

LOCALIZACION DE LAS ECTO-ENZIMAS QUE REGULAN LA SEÑALIZACION MEDIADA POR ATP EXTRACELULAR EN LAS CAPAS Y CELULAS RETINIANAS.

Jimena Ricatti ; Lionel Alfie; Pablo Schwarzbaum; Paula Faillace.

Cita:

Jimena Ricatti ; Lionel Alfie; Pablo Schwarzbaum; Paula Faillace (Noviembre, 2007). *LOCALIZACION DE LAS ECTO-ENZIMAS QUE REGULAN LA SEÑALIZACION MEDIADA POR ATP EXTRACELULAR EN LAS CAPAS Y CELULAS RETINIANAS. XXII Reunión anual de la Sociedad Argentina de Neurociencias, Los Cocos, Pcia de Córdoba.*

Dirección estable: <https://www.aacademica.org/lionel.david.alfie/26>

ARK: <https://n2t.net/ark:/13683/pux8/Mss>



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons.
Para ver una copia de esta licencia, visite
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>.

Acta Académica es un proyecto académico sin fines de lucro enmarcado en la iniciativa de acceso abierto. Acta Académica fue creado para facilitar a investigadores de todo el mundo el compartir su producción académica. Para crear un perfil gratuitamente o acceder a otros trabajos visite: <https://www.aacademica.org>.

LOCALIZACION DE LAS ECTO-ENZIMAS QUE REGULAN LA SEÑALIZACION MEDIADA POR ATP EXTRACELULAR EN LAS CAPAS Y CELULAS RETINIANAS

Jimena Ricatti¹; Lionel Alfie¹; Pablo Schwarzbaum²; Paula Faillace^{1,2}

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UBA.

²IQUIFIB-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

INTRODUCCION

Los nucleótidos, incluyendo ATP, además de su conocido papel intracelular, son señales extracelulares claves que regulan la comunicación entre glia y neuronas tanto en cerebro como en retina. Estos nucleótidos son hidrolizados por ectonucleotidasas, enzimas de membrana plasmática con actividad catalítica extracelular. Su rol es regular la disponibilidad de nucleótidos/nucleósidos extracelulares en sus sitios receptores específicos (purinérgicos). Las ectonucleósido-trifosfato-difosfohidrolasas (ENTPDasas) poseen particular relevancia en modular la señalización intercelular mediada por nucleótidos.

OBJETIVOS

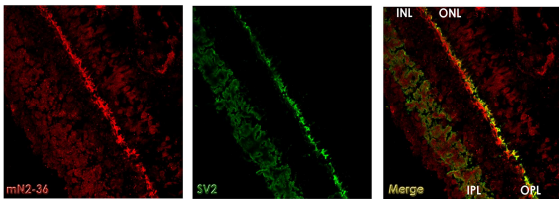
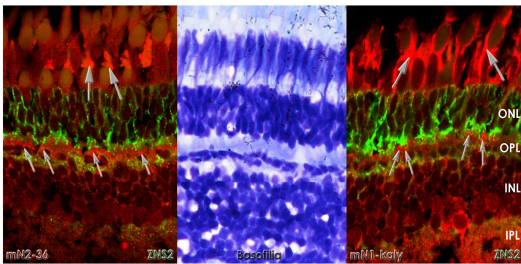
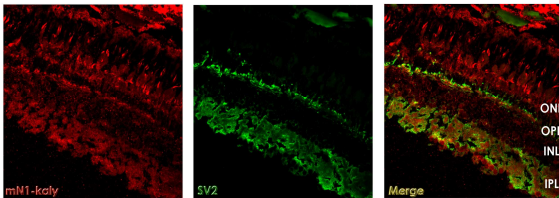
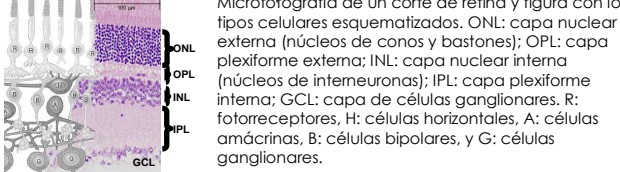
Caracterizar en la retina de ratón y pez cebra, la localización de ENTPDasas 1 y 2 en las distintas capas y tipos celulares.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

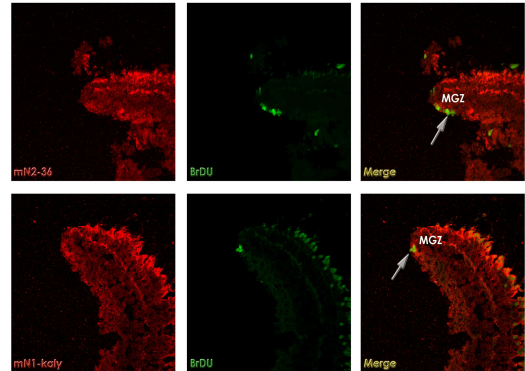
INMUNOHISTOQUÍMICA: Los animales fueron anestesiados, se enuclearon ambos ojos, se fijaron con paraformaldehído y se incluyeron en OCT. Por medio de un criostato se realizaron secciones de 10 µm. Se incubaron con anticuerpos primarios **mN1-kaly** (contra la ENTPDasa subtipo 1) o **mN2-36** (contra ENTPDasa subtipo 2) y/o contra marcadores de células retinianas. Se utilizaron anticuerpos secundarios conjugados con los fluoróforos Alexa 488 y 546. Las células mitóticamente activas en un intervalo de 48 h se detectaron incubando los peces en una solución con Bromodeoxiuridina (**BrDU**) y posterior inmunohistoquímica.

