

α_{2A} - eta α_{2C} -adrenohartzaileen adierazpen diferentziala mintz presinaptiko eta postsinaptikoetan giza garun *postmortem*-eko kortex prefrontalean

Ane M. Gabilondo^{1,2}, Amaia M. Erdozain^{1,2}, Iria Brocos-Mosquera¹, J. Javier Meana^{1,2}, Luis F. Callado^{1,2}

¹Farmakologia Saila, Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU eta Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM)

²Biocruces Bizkaia Osasun Ikerketa Institutua.

ane.gabilondo@ehu.eus

Noradrenalinak funtsezko zeregina dauka asaldura neuropsikiatrikoetan, hala nola depresio nagusian edo eskizofrenian, eta garuneko kortex prefrontala (PFC) funtzio kognitibo eta emozioen kontrolean inplikaturik dago. PFCan noradrenalinaren α_2 adrenohartzaile inhibitzailearen (α_2 -AR) bi azpimota adierazten dira: α_{2A} eta α_{2C} , α_{2A} -AR azpimota ugariagoa delarik (~% 87). Oro har, α_2 -AR presinaptikoek neurotransmisoreen askapena inhibitzen duten bitartean, α_2 -AR postsinaptikoek neurona piramidalen aktibitatea modulatzeko dute. Hala ere, farmako selektiboaren falta dela eta, α_2 -AR azpimota bakoitzaren garrantzi fisiologiko eta/edo patologikoa oraindik ez da ondo ezagutzen.

Lan honen helburua PFCko α_{2A} -AR eta α_{2C} -AR adierazpen proteikopre- eta postsinaptikoa karakterizatzea izan da giza garun *postmortem*-ean.

Horretarako, 24 giza PFC (Brodmann 9 area) laginetako frakzionamendu azpizelularra egin da (sakarosako dentsitate-gradienteak eta Triton X-100 erabiltzeko oinarritutako metodoa erabiliz) eta α_{2A} -AR zein α_{2C} -AREN immunoerreaktibitatea neurtu da mintz presinaptiko eta dentsitate postsinaptikoko (PSD) frakzioetan Western Blot teknikaren bidez.

Lortutako emaitzen arabera, α_{2A} - eta α_{2C} -AR azpimotak oso proportzio desberdinetan adierazten dira giza garuneko PFCan: α_{2A} -AREN gehiago handia postsinaptikoa den bitartean (~%95), α_{2C} -ARak banaketa antzekoa dauka sinapsietako bi aldeetan (~%40 post- vs ~%60 pre-). Horrek esan nahi du giza PFCko α_2 -AR populazio totalaren gutxi gorabeherako banaketa hau izan litekeela: presinaptikoak (α_{2A} ~%4 eta α_{2C} ~%8) eta postsinaptikoak (α_{2A} ~%83 eta α_{2C} ~%5). Bestalde, atzerapen *postmortem*-ak (PMD:4-48h) eragin esanguratsua erakutsi du α_{2A} -AREN immunoerreaktibitatean (~% 3 galera orduko), aztertutako beste aldagaiak (adinak [30-60 urte], generoak [16 gizon, 8 emakume] eta laginen gorde-denborak [4-22 urte]) eragin esanguratsurik izan gabe. Emaitza honek laginen parekatze egokiaren garrantzia erakusten du talde desberdinak konparatu nahi direnean.

Giza garuneko PFCko α_{2A} -AR eta α_{2C} -AR adierazpen diferentzialak lagun dezake α_2 -AR agonistentzat eta antagonistentzat deskribatu diren eragin kontrajarriak ulertzen eta asaldura neuropsikiatrikoen tratamendu farmakologikorako azpimota selektiboetara zuzendutako farmakoen potentzial terapeutikoa argitzen.

