

Anexo II TITULACIÓN: Grado en Biología MEMORIA INICIAL DEL TRABAJO FIN DE GRADO CENTRO: Facultad de Ciencias Experimentales			 UNIVERSIDAD DE JAÉN <i>Facultad de Ciencias Experimentales</i>
Título del Trabajo Fin de Grado: ESTUDIO COMPARADO DEL ESTRÉS NITROSATIVO EN CEREBELO VERSUS TRONCO ENCEFÁLICO TRAS ISQUEMIA GLOBAL POR PARADA CARDIACA			
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)			
María Ángeles Peinado Herreros, Raquel Hernández Cobo			
3. VARIANTE Y TIPO DE TRABAJO FIN DE GRADO (Artículo 8 del Reglamento de los Trabajos Fin de Grado)			
Específico, Experimental			
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: CE4. Realizar diagnósticos biológicos CE5. Identificar y analizar el material biológico y sus anomalías <i>* Estas son las competencias mínimas. Añadir las competencias necesarias para cada Trabajo Fin de Grado propuesto</i>			



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Resultados de aprendizaje	
Resultado 216001A	Capacidad de integrar creativamente sus conocimientos para resolver un problema biológico real.
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

De entre las complejas reacciones metabólicas que ocurren en los procesos de hipoxia isquémica responsables de desencadenar daño celular, muchas de ellas están relacionadas con la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y de nitrógeno (ERN) (Nassar et al., 2011). En ambos casos, se trata de una miríada de moléculas y radicales libres que se caracterizan por desempeñar funciones duales en la célula, ya que por un lado, pueden actuar como moléculas de señalización que ejercen un papel fisiológico, pero por otro, pueden producir daño celular y tisular (Peinado et al., 2000; Cañuelo et al., 2011).

El óxido nítrico (NO) es un mensajero autocrino y paracrino (Bredt y Snyder, 1994) que juega un importante papel en los mecanismos de vasodilatación entre otros (Hobbs e Ignarro, 1996). Dado que el NO tiene un electrón desapareado se comporta como un radical libre, y es esta propiedad en la que basa su actividad como molécula de señalización y como especie reactiva. El NO impacta sobre diferentes dianas moleculares a las que causa distintos cambios que desencadenan sus actividades fisiológicas o patológicas. Las más conocidas dianas del NO incluyen: oxígeno, metales de transición, proteínas con grupos hierro-sulfuro, y proteínas con grupos hemo (Peinado et al., 2003). El NO es sintetizado por tres isoformas de la NO sintasa: nNOS, eNOS e iNOS.

Los procesos inflamatorios que acompañan a la hipoxia isquémica implican la liberación de citoquinas inflamatorias, estas últimas ponen en marcha la vía de I κ B/NF- κ B y la consiguiente biosíntesis de iNOS y nNOS, que sintetizan NO en grandes cantidades y de forma no regulada, como han demostrado diferentes autores y ha expuesto nuestro grupo entre otros, en algunas revisiones sobre el tema (Rodrigo et al., 2001; Martínez-Romero et al., 2012; Pannu y Singh, 2006; Blanco et al., 2007). El NO producido puede también reaccionar con el anión superóxido para formar el potente oxidante peroxinitrito (ONOO-) (Koppenol et al., 1992; Pryor y Squadrito, 1995). El ONOO- es muy soluble en lípidos y tiene un amplio abanico de moléculas diana, causando la oxidación de grupos -SH, peroxidación lipídica, roturas en el ADN y ARN, etc. (Beckman y Ames 1997; Lipton, 1999). Además, el peroxinitrito estimula la vía intrínseca de la apoptosis. (Cassina et al., 2000).

Otra de las vías de actuación del NO es más directa y depende de la S-nitrosilación de proteínas implicadas en determinadas vías de señalización. En este caso el NO reacciona con los grupos tioles de las proteínas, alterando las actividades dependientes de las mismas (Peinado et al., 2003). Mediante la vía de la S-nitrosilación, el NO también puede modular su propia producción, al influir sobre la activación de las propias NOS-calcio dependientes. En este último caso, el mecanismo se suscita por su unión directa al receptor NMDA que regula la entrada de calcio a la célula y por tanto la función de las

dos NOS constitutivas. Más aún, a través de esta vía, el NO también puede interferir en los mecanismos de excitotoxicidad por glutamato, una de las secuelas neurotóxicas más importante de la hipoxia isquémica cerebral y de otras neuropatologías (Rodrigo et al., 2001; Moro et al., 2004).

