

FIJACION DE H<sup>3</sup>-GABA POR EL CEREBELO DE RATAS  
INFECTADAS CON EL VIRUS DE LA ENCEFALITIS  
EQUINA VENEZOLANA

**Carmen Marleny Moreno\***, **Ernesto Bonilla\*\***  
**Hugo Hernández\*\* y Mario Salazar\***

\* INBIOMED-FUNDACITE. Apartado Postal 376, Maracaibo 4001-A, Venezuela.  
\*\* Instituto de Investigaciones Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia.  
Apartado 1151. Maracaibo, Venezuela.

**RESUMEN**

**La infección por el virus de la Encefalitis Equina Venezolana produjo un aumento significativo en el número de sitios de fijación del H<sup>3</sup>-GABA en el cerebelo. La infección también causó una disminución en la afinidad de estos receptores por GABA.**

**INTRODUCCION**

En nuestro laboratorio hemos demostrado que las neuronas GABAérgicas (2), dopaminérgicas (6) y colinérgicas (3) son afectadas por la infección producida por el virus de la Encefalitis Equina Venezolana (EEV).

GABA es considerado como el principal neurotransmisor inhibitor del sistema nervioso. La fijación de este neurotransmisor a su receptor, localizado en la membrana postsináptica, controla la actividad de un canal de membrana específico para los iones de cloro. La apertura de ese canal conduce a la inhibición de la excitabilidad eléctrica de la neurona postsináptica (8). La infección producida por el virus de la EEV afecta varios pará-

metros de la neurotransmisión GABAérgica. De hecho, se ha reportado un descenso significativo en la concentración de GABA de los hemisferios cerebrales y en la actividad de la Descarboxilasa Glutámica en los hemisferios cerebrales, neocortical y corteza frontal de los animales infectados.

En este reporte presentamos los resultados obtenidos en nuestro laboratorio en relación con los efectos de la infección por el virus de la EEV sobre la fijación de  $H^3$ -GABA en membranas preparadas de cerebelos de ratas.

## MATERIAL Y METODOS

Ratas machos Sprague-Dawley, de 250-300 gr de peso se inocularon por vía intraperitoneal con 0,3 ml de una suspensión que contenía 1000 DL<sub>50</sub> de la cepa Guajira del virus de la EEV, en una solución salina tampón de albúmina bovina boratada al 0,4% (BABS), pH 7,4. A los animales controles se les administró un volumen equivalente de BABS. Cuando presentaron signos evidentes de encefalitis, los animales infectados se sacrificaron por decapitación, y los cerebelos se extrajeron a 4°C y se almacenaron congelados a -80°C hasta su análisis.

La fijación de  $H^3$ -GABA a la membrana sináptica se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Beaumont et al (1). Este método produce unas preparaciones enriquecidas en densidades postsinápticas que parecen contener solamente los sitios de fijación de alta afinidad (7). Se utilizaron las siguientes concentraciones de  $H^3$ -GABA 1, 2, 5, 7.5, 9, 10, 12, 20, 25 nM (actividad específica 40 Ci/mmol) (4). La fijación específica se definió como aquella que es desplazable por 1 mM de GABA no radioactiva. Las proteínas se determinaron de acuerdo a la técnica de Lowry modificada por Hartree (5). Para el análisis estadístico se calculó la t de Student.

## RESULTADOS

Como se muestra en la Tabla I el análisis de los gráficos de Scatchard obtenidos en los cerebelos de ambos grupos de ratas reveló que el número de sitios receptores (B max) y la constante de disociación (Kd) encontrados en las ratas infectadas con el virus de la EEV fueron significativamente mayores que en los controles.

