



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Anexo II

TITULACIÓN: Grado en Biología

MEMORIA INICIAL DEL TRABAJO FIN DE GRADO

CENTRO: Facultad de Ciencias Experimentales



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Facultad de Ciencias Experimentales

Título del Trabajo Fin de Grado: Implicación de la poli(ADP-ribosa) polimerasa en la respuesta de los principales sistemas enzimáticos antioxidantes al daño hipóxico en cerebelo

1. DATOS BÁSICOS DE LA ASIGNATURA

NOMBRE: Trabajo Fin de Grado

CÓDIGO: 10216001

CARÁCTER: Obligatorio

Créditos ECTS: 12

CURSO: Cuarto

CUATRIMESTRE: Segundo

2. TUTOR/COTUTOR(en su caso)

Eva Siles Rivas/Esther Martínez Lara

3. VARIANTE Y TIPO DE TRABAJO FIN DE GRADO (Artículo 8 del Reglamento de los Trabajos Fin de Grado)

Específico y experimental (Alumna: Victoria del Alba Moral Ortiz)

4. COMPETENCIAS (*) Y RESULTADOS DE APRENDIZAJE

Competencias generales:

CG6. Realizar análisis crítico de trabajos científicos y familiarizarse con su estructura.

CG7. Utilizar las fuentes de información dentro del ámbito de las Ciencias de la Vida.

CG9. Aplicar los principios básicos del pensamiento y del método científico.

Competencias transversales:

CT1. Adquirir capacidad de gestión de la información, análisis y síntesis

CT3. Ser capaz de comunicarse correctamente de forma oral y escrita en la lengua materna

CT4. Conocer una lengua extranjera

CT6. Desarrollar actitudes críticas basadas en el conocimiento

CT7. Ser capaz de realizar aprendizaje autónomo para el desarrollo continuo profesional

CT8. Ser capaz de adaptarse a nuevas situaciones y de tomar decisiones

CT9. Tener sensibilidad hacia temas de índole social y medioambiental

Competencias Específicas:

* Estas son las competencias mínimas. Añadir las competencias necesarias para cada Trabajo Fin de Grado propuesto

Resultados de aprendizaje

**Resultado
216001A**

Capacidad de integrar creativamente sus conocimientos para resolver un problema biológico real.



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Resultado 216001B	Capacidad para estructurar una defensa sólida de los puntos de vista personales apoyándose en conocimientos científicos bien fundados.
Resultado 216001C	Destreza en la elaboración de informes científicos complejos, bien estructurados y bien redactados.
Resultado 216001D	Destreza en la presentación oral de un trabajo, utilizando los medios audiovisuales más habituales.

5. ANTECEDENTES

La disminución de la presión parcial de oxígeno en los tejidos, órganos o sistemas se conoce como hipoxia. Este insuficiente aporte de oxígeno es crítico en la patogénesis de diversas enfermedades como isquemia, infarto de miocardio, cáncer y patologías pulmonares crónicas o cerebro-vasculares, todas ellas incluidas entre las principales causas de mortalidad en España según los últimos estudios del Instituto Nacional de Estadística.

La hipoxia y posterior reoxigenación generan un estrés celular que se traduce en un aumento en la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) como el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o el radical hidroxilo ($\cdot OH$). El incremento del estrés oxidativo puede ser debido a un aumento en la producción de ERO, a una disminución en la capacidad antioxidante de las células o a ambos factores (Harman, 1994).

Los organismos aeróbicos están provistos de sistemas no enzimáticos (α -tocoferol, β -carotenos, vitamina C, glutatión, etc.) y enzimáticos (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión transferasa, etc.) destinados a prevenir la formación de radicales libres o a neutralizarlos una vez que se han producido (Yu, 1994).

Las células de organismos superiores también han desarrollado mecanismos específicos que permiten el reconocimiento y la reparación del daño en el ADN asociado al estrés oxidativo. Así, las roturas en las cadenas de ADN inducen la síntesis de un polímero de ADP-ribosa. Actualmente se conocen distintas proteínas capaces de llevar a cabo esta reacción, pero continúa siendo la PARP-1 la que tiene una actividad relativa muy superior al resto de proteínas de la familia (Virág et al, 2013). PARP-1 es una proteína nuclear que se une al ADN cuando detecta la presencia de una rotura de cadena simple y se activa para catalizar la síntesis de dicho polímero, utilizando NAD^+ como sustrato. Este polímero es transferido a distintos aceptores nucleares implicados en la arquitectura de la cromatina (histonas H1, H2B, etc.) o en el metabolismo del ADN (topoisomerasas I y II) y a la propia PARP-1 que resulta inactivada (Oliver et al, 1999).

