

# **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 Ricatti<sup>1</sup>; Lionel Alfie<sup>1</sup>; Pablo Schwarzbaum<sup>2</sup>; Paula Faillace<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UBA.

<sup>2</sup>IQUIFIB-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

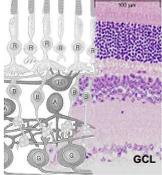
Caracterizar en la retina de ratón y pez cebra, la localización de ENTPDasas 1 y 2 en las distintas capas y tipos celulares.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

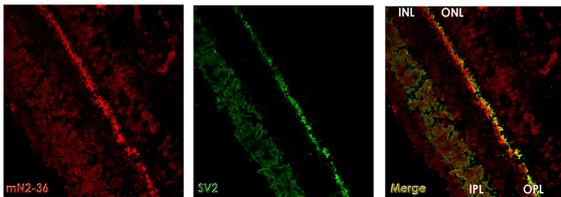
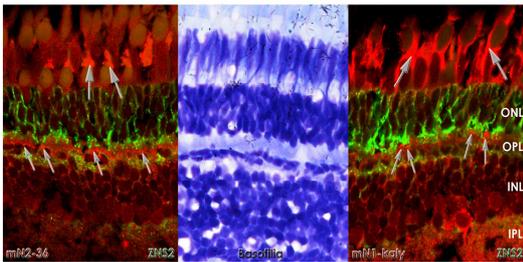
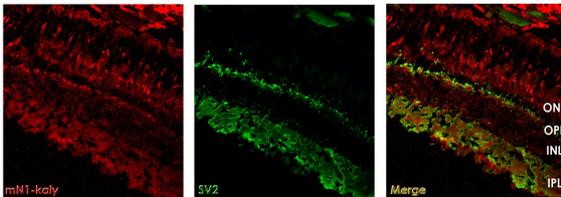
**INMUNOHISTOQUÍMICA:** Los animales fueron anestesiados, se enuclearon ambos ojos, se fijaron con paraformaldehído y se incluyeron en OCT. Por medio de un crióstato se realizaron secciones de 10 µm. Se incubaron con anticuerpos primarios **mN1-kaly** (contra la ENTPDasa subtipo 1) o **mN2-36** (contra 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

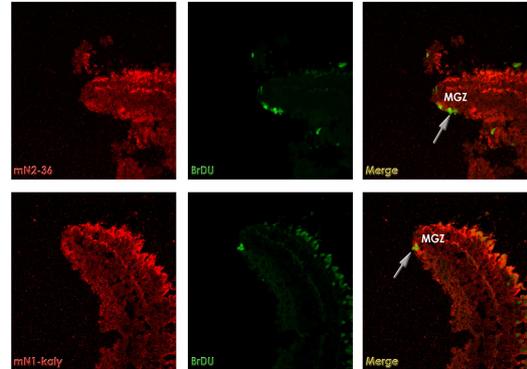
**RESULTADOS** El análisis se realizó con el software Image Browser (Zeiss LSM Data Server) y Adobe Photoshop CS2.



Micrografía de un corte de retina y figura con los tipos celulares esquematizados. ONL: capa nuclear externa (núcleos de conos y bastones); OPL: capa plexiforme externa; INL: capa nuclear interna (núcleos de interneuronas); IPL: capa plexiforme interna; GCL: capa de células ganglionares. R: fotorreceptores, H: células horizontales, A: células amácrinas, B: células bipolares, y G: células ganglionares.

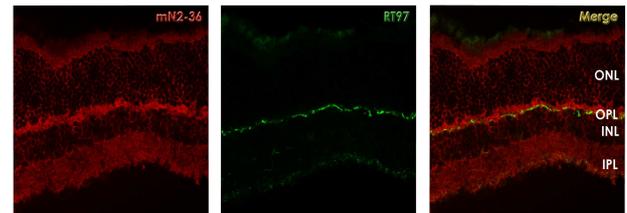
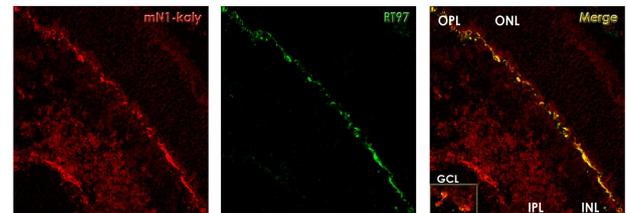
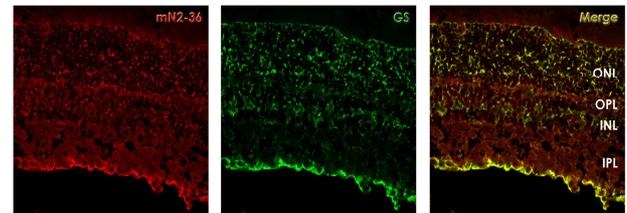
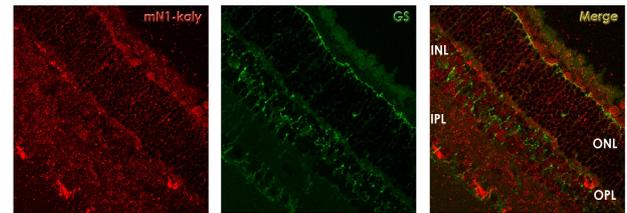


**ARRIBA:** en la retina de pez cebra, se observa que **mN1-kaly** se ubica en las membranas de células horizontales, postsinápticas a los terminales de fotorreceptores (**ZNS2**), segmentos internos de fotorreceptores, así como también en vasos y axones de ganglionares. En cuanto a **mN2-36**, estaría 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.