6. HIPÓTESIS DE TRABAJO

No todas las zonas del cerebro se afectan por igual tras un proceso de isquemia cerebral; de hecho, existen una vulnerabilidad selectiva natural ante esta patología, que implica un muy diferente daño, si se comparan diferentes zonas cerebrales. Se sabe que el estrés nitrosativo que acontece tras un proceso de hipoxia isquémica se encuentran entre las principales causas del daño y muerte neuronal. También se conocen diferentes factores, que contribuyen a incrementar o disminuir los niveles de especies reactivas de nitrógeno (ERN) que se producen tras la isquemia y que provocan daños nitrosativos a las proteínas. Es predecible que estos cambios proteicos también estén en la base de la diferente susceptibilidad zonal y natural del cerebro ante la isquemia, y seguramente mostrarán correlación con los ERN producidos. Por consiguiente, en el presente trabajo proponemos determinar el daño nitrosativo que sufren regiones con diferentes susceptibilidad ante la isquemia como son el cerebelo y tronco cerebral.

7. BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES A REALIZAR

Se pretende llevar a cabo un estudio comparado del daño isquémico tisular y del estrés nitrosativo en el cerebelo y tronco cerebral de ratas wistar sometidas a isquemia global por parada cardíaca.

Para ello se realizarán las siguientes técnicas:

1. Valoración de la actividad de la óxido nítrico sintasa mediante la técnica histoquímica NADPH-D.
2. Determinación del nivel de estrés nitrosativo del tejido mediante detección de proteínas nitradas (n-Tyr) por western blot e inmunocitoquímica.
3. Estudio de los niveles de NO por quimioluminiscencia.

8. DOCUMENTACIÓN/BIBLIOGRAFÍA

- Nassar NN, Abdelsalam RM, Abdel-Rahman AA, Abdallah DM. Neurochem Res. 2012 Mar;37(3):614-21. doi: 10.1007/s11064-011-0651-7. Epub 2011 Nov 24.
- Peinado MA, del Moral ML, Esteban FJ, Martínez-Lara E, Siles E, Jiménez A, Hernández-Cobo R, Blanco S, Rodrigo J, Pedrosa JA. Rev Neurol. 2000 Dec 1-15;31(11):1054-65. Review. Spanish.
- Cañuelo A, Martínez-Romero R, Martínez-Lara E, Sánchez-Alcázar JA, Siles E. Mol Cell Biochem. 2012 Apr;363(1-2):101-8. doi: 10.1007/s11010-011-1162-1. Epub 2011 Dec 7
- Bredt DS, Snyder SH. Annu Rev Biochem. 1994;63:175-95. Review.
- Hobbs AJ, Ignarro LJ. Methods Enzymol. 1996;269:134-48. Review.
- Peinado MA, del Moral ML, Martínez-Lara E, Siles E, Hernandez R. Recent Res Dev Biochem. 2003;(4):181-192
- Rodrigo J, Alonso D, Fernández AP, Serrano J, Richart A, López JC, Santacana M, Martínez-Murillo R, Bentura ML, Ghiglion M, Uttenthal LO. Brain Res. 2001 Aug 3;909(1-2):20-45.
- Martínez-Romero R, Cañuelo A, Martínez-Lara E, Hernández R, Del Moral ML, Pedrosa JA, Peinado MA, Siles E. Exp Gerontol. 2006 Jan;41(1):25-31. Epub 2005 Nov 2



UNIVERSIDAD DE JAÉN

- Pannu R, Singh I. Neurochem Int. 2006 Jul;49(2):170-82. Epub 2006 Jun 12. Review.
- Blanco S, Castro L, Hernández R, Del Moral ML, Pedrosa JA, Martínez-Lara E, Siles E, Peinado MA. Brain Res. 2007 Jul 9;1157:66-73. Epub 2007 Feb 17.
- Koppenol WH, Moreno JJ, Pryor WA, Ischiropoulos H, Beckman JS. Chem Res Toxicol. 1992 Nov-Dec;5(6):834-42.
- Pryor WA, Squadrito GL. Am J Physiol. 1995 May;268(5 Pt 1):L699-722. Review.
- Beckman KB, Ames BN. J Biol Chem. 1997 Aug 8;272(32):19633-6.
- Lipton P. Physiol Rev. 1999 Oct;79(4):1431-568.
- Moro MA, Cárdenas A, Hurtado O, Leza JC, Lizasoain I. Cell Calcium. 2004 Sep-Oct;36(3-4):265-75
- Cassina AM, Hodara R, Souza JM, Thomson L, Castro L, Ischiropoulos H, Freeman BA, Radi R. J Biol Chem. 2000 Jul 14;275(28):21409-15.

9. CRONOGRAMA PROVISIONAL

Dado el número de créditos de la asignatura, el trabajo se desarrollará, dependiendo de la disponibilidad horaria del alumno. Cada semana, se dedicará una hora de formación al alumno por parte del profesor en lo que respecta a los protocolos a seguir en la misma.

10. IMPLICACIONES ÉTICAS

El TFG requiere autorización de la Comisión de Ética: **SI**

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>