Los ratones deficientes en PARP-1 han resultado ser una herramienta fundamental para el estudio de patologías tan diversas como la isquemia cerebral (Lu et al., 2014), la diabetes tipo I (Burkart et al., 1999, García-Soriano et al., 2001; Pieper et al., 1999) o la artritis reumatoide (Szabó et al., 1998; Mabley et al., 2001). Uno de los aspectos más destacados de estos estudios es que la inactivación de PARP-1 aminora los efectos nocivos de la disminución de oxígeno (Thiemermann et al; 1997; Meli et al., 2003; Martínez Romero et al, 2009 y 2012), aunque los mecanismos moleculares concretos que subyacen a este hecho no se conocen en profundidad.

El sistema nervioso central (SNC), dadas sus características, es particularmente vulnerable al daño oxidativo como el generado tras una situación de isquemia o hipoxia. Entre estas características podemos citar sus elevados requerimientos energéticos, alto consumo de O_2 , alto contenido en hierro y ascorbato, niveles relativamente altos de ácidos grasos poliinsaturados, baja presencia de antioxidantes naturales y menor



UNIVERSIDAD DE JAÉN

actividad de las enzimas antioxidantes (Barhke y Shukitt-Hale, 1993; Floyd y Hensley, 2002).

6. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Resultados previos indican que la proteína PARP-1 se asocia a una mayor producción post-hipóxica de ERO. Con el fin de establecer si este efecto es debido a un aumento en la actividad enzimática antioxidante se propone evaluar, en el cerebelo de ratones salvajes y ratones *parp-1* knock-out, la acción que PARP-1 ejerce sobre:

- La actividad de las enzimas: SOD, GST, GSP, GSR y CAT.

7. BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES A REALIZAR

- **Recopilación y revisión de bibliografía**

- **Trabajo experimental**

El estudio se llevará a cabo en cerebelos de ratones C57/BL6 salvajes y *parp-1* knock-out sometidos a hipoxia hipobárica (48mmHg) durante 4 horas y posterior reoxigenación. Como controles se emplearán cerebelos de ratones que, aunque no fueron sometidos a hipoxia, se introdujeron en la cámara hipobárica durante un periodo de tiempo equivalente. Estas muestras se encuentran ya almacenadas a -80°C. En dichas muestras se evaluará:

- La actividad de las principales enzimas antioxidantes mediante los siguientes métodos espectrofotométricos:

- SOD: Crapo et al., 1978; Flohé y Ötting, 1984.
- CAT: Beers y Sizer, 1952.
- GSP: Flohé y Günzler, 1984.
- GST: Habig, et al., 1974.
- GRasa: Calberg y Mannervick, 1985.

- **Análisis de resultados**

- **Elaboración de una memoria escrita, estructurada de forma adecuada**

- **Preparación de la exposición y defensa de la memoria**

8. DOCUMENTACIÓN/BIBLIOGRAFÍA

Barhke M.S., Shukiff-Hale B. Effects of altitude on mood, behaviour and cognitive functioning. A review. *Sports Med.* (1993); 16: 97-125.

Burkart V., Wang Z.Q., Radons J., Heller B., Herceg Z., Stingl L., Wagner E.F., Kolb H. Mice lacking the poly(ADP-ribose) polymerase gene are resistant to pancreatic beta-cell destruction and diabetes development induced by streptozocin. *Nat. Med.* (1999); 5(3): 314-9.

Floyd R.A., Hensley K. Oxidative stress in brain aging. Implications for therapeutics of neurodegenerative diseases. *Neurobiol. Aging.* (2002); 23: 795-807.

García Soriano F., Virág L., Jagtap P., Szabó E., Mabley J.G., Liaudet L., Marton A., Hoyt D.G., Murthy K.G., Salzman A.L., Southan G.J., Szabó C. Diabetic endothelial dysfunction: the role