Gako-hitzak: giza garuna, α_{2A} -adrenohartzaileak, α_{2C} -adrenohartzaileak, presinaptikoa, postsinaptikoa

Posterrak

Eskizofreniaren sintoma kognitiboak aztertzen: «doublehit» animalia-ereduaNatalia Cordero^a, Carolina Muguruza^{1,2}, J. Javier Meana^{1,2,3}, Jorge E. Ortega^{1,2,3}

¹ Farmakologia Saila, Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU). ² Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Espania. ³ Biocruces Osasun Ikerketa Institutua.

ncordero001@ikasle.ehu.eus

Eskizofrenia gaixotasun kroniko eta larria da. Diagnostiko goiztiarra eta %1eko prebalentzia dauka. Eskizofreniak sintoma positibo (haluzinazioak, delirioak...), negatibo (anhedonia, hizkuntza-arazoak...) eta kognitiboak (arreta jartzeko zailtasuna, oroimen-arazoak...) biltzen ditu. Gaixotasun honen etiopatogeniari buruzko ikerketen arabera, jaio aurreko gertakariak ahultasuna gauzatu dezakete, eta ondoren, pubertaroan izandako prozesu estresagarriek ahultasun hori bizitu. Horri «doublehit» fenomeno deritzogu.

Nahiz eta psikosia eskizofreniaren sintomarik ezagunena izan, sintoma kognitiboek agerpen goiztiarra dute eta gaixotasunaren eboluzioa mugatzen dute. Gainera, tratamendu antipsikotikoarekiko erresistenteak dira. Antipsikotiko tipikoek (edo lehen belaunaldikoak) eskizofreniaren sintoma positiboak tratatzen dituzte eta antipsikotiko atipikoek (edo bigarren belaunaldikoak) sintoma positibo eta negatiboak. Baina, egun, sintoma kognitiboak sendatzen dituen antipsikotikorik ez da aurkitu. Beraz, oso interesgarria izango litzateke eskizofreniaren sintoma kognitiboak aztertzea, mekanismo neurobiologikoak ulertzeko eta sendagai egokia lortu ahal izateko.

Neuropsikofarmakologia Ikerketa Taldeko kideok sintoma kognitiboekin lotuta dauden aldaketa neurobiologikoak aztertzen ditugu. Horretarako, eskizofrenikoen garun-laginak eta animalia-ereduak erabiltzen ditugu. Zehazki, gure ikerkuntzaren xedea, «doublehit» hipotesian oinarrituta dagoen animalia-eredu translazionala garatzea da. «Doublehit» animalia-eredua, sagu eme eta arretan garatzen dugu. Lehenengo eta behin, ama haurdunen aktibazio immunologikoa (hit-1) eragiten dugu, poly(I:C)-ren injekzioaren bidez. Gero, ondorengoak pubertarora heltzean, isolamendua (hit-2) gauzatzen dugu. Azkenean, 4 esperimendu talde lortzen ditugu: hit 1, hit 2, «doublehit» eta kontrolak.

Isolamendua (hit 2) amaitu eta gero, portaera-probak egiten dira. Sintoma kognitiboak neurtzeko portaera-probarik garrantzitsuenetako bat NORT (*Novel Object Recognition Test*) da. NORTaren bidez, animalia-ereduaren arreta eta lan-oroimen bisuala ikertzen dira. «Doublehit» animaliekin, gabezia kognitiboa ikusi genuen, zehazki, hit 1 taldeko sagu emeetan. Beraz, etorkizunean, gure animalia-eredua garatzen jarraitu beharko genuke, eskizofreniaren oinarri neurobiologikoak ikertzeko tresna egokia dela ematen duelako.

Gako-hitzak: eskizofrenia, sintoma kognitiboak, animalia-eredua, aktibazio immunologikoa, isolamendua, sexu-desberdintasunak

Ingurune aberastuak nerabezaroko gehiegizko alkohol-kontsumoak sortutako kalteak berreskuratzen ditu C57BL/6 sagu helduetan

^{1,2} Leire Lekunberri, ^{1,2} Ianire Buceta, ^{1,2} Ane Olea, ^{1,2} Itziar Terradillos, ^{1,2} Svein Achicallende, ^{1,2} Jon Egaña-Huguet, ^{1,2} Itziar Bonilla, ^{1,2} Nagore Puente, ^{1,2} Izaskun Elezgarai, ^{1,2} Inmaculada Gerrikagoitia, ^{1,2} Pedro Grandes eta ^{1,2} Irantzu Rico-Barrio