MICROSCOPIA Y ANALISIS DE IMAGENES: de las retinas marcadas con los distintos fluoróforos se obtuvieron imágenes con un microscopio confocal Carl Zeiss modelo LSM5 Pascal, utilizando un objetivo

RESULTADOS El análisis se realizó con el software Image Browser (Zeiss LSM Data Server) y Adobe Photoshop CS2.

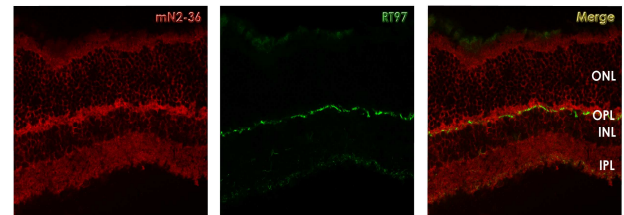
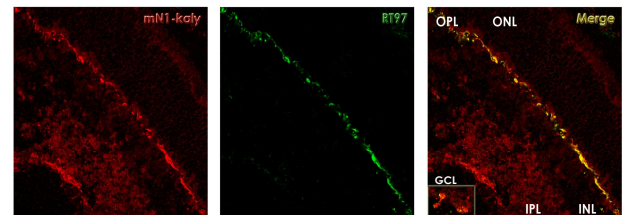
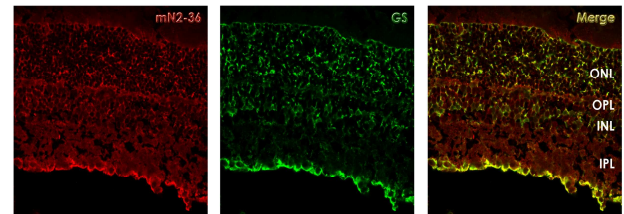
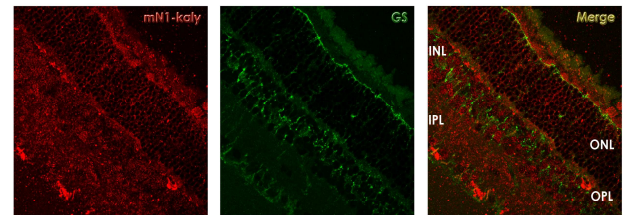


ARRIBA: en la retina de pez cebra, se observa que **mN1-kaly** se ubica en las membranas de células horizontales, postsinápticas a los terminales de fotorreceptores (**ZNS2**), segmentos internos de fotorreceptores, así como también en vasos y axones de ganglionares. En cuanto a **mN2-36**, estaría subregionalizada en el soma de las células horizontales. Las flechas (pequeñas y grandes) indican la distribución diferencial de los dos subtipos de ENTPDasas y la Basofilia los núcleos de las células horizontales. Ambos subtipos se expresan en forma más difusa en las capas sinápticas internas. Hay colocalización parcial con el marcador de Vesículas Sinápticas (**SV2**). No hay colocalización con **ZNS2** que marca ONL y pies de conos.



ARRIBA: Borde proliferativo de la retina (**MGZ**) adulta de pez en donde se observa la marca de **mN2-36** y **mN1-kaly** alrededor de núcleos BrDU-positivos (puntas de flechas).

ABAJO: En la retina de ratón **mN1-kaly** colocaliza con el marcador de células horizontales (**RT97**), y se expresa también en vasos y axones de células ganglionares. El anticuerpo **mN2-36** colocaliza casi completamente con el marcador de células de Müller, Glutamina Sintetasa (**GS**). En ambos casos se observa marca difusa en las capas sinápticas internas. No se observa colocalización de **mN1-kaly** con **GS**, así como tampoco de **mN2-36** con **RT97**.



CONCLUSION

Las retinas de ratón y pez cebra contienen al menos dos subtipos de ENTPDasas que se expresan en distintos tipos celulares y capas retinianas. Esto tendría un correlato funcional ya que la presencia de ENTPDasa-1 promueve la terminación de la señal de ATP/ADP y la producción de adenosina, mientras que la de tipo 2 resulta en la acumulación de ADP, estimulando diferentes vías de señalización purinérgica.

AGRADECIMIENTOS: Anticuerpos mN1-Kaly y mN2-36 fueron donados por el Dr. Jean Sevigny (Université Laval, Québec, Canadá). RT-97 y SV2 fueron obtenidos del Develop. Studies Hybridoma Bank, IOWA. Estos estudios se realizaron gracias a los subsidios otorgados por el FONCYT (BID 1728-04 PICT2004), PIP CONICET y la Fundación Antorchas.