EFECTO DEL MEDIO AMBIENTE SOBRE EL DESARROLLO Y REPROGRAMACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN PECES

Manuel Krauskopf, Jaime Figueroa, Gudrun Kausel, Alfredo Molina y María Inés Vera

Instituto de Bioquímica, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Los mecanismos que permiten que los peces euritermales compensen las variaciones estacionales, constituyen un factor de relevancia para el manejo eficiente de la industria acuícola. El cultivo de peces, en regiones que exhiben largas fases con alternancias sustantivas en la temperatura y fotoperíodo, demanda el conocimiento de los aspectos moleculares que conforman las respuestas adaptativas. En particular, porque durante la estación fría los peces disminuyen notablemente la velocidad de crecimiento.

Para aproximar el estudio de los mecanismos que determinan el proceso de aclimatización hemos estudiado al pez *Cyprinus carpio*. En consonancia con nuestra hipótesis de trabajo que sostiene que la aclimatización del ectotermo se conforma a través de una reprogramación coordinada que compromete conmutaciones en la expresión génica, hemos observado que en efecto, existen diferencias notables en la expresión de genes nucleolares, situación que representa la disminución de la biogénesis de ribosomas y la consecuente caída de la síntesis proteica en invierno. Complementariamente, se han detectado cambios cuantitativos y cualitativos en la biosíntesis de proteínas que acontece en el hígado de la carpa. Por otra parte, las características fenotípicas asociadas a reprogramación de la expresión génica en distintos tejidos de la carpa, se revierten cuando se administra insulina a peces aclimatizados a invierno.

Parece apropiado concebir que los sistemas especializados del ectotermo euritermal no se compensan independientemente frente a la modificación de la temperatura ambiental, sino que configuran una respuesta global de ajuste a las condiciones de verano o invierno. En consecuencia postulamos que el proceso implica integración sensorial directa o indirecta a través del eje hipotálamo hipofisiario, desde donde se generarían "mandatos moleculares" para enfrentar la coordinación de la respuesta al estímulo ambiental.

En este contexto estudiamos la expresión del gen de prolactina en hipófisis de carpas aclimatizadas a invierno y verano. El contenido de prolactina se determinó por inmunocitoquímica utilizando un anticuerpo específico preparado con un conjugado peptídico que contenía una secuencia de 15 aminoácidos de la estructura primaria de prolactina de carpa. La transcripción se evaluó con una sonda que contenía la secuencia de los nucleótidos 2041-2064 del exon V del gen de prolactina de carpa. La hibridación *in situ* reveló, en verano, una notoria transcripción de prolactina. En cambio durante el invierno, la transcripción era escasamente visible. Concurrententemente la inmunocitoquímica distinguió, en la rostral pars distalis de pituitarias de carpas aclimatizadas a verano, un elevado contenido de la hormona. De modo contrario, en invierno, las células de la *rostral pars distalis* exhibían un nivel de hormona muy bajo. Experimentos de aclimatación sugieren que la regulación de la expresión génica de prolactina, si bien parece estar más determinada por el cambio de temperatura, está también afectada por el fotoperíodo.

La expresión de prolactina, como la de hormona de crecimiento y somatolactina en teleosteos, parecen estar moduladas por un factor de transcripción, el factor Pit-1, miembro de la familia POU implicada en el control del desarrollo en mamíferos. En efecto, Pit-1 está presente en peces y podría ser determinante en la expresión de hormonas comprometidas en la articulación molecular de la respuesta compensatoria a cambios ambientales.

Para estudiar Pit-1 de carpa se eligieron dos oligonucleótidos contenidos en una localización altamente conservada del dominio POU. Por amplificación por PCR se generó una sonda de 93 pb que en una hibridación en Northern blot, reconoció específicamente bandas de RNA proveniente de hipófisis de carpa de verano. Esta sonda se utilizó para rastrear una biblioteca genómica de carpa y otra, de cDNA de hipófisis de carpa. Existen varios recombinantes que parecen contener las secuencias de Pit-1. En particular, un recombinante proveniente de la biblioteca genómica.

La obtención de genes de Pit-1 permite el estudio de su transcripción durante el proceso de aclimatización y comprender su modo de regulación. De este modo, ampliamos el conocimiento existente sobre el sistema de transducción de las señales físicas del ambiente a una cascada molecular que responde articuladamente y que afecta el desarrollo de peces de interés comercial. (Financiado por Grants FONDECYT 1940845 e ICGEB GE/GLO/90/004, DID UACH 1330-2-09).