¹Neurozientziak Saila, Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (EHU), Leioa. ²Achucarro Basque Center for Neuroscience zentroa, Euskal Herriko Unibertsitatea, E-48940 Leioa.

leirelei31@gmail.com

Alkohol-kontsumoa, batez ere nerabezaroan, egungo gizartea kezkatzen duen arazo larrienetako bat da. Aldi kritiko horretan, alkoholak nabarmenki kaltetzen ditu nerabeen garunaren garapen-prozesu ezberdinak; helduaroan mantendu daitezkeen ondorio kaltegarriak eraginez. Hori dela-eta, bai osasun-sisteman bai hiritargoan, prebentzio-egitasmoak edo tratamendu berrien ikerketak burutzeko eskakizunak jorratzen ari dira. Horren harira, ingurune aberastuak (IA) aldaketa molekular, anatomiko zein funtzionalak eragiten ditu garunaren garapen-prozesuan. Hori dela-eta, paradigma horrek garun-lesioen berreskurapenean duen parte-hartze garrantzitsua zein onuragarria azpimarratu beharra dago. Ikerketa honen helburuak dira nerabezaroko gehiegizko alkohol-kontsumoak helduaroan sor ditzakeen kalteak aztertzea eta ingurune aberastua, terapia gisa, alkoholak sortutako asaldura horiek berreskuratzeko gai den ikertzea. Azterlan honen helburua gauzatzeko, 4 astetan zehar, nerabezaro garaiko C57BL/6 ar saguei ilunpean alkohola edateko protokolo bat ezarri zitzairen. Zehazki, asteko lehenengo hiru egunetan, animaliak bi orduz segidan egon zitezkeen alkohola (%20) era aske batean edaten. Laugarren egunean, berriz, edateko denbora-tartea 4 orduz luzatu zen eta asteko gainontzeko 3 egunak atsedean gisa hartu ziren. Ondorengo bi asteko abstinentsia-aldiaz baliatuz, animaliak IAko karioletan barruratu ziren. Ezagutze-oroimena, oroimen espaziala, oreka eta antsietate-maila portaera-proba ezberdinen bitartez aztertu ziren. Nerabezaroan alkoholarekin tratatutako animaliek galera esanguratsua erakutsi zuten ezagutze-oroimenean, oroimen espazialean eta orekan, urarekin tratatutako animaliekin alderatuta. Halere, saguek IAko karioletan barneratzean hiru parametro horien berreskurapen adierazgarria erakutsi zuten. Bestalde, antsietate-mailari dagokionez, ez da aldaketarik behatu aztertutako taldeen artean. Ondorioz, ikerketa honek aditzera ematen du IAko etanol-kontsumoagatik sorturiko efektu kaltegarriak berreskuratzeko gaitasuna daukala. Horrek aukera berriak ireki ditzake osasungintzan, non, aberastutako inguruneak terapia bezala proposatu daitezkeen alkohol-mendekotasunaren tratamenduan.

Gako-hitzak: alkohol-kontsumoa, ingurune aberastua, oroimena, terapia

Posterrak

Transkriptoma kodetzailearen eta ez-kodetzailearen azterketa aluminiodun txertoen eraginpean

Martin Bilbao-Arribas, Endika Varela-Martínez, Naiara Abendaño, Begoña M. Jugo

Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalien Fisiologia Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa, Bizkaia.

begonamarina.jugo@ehu.eus

Aluminio hidroxidoa animalien eta giza txertoetan osagai laguntzaile ohikoa izan arren, txertaketa ondoko erantzun immunean duen efektua aztertzeko ikerketa-lan gutxi egin dira orain arte. Gure taldearen ikerketa-lerro honetan, aluminio gatz honek ardiaren ehun desberdinetan transkriptoma nola aldatzen duen aztertu nahi da. Horretarako, RNA-seq teknologia erabiliz, gene kodetzaileen eta RNA ez kodetzaileen transkriptomak (batez ere mikroRNAena eta RNA luze ez-kodetzaileena) aztertu dira.