UNIVERSIDAD DE JAÉN

- of poly(ADP-ribose) polymerase activation. *Nat. Med.* 2001; 7(1): 108-13.
- Harman D. Free-radical theory of aging. Increasing the functional life span. *Ann. NY Acad. Sci.* (1994); 717: 1-15.
- Lu P, Kamboj A, Gibson SB, Anderson CM. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 causes mitochondrial damage and neuron death mediated by Bnip3. *J Neurosci* (2014); 34(48): 15975-87.
- Mabley J.G., Jagtap P., Perretti M., Getting S.J., Salzman A.L., Virag L., Szabo E., Soriano F.G., Liaudet L., Abdelkarim G.E., Hasko G., Marton A., Southan G.J. Szabo C. Anti-inflammatory effects of a novel, potent inhibitor of poly (ADP-ribose)polymerase. *Inflamm. Res.* (2001); 50: 561-569.
- Martínez-Romero R., Cañuelo A., Martínez-Lara E, Oliver F.J, Cárdenas S., Siles E. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 modulation of in vivo response of brain hypoxia-inducible factor-1 to hypoxia/reoxygenation is mediated by nitric oxide and factor inhibiting HIF. *J. Neurochem.* (2009); 111: 150-159.
- Martínez-Romero R, Cañuelo A, Siles E, Oliver FJ, Martínez-Lara E. Nitric oxide modulates hypoxia-inducible factor-1 and poly(ADP-ribose) polymerase-1 cross talk in response to hypobaric hypoxia. *J Appl Physiol* (2012); 112(5):816-23.
- Meli E, Pangallo M, Baronti R, Chiarugi A, Cozzi A, Pellegrini-Giampietro DE, Moroni F. Poly(ADP-ribose) polymerase as a key player in excitotoxicity and post-ischemic brain damage. *Toxicol Lett.* (2003); 139(2-3): 153-62.
- Oliver F.J., Ménissier de Murcia J., Nacci C., Decker P., Andriantsitohaina R., Muller S., de la Rubia G., Stoclet J.C., de Muria G. Resistance to endotoxic shock as a consequence of defective NF-kappa B activation in poly (ADP-ribose) polymerase-1 deficient mice. *EMBO J.* (1999); 18: 4446-54.
- Pieper A.A., Verma A., Zhang J., Snyder S.H. Poly (ADP-ribose)polymerase, nitric oxide and cell death. *Trends Pharmacol. Sci.* (1999); 20: 171-181.
- Szabó C., Virag L., Cuzzocrea S., Scott G.S., Hake P. and O'Connor M.P. Protection against peroxynitrite-induced fibroblast injury and arthritis development by inhibition of poly(ADP-ribose) synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (1998); 95: 3867–3872.
- Thiemermann C., Bowes J., Myint F.P., Vane J.R., Inhibition of the activity of poly(ADP ribose) synthetase reduces ischemia-reperfusion injury in the heart and skeletal muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (1997); 94: 679–683.
- Virág L, Robaszkievicz A, Rodriguez-Vargas JM, Oliver FJ. Poly(ADP-ribose) signaling in cell death. *Mol Aspects Med* (2013); 34(6): 1153-67.
- Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev.* (1994); 74: 139-160.

9. CRONOGRAMA PROVISIONAL

Semana	A-5 Trabajo Fin de Grado	Trabajo autónomo	Observaciones
Nº 1 25 enero- 29 enero	0.5	5	Introducción al manejo y uso de bases de datos bibliográficas. Introducción teórica al contenido del trabajo. Búsqueda bibliográfica autónoma.
Nº 2 1 - 5 feb		20	Búsqueda bibliográfica autónoma y lectura de la bibliografía seleccionada.
Nº 3 8 - 12 feb	0.5	20	Trabajo experimental en el laboratorio
Nº 4 15 feb - 19 feb	0.5	20	Trabajo experimental en el laboratorio
Nº 5 22 feb - 26 feb	0.5	20	Trabajo experimental en el laboratorio.



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Nº 6 29 feb - 4 mar		20	Trabajo experimental en el laboratorio.
Nº 7 7 - 11 mar	0.5	20	Trabajo experimental en el laboratorio
Nº 8 14 - 18 mar		20	Trabajo experimental en el laboratorio
Nº 9 28 mar - 1 abr	0.5	20	Trabajo experimental en el laboratorio
Nº 10 4 - 8 abr		20	Trabajo experimental en el laboratorio
Nº 11 11 - 15 abr 5	0.5	20	Revisión y discusión de resultados
Nº 12 18 abr - 22 abr	0.5	25	Redacción de la memoria.
Nº 13 25 abr – 29 abr		25	Redacción de la memoria
Nº 14 2 - 6 may	0.5	25	Redacción de la memoria
Nº 15 9-13 may	0.5	15	Preparación de la defensa de la memoria
Total	5.0	295.0	

10. IMPLICACIONES ÉTICAS

El TFG requiere autorización de la Comisión de Ética: Sí No

(Este trabajo se va a llevar a cabo en muestras de animales ya almacenadas que se obtuvieron con el preceptivo informe positivo de la comisión de ética)

En caso afirmativo, es preceptivo adjuntar la autorización del Comité de Bioética de la Universidad de Jaén o, en su defecto, la solicitud realizada a dicha Comisión.

Nota informativa: Para completar este Anexo II se recomienda consultar la guía docente de la asignatura del Trabajo Fin de Grado que está disponible en el siguiente enlace:

https://uvirtual.ujaen.es/srv/es/informacionacademica/catalogoguiasdocentes/p/2014-15/2/102A/10216001/es/2014-15-10216001_es.html

Más información:

<http://www10.ujaen.es/conocenos/centros/facexp/trabajofingrado>