ISBN 970-27-1045-6

ANALISIS DE LA EXPRESION DE GENES INVOLUCRADOS EN LA VIA DE SEÑALIZACIÓN MAPK EN UN MODELO DE EXITOTOXICIDAD INDUCIDA POR GMS EN RATAS NEONATALES

Aguilar-García Irene*, Castañeda-Arellano Rolando*, Navarro-Meza Mónica* Grimaldo-Quezada Lizbeth*, Saucedo-Arellano Lidia*, Feria-Velasco Alfredo*, Rivera-Cervantes Martha* mrivera@cucba.udg.mx

*Lab de Neurobiología Celular, Depto. de Biol. Cel y Mol., Cucba, UDG

El glutamato (Glu) es el principal neurotransmisor que interviene en la respuesta posináptica excitatoria, participa durante el desarrollo embrionario regulando procesos como la sinaptogénesis, el crecimiento y la proliferación neuronal, y en el estado adulto participa en procesos de plasticidad sináptica, como la potenciación postetánica a largo plazo, sustrato del aprendizaje y la memoria. El efecto excitador del Glu depende de su interacción con dos tipos de receptores(R-Glu), ionotrópicos y metabotrópicos.

La sobreactivación de R-Glu en el SNC, produce muerte neuronal a través del proceso conocido como *excitotoxicidad*, el cual se considera un evento celular patológico que se caracteriza por la acumulación de Ca^{++} intracelular. El daño celular por excitotoxicidad es un proceso de muerte, que puede ser necrótica o apoptótica. La muerte neuronal por apoptosis involucra la activación de cascadas de señalización intracelular que modulan la trascripción génica; una de estas vías de señalización intracelular que se asocia al daño neuronal por apoptosis a través de la excitotoxicidad, es la activación de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK).

La excitoxicidad inducida por Glu es un evento común que se asocia con diferentes estados patológicos del SNC, entre los que se incluyen: la epilepsia, la hipoxia/isquemia cerebral, el trauma encefálico y padecimientos crónico neurodegenerativos como: la enfermedad de Hungtington, la de Alzheimer y la de Parkinson, etc.

Varios estudios realizados en modelos de exitotoxicidad *in vivo* como in *vitro* han demostrado la activación de las MAPK (ERK, JNK y p38) y algunos de sus sustratos (c-JUN, ATF1, ATF2) (Kawasaki y col., 1997). Por otro lado, en modelos de isquemia global transitoria se ha demostrado tanto la activación de la vía JNK/SAPK como de la vía p38/SAPK y la consecuente producción de *c-Jun*, en la región CA1 del hipocampo (Toshiyuki y col. 2000); y que además la inhibición de la vía p38/SAPK, protege a las neuronas piramidales del hipocampo y corteza cerebral de la muerte celular por apoptosis (Sugino y col., 2000; Rivera-Cervantes y col., 2004).

Además se ha asociado de manera directa un incremento en la muerte neuronal con la activación de la vía P38, a través del estudio por western blot de la presencia del sustrato de esta vía de señalización (ATF-2) en un modelo de excitotoxicidad *in vivo* (Rivera-Cervantes y cols., 2004). Por otra parte se ha evaluado mediante estudios de PCR el cambio en la composición de los R-Glu, inducido por la neurotoxicidad asociada al GMS, en corteza e hipocampo (Rivera-Cervantes y cols. 2004). Recientemente se mostró la expresión de varios genes durante la fase

aguda de exitotoxicidad inducida por ácido domóico en el cerebro de ratones adultos, entre estos genes se encuentran algunos involucrados en la vía de señalización MAPK como son JUN, MAPK3K6, CLK entre otros (Ryan H. y cols., 1997).

Objetivo

Analizar la participación de las Proteínas Cinasas Activadas por Mitógenos y factores de transcripción asociados a la muerte neuronal después del tratamiento neonatal con GMS

Metodología

Para este trabajo se utilizaran tres grupos de ratas neonatales. Un grupo experimental será tratado con GMS (4mg/g peso corporal-p.c.), un grupo control tratado con una solución equimolar de NaCl, a la concentración de sodio en el GMS que es de 1.39mg/g p.c. los días 1, 3, 5 y 7, y un grupo intacto. Posteriormente se extraerán los hipocampos los días 5, 6, 7 y 8 de los cuales se obtendrán el RNA total, para el estudio de micro-arreglos seccionando un grupo de genes involucrados en vía de señalización MAPK y otro chip con genes relacionados con muerte celular apoptótica.

Validando la expresión génica a través de la técnica de RT-PCR y evaluando la presencia de la proteína por medio de la técnica de western blot, esta validación se hará para los genes que muestren mayores modificaciones en su nivel de expresión bajo el esquema de excitotoxicidad evaluado en el estudio.

Los resultados de este trabajo pretenden ampliar los conocimientos a cerca de la participación de MAPK en el proceso de exitotoxicidad y proponer una probable vía de señalización involucrada en la neurototoxicidad ocasionada por Glu.

Referencias

Kawasaki H., Morooka T., Shimohama S., Kimura J., Hirano T., Gotoh Y., Nishida E. 1997. Activation and involvement of p38 mitogen-activated protein Kinase in glutamate-induced apoptosis in rat cerebellar granule cells. J. Biol. Chem, 272: 18518—18521.

Sugino T., Nosaki N., Takagi Y., Hattori I., Hashimoto N., Moriguchi T., Nishida E. 2000. Activation of mitogen-activated pretein kinases alter transient forebrain Isquemia in Gerbil Hippocampus. J. Neurosci. 20 (12): 4506-4514.

Rivera-Cervantes MC., Segura-Torres J., Feria-Velasco A., Armendáriz-Borunda J., Beas Zarate C. 2004. NMDA and AMPA- receptor expresion and cortical neuronal death are associated with p38 in glutamate-induced excitotoxicity *in vivo*. J. Neurosci. Res. 76, 678—687.

Ryan J. C., Morey J.S., Ramsdell ., Van Dolah F.M. Acute phase gene expresión in mice exposed to the marine neurotoxin domoic acid. Neuroscie. 136:1121—1132.

Este trabajo fue financiado parcialmente por: CONACyT No. U48002-M al UDG-CA-414