Epe luzeko esperimentu bat diseinatu zen ardietan, ardi batzuei aluminioa osagai gisa zuten txerto komertzialak inokulatuz eta beste batzuei aluminio gatzak. Esperimentuaren bukaerako transkriptoma esperimentua hasi baino lehenagokoarekin konparatu zen, eta beharrezko analisi bioinformatikoak egin ziren. Orain arte bi ehun aztertu izan dira. PBMC zeluletan, hots, odol-zelula mononuklearrean, 2473, 2980 eta 429 diferentzialki adierazitako gene identifikatu dira, txertatutako animalietan, laguntzailearekin txertatutako animalietan eta bi taldeen arteko konparazioetan hurrenez hurren. Txerto osoa edo aluminioa soilik jasotako taldean NF- κ B bidezidorrean inplikaturiko geneek ezohiko adierazpena erakutsi zuten.

Esperimentua bukatu ondoren beste zenbait ehun bildu ziren animalia-kontrolatan, txerto komertzialak eta aluminio gatzak soilik jaso zituzten taldeetan. Emaitzak bi taldeak kontrolarekiko eta bi taldeen artean konparatu ziren. Burmuinaren kasuan, 33, 6 eta 45 gene kodetzailek soilik erakutsi zituzten desberdintasunak adierazpenean, funtzionalki mitokondrioen funtzionamenduarekin erlazionatuta.

Burmuinaren RNA ez-kodetzaileei dagokienez, 38, 2 eta 7 miRNA daude diferentzialki adierazita, eta 32, 8 eta 32 lncRNA aipatutako erkaketetan. Horien artean neuronen desberdintzapenerako garrantzitsuak diren TUNA eta RMST lncRNAk identifikatu ahal izan dira, ebolutiboki oso kontserbatuta daudelako. Animalia ez-eredu baten lan egiteak analisi hauek zaildu egiten ditu eta anotatzeko ahaleginak beharrezkoak dira. Aluminio gatzaren efektuaren ikuspegi oso bat izateko, bestelako ehun batzuk aztertuko dira geroan.

Emaitzen arabera, aluminiodun laguntzaileak antigenoen garraiorako konposatu soilak baino gehiago dira, sistema immunean arrisku-seinaleak piztu baititzakete. Honelako lanak beharrezkoak dira txerto efektiboak eta ziurragoak egin ahal izateko.

Gako-hitzak: txertoak, osagai laguntzailea, aluminioa, RNAseq, mRNA, miRNA, lncRNA

Linboko zelula amen iturri izan daitezkeen korneen karakterizazioa biltegitratze-metodo eta -denbora desberdinetan

Maddalen Rodriguez-Astigarraga^{1,2}, Paula Romano¹, Jaime Etxebarria^{2,3}, Noelia Andollo^{1,2}

¹Zelulen Biologia eta Histologia Saila. Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea. Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa. ²Biocruces Ikerkuntza Sanitarioko Institutua. BEGIKER Ikerketa Taldea, Barakaldo. ³Guruzetako Unibertsitate Ospitalea, Oftalmologia Saila.

m.rodriuezastigarraga@gmail.com

Helburua: Kornearen kontserbazio-denbora eta -metodologiak (2 eta 9 egun bitarteko biltegitratze hipotermikoa edo kultiboan mantentzea) linbo esklerokornealeko zelula ama epitelialen biziraupenean izan dezakeen eragina aztertzea.

Metodologia: Izoztutako kornea-eraztunetan immunofluoreszentzia bidezko azterketa, linboko zelula ama (K15, Δ Np63 α , ABCG2, Bimentina), proliferazio (Ki67), desberdintzapen (K3, K12) eta epitelio-estroma adhesio (kolagenoVII) markatzaileen proteina-espresioa ikusteko.