## DISCUSION

El aumento observado en la fijación de los receptores GABAérgicos es consistente con la acción presináptica del virus de la EEV. Parece ser

## TABLA I

### PARAMETROS DE FIJACION DE H<sup>3</sup>-GABA EN EL CEREBELO DE RATAS INFECTADAS CON EL VIRUS DE LA EEV

Grupos	N	Kd (nM)	Bmax (fmol/mg proteína)
Control	8	18,1 ± 7,1*	357,4 ± 79,6
Ratas infectadas EEV	8	27,0 ± 3,7	478,0 ± 105,4
p		< 0,01	< 0,02

\* Valor expresado como media ± D.S.

debido a una respuesta compensadora del descenso en la concentración de GABA y de la actividad de la Descarboxilasa Glutámica que hemos ya reportado en otras regiones cerebrales. La reducción en la liberación del neurotransmisor ocasionaría una supersensibilidad postsináptica que se expresaría en un incremento de la fijación del GABA al receptor.

No podemos descartar la posibilidad de que la infección viral pudiera haber removido un inhibidor previamente fijado a los receptores GABA-érgicos. Entre estos inhibidores endógenos se incluirían concentraciones de la misma GABA que no fué completamente removida durante el proceso de lavado. Otras sustancias inhibitoras también se han descrito y entre ellas se incluyen a los fosfolípidos y las proteínas (8). Además, los receptores GABA-érgicos estarían mas concentrados en el cerebelo de las ratas infectadas, debido a la pérdida de otros elementos neuronales que carecen de sitios de fijación de GABA.

Por otro lado, el descenso en la afinidad por el ligando, observado en el cerebelo de ratas infectadas por el virus de la EEV, pudiera ser debido a la producción de cambios conformacionales de los receptores GABA-érgicos. Por supuesto, nuestros resultados no prueban que los sitios de fijación corresponden a receptores relevantes desde el punto de vista fisiológico.

#### Agradecimientos

Este trabajo fué financiado parcialmente por el CONDES-LUZ y FUNDACION-TE-ZULIA.

#### ABSTRACT

(<sup>3</sup>H)-GABA binding by the cerebellum of rats infected with the Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus. *Moreno, C.M. (INBIOMED-FUN-*

*DACITE. Apartado Postal 376. Maracaibo 4001-A. Venezuela). Bonilla E., Hernández H., Salazar M. Invest Clín 25(4): 199-202, 1984.* – The infection by Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus produced a significant increase in the number of (<sup>3</sup>H)-GABA binding sites in the cerebellum. A decrease in the affinity of these receptors for GABA was also caused by the infection.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1– BEAUMONT K., CHILTON W.S., YAMAMURA H.I., ENNA S.J.: Muscimol binding in rat brain associated with synaptic GABA receptors. *Brain Res* 148: 153-162, 1978.
  - 2– BONILLA E., RYDER E., RYDER S.: GABA metabolism in Venezuelan equine encephalomyelitis virus infection. *Neurochem Res* 5: 209-215, 1980.
  - 3– BONILLA E., HERNANDEZ H., SALAZAR M., RANGEL P.: Effect of Venezuelan equine encephalomyelitis virus infection on brain choline acetyltransferase and acetylcholinesterase activities. *Brain Res* 253: 330-333, 1982.
  - 4– ENNA S.J., SNYDER S.H.: Properties of gamma-aminobutyric acid receptors binding in rat brain synaptic membrane fractions. *Brain Res* 100: 81-97, 1975.
  - 5– HARTREE E.F.: Determination of protein: A modification of the Lowry method that gives a linear photometric. *Anal Biochem* 48: 422-427, 1972.
  - 6– LEVINE S., BONILLA E., RYDER S., SALAZAR M., RANGEL P.: Tyrosine hydroxylase activity in Venezuelan equine encephalomyelitis virus infection. *Neurochem Res* 6: 691-697, 1981.
  - 7– MATUS A., PEHLING G., WILKINSON D.:  $\gamma$ -Aminobutyric acid receptors in brain post-synaptic densities. *N Neurobiol* 12: 67-74, 1981.
  - 8– OLSEN R.W.: In: *Psychopharmacology and Biochemistry of Neurotransmitter Receptors*. p. 537. H.I. Yamamura, R.W. Olsen E. Usdin, eds. Elsevier North Holland Inc., Amsterdam, 1980.
-