *mx* y *pkx*, cuya expresión se estimuló en cerebro pero no en gónada. Sin embargo, en lubina, además, también identificamos las secuencias génicas de *lpg2*, *mavs*, *traf3*, *tank* e *irf7*, siendo en la mayoría de ellos inhibida su expresión en cerebro pero estimulada en gónada. De una forma diferente a lo que ocurría con el IFN, la expresión de varios genes que codifican péptidos antimicrobianos (AMPs) se estimuló en el cerebro y gónada de lubina mientras que en dorada sólo se inhibió *c3*. Mediante una infección in vitro de gónada, pudimos determinar que, mientras algunos de los genes (*hamp*, *dic* y *lyz*) eran regulados localmente por la gónada otros (*c3*, *bdef*, *pis*) dependían más de la respuesta inmunitaria sistémica. Además de su función en la compactación del DNA durante la división celular, las histonas parecen poseer funciones antimicrobianas. Por ello, identificamos la secuencia completa de los genes que codifican las histonas H1 y H2b en lubina y dorada y estudiamos su expresión frente a NNV. Nuestros datos sugieren que la histona H1 puede tener un papel determinante en la respuesta inmunitaria contra NNV en el cerebro de las dos especies, mientras que la histona H2B parece ser más relevante en la respuesta inmunitaria de los leucocitos de riñón cefálico (HKLs). NNV es letal durante el desarrollo larvario, siendo estos

estadios, además, muy difíciles de vacunar debido a que su sistema inmunitario es inmaduro y a su pequeño tamaño. Teniendo en cuenta la dificultad de aplicación de vacunas inyectables a peces pequeños, encapsulamos una vacuna de DNA contra NNV en nanopartículas de quitosano y la administramos oralmente a juveniles de lubina durante 2 días. A los 90 días no se detectaron anticuerpos específicos frente a NNV pero se observó un incremento de la citotoxicidad mediada por células (CMC) y la respuesta del IFN en el intestino posterior así como un retraso en el comienzo de la mortalidad y una supervivencia del 45% tras una infección experimental. Después, estudiamos la posibilidad de inducir la inmunidad pasiva de las larvas mediante la vacuna de DNA administrada a las hembras progenitoras. Así, la inyectamos intramuscularmente en hembras reproductoras de lubina observando transferencia materna de proteínas con función bactericida, pero no de sus mRNA, ya que en huevos recién fertilizados vacunados esta actividad aumentó. No obstante, la inmunización de hembras reproductoras estimuló una respuesta innata mayor y más temprana. En resumen, nuestro estudio demuestra por primera vez la localización de NNV en células de testículo en peces y cómo la infección afecta a las funciones inmuno- endocrinas y la sensibilidad de los tejidos infectados a hormonas sexuales. Finalmente, diseñamos una vacuna de DNA con resultados prometedores como herramienta preventiva contra NNV cuando se administra a juveniles o reproductores.

*Palabras clave:* Peces, Nodavirus, Respuesta inmunitaria, Gónada, Vacunas.

## Publicaciones de la Tesis

---

Enlace al documento completo: <http://hdl.handle.net/10201/50623>

- Valero, Y., Arizcun, M., Esteban, M.A., Bandín, I., Oliveira, J.G., Patel, S., Cuesta, A., Chaves-Pozo, E. (2015). "Nodavirus colonizes and replicates in the testis of gilthead seabream and European sea bass modulating its immune and reproductive functions". PLoS One (12): e0145131.
- Valero, Y., Morcillo, P., Meseguer, J., Buonocore, F., Esteban, M.A., Chaves-Pozo, E., Cuesta, A. (2015). "Characterization of the interferon pathway in the teleost fish gonad against the vertically transmitted viral nervous necrosis virus". J Gen Virol (8): 2176-87.
- Valero, Y., García-Alcázar, A., Esteban, M.A., Cuesta, A., Chaves-Pozo, E. (2015). "Antimicrobial response is increased in the testis of European sea bass, but not in gilthead seabream, upon nodavirus infection". Fish Shellfish Immunol (1): 203-13.
- Valero, Y., Arizcun, M., Esteban, M.A., Cuesta, A., Chaves-Pozo, E. (2016). "Transcription of fish histones h1 and h2b suggests a potential role in immunity as antimicrobial peptides". Fish Shellfish Immunol. 57: 107-115.
- Valero, Y., Awad, E., Buonocore, F., Arizcun, M., Esteban, M.A., Meseguer, J., Chaves-Pozo, E., Cuesta, A. (2016). "An oral chitosan DNA vaccine against nodavirus improves the survival of European sea bass juveniles upon infection probably by triggering the cell-mediated toxicity and IFN responses". Dev Comp Immunol. 65: 64-72.