Emaitzak: Epitelio kornealaren antolakuntza aldatu egiten da epe luzez biltegitratze hipotermikoan edo kultiboan mantenduz gero. Horrez gain, zelula ama izaera markatzen duten markatzaile guztiak linbo-eremuan ageri dira, baita epitelio konjuntibalaren mintz basalean ere, edozein biltegitratze-metodo eta -denboratan. Kontserbazio-denboran aurrera joanda, epitelio linbarrean ageri diren zelula bimentina positiboak desagertu egiten dira. Kornea guztiek Ki67 proliferazio-markatzailea adierazten duten zelulak dituzte.

Ondorioak: Zelula ama izaera duten zelulak ageri dira linbo esklerokornealean biltegitratze-denbora eta -metodologia desberdinak erabili arren. Hala ere, haien sakabanaketa aldatu egiten da, epe motzean mantendutako korneekin alderatuz gero.

Gako-hitzak: kornea, immunohistokimika, zelula amak, markatzaileak.

Posterrak

Pseudohipoparatiroidismorako terapia genikoa: CRISPR/Cas9 eta bektore ez-biraletan oinarritutako garapen esperimentalak

Yerai Vado Ranedo^{1,2}, Jon Zarate Sesma¹, Guiomar Pérez de Nanclares Leal²

¹NanoBioCel Ikerketa Taldea, Farmazia Fakultatea, UPV/EHU, Vitoria-Gasteiz. ²(Epi) Genetika Molekularreko Laborategia, BioAraba Osasun Institutu Nazionala, Arabako *Unibertsitate Ospitalea - Txagorritxu, Vitoria-Gasteiz.*

yerai.vado@ehu.eus

Albright eta kideek pseudohipoparatiroidismoa (PHP) deritzan erresistentzia hormonalaren ondoriozko lehenengo sindromea deskribatu zuten 1942an. PHParen ezaugarriak hauek dira: hipokaltzemia, hiperfosfatemia eta odoleko PHTaren igoera (nahiz eta haren funtzioa normala izan). Gainera, PHPa duten gaixoez Albrighten ondoretasunezko osteodistrofia (AHO, *Albright Hereditary Osteodystrophy*) moduan ezagutzen den fenotipo zehatza aurkez dezakete, honako ezaugarri hauek erakutsiz: altuera baxua, loditasun zentrala, aurpegi biribila, lepo motza eta brakidaktilia.

PHPaGs proteinaren alfa azpiunitatearen (G_{α}) funtzio ezegokiarekin lotzen da. Aztertzen diren pazienteen %80an PHP bezala diagnostikatzeko aldaketak aurkitzen dira. Nahiz eta PHP sindromearen mota desberdinak egon, orain arteko lanen arabera, diagnostikatutako pazienteen %50ari 1A motako pseudohipoparatiroidismoa (PHP1A; OMIM: 103580) dagokio. Horien artean, GNAS genean p.Asp190Metfs*14 (c.568_561delGACT) aldaera *hotspot* bezala deskribatua izan da (<http://databases.lovd.nl/shared/variants/GNAS/unique>). PHP1A aldaera duten gaixoez, batetik, AHOa izaten dute eta, bestetik, PTHari eta tiroidearen hormona estimulatzaileari (TSH) erresistentzia erakusten dute.

Azaldutako mutazioa atzera bueltatzeko asmoz, terapia genikoa egin nahi da. Horretarako, gaixoen gertutik zelula ama mesenkimalak isolatu nahi dira eta horietan CRISPR/Cas9 egin nahi da, beharrezko elementuak bektore ez-biraletan bidez transfektatuz. Nahiz eta bektore biralen diseinuan eta optimizazioan aurrerapen handiak egin diren, bektore ez-biraletan konparatzen baditugu zenbait segurtasun-muga egon daitezke erabilera klinikoan. Gainera, bektore biralen ekoizpena garestiagoa da eta garraiatu dezaketen material genetikoaren karga txikiagoa. Hori dela-eta, bektore ez-biraletak gero eta gehiago ikertu dira, eraginkorra den alternatiba seguruagoa eta merkeagoa lortu nahian.

Azkenik, editatua izan den genea funtzionala den ala ez aztertu behar da. G_{α} proteinak adenilato ziklasa aktibatzen duenez, pazientearen proteina mutatua zuzendu den jakiteko, AMP zikloaren ekoizpena neurtuko da.

Laburbilduz, proiektu honen helburu nagusia PHP1A eragiten duen GNAS genean ezaguna den mutazioa zuzentzeko *ex vivo* terapia genikorako CRISPR/Cas9 protokoloa diseinatu eta balioztatzea da.

Gako-hitzak: terapia genikoa, CRISPR/Cas9, pseudohipoparatiroidismoa, bektore ez-biraletak

CB₁ kannabinoideen hartzailearen gabeziaren eragina garuntxoko zuntz paraleloetan

Ianire Buceta^{1,2}, Irantzu Rico-Barrio^{1,2}, Nagore Puente^{1,2}, Izaskun Elezgarai^{1,2} eta Pedro Grandes^{1,2}

¹ Neurozientziak Saila, Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (EHU), Leioa, Bizkaia, Euskal Herria. ² Achucarro Basque Center for Neuroscience zentroa, Euskal Herriko Unibertsitatea, E-48940 Leioa, Bizkaia, Euskal Herria.

ianire.buceta@ehu.eus

Endokannabinoide-sistemak (EKS), burmuinaren garapenaren fasearen arabera, funtzio desberdinetan hartzen du parte. Izan ere, haren funtzio ezagunena neurotransmisoreen doikuntzan datzan arren, *in vivo* eta *in vitro* garatutako ikerketek adierazi dute CB₁kannabinoideen hartzaileak burmuinaren garapeneko prozesuetan parte hartzen duela.

Zenbait ikerketak adierazi dute CB₁ hartzailearen gabezia duten saguek (CB₁-KO) fenotipo normala erakusten dutela; beste batzuek, aldiz, koordinazio edo ikasketa motorrean eta horren mekanismoetan urritasun txikiak dituztela berretsi dute. Garuntxoan, ikasketa motorrarekin erlazionatuta dagoen egituran, EKSaren adierazpen handia dago enbrioi-fase goiztiarrean, baita jaio osteko garapenean eta helduaroan ere.

Horregatik, ikerlan honetan hipotesizat izan dugu CB₁-KO animalietan jatorrizko saguetan (CB₁-WT) CB₁ hartzailea adierazten duten garuntxo-kortexeko zuntz paraleloen bukaera sinaptikoen (ZPBS) aldaketak jasan dituztela. Horri erantzuna emateko, ikerketa honetan, CB₁-KO sagu helduen zuntz paraleloen ultraegitura-mailako ezaugarriak aztertu genituen mikroskopio elektronikoaren bidez, garuntxoaren 5. eta 10. lobuluetan.

Garuntxoaren 5. lobuluan CB₁-KO saguek, CB₁-WT saguekin alderatuz, zuntz paraleloen eta Purkinje zelulen arantza dendritikoen arteko kontaktu sinaptiko gutxiago erakutsi zituzten. Osatzen zituzten sinapsiak, berriz, luzeagoak ziren. 10. lobuluan, aldiz, ez zen ezberdintasunik aurkitu.

ZPBSen ezaugarriei dagokienez, 10. lobuluko CB₁-KO saguen ZPBSak handiagoak ziren (%25) 5. lobulukoekin alderatuta. Gainera, CB₁-KO saguetan, bai 5. eta bai 10. lobuluetako ZPBSek ere besikula sinaptiko kopuru txikiagoa zuten eremu aktiboaren hurbiltasunean CB₁-WTkoekin alderatuta. Horrez gain, CB₁-KO saguen ZPBSetan sinapsiko besikulak 5. lobuluan 10. lobuluan baino sakabanatuago zeuden.

Ikerketa honetan lortutako emaitzek adierazten dute CB₁ hartzailearen gabeziak ZPBSen ultraegitura-mailako zenbait ezaugarriren asaldura eragiten duela. Bukaera sinaptikoen azalera handitzeak eta sinapsiaren hurbiltasunean kokatzen diren besikulen dentsitatearen gutxiagotzeak CB₁ hartzailearen gabezia hori konpentsatzen duten mekanismoak daudela iradokitzen dute, bereziki 5. lobuluan. CB₁-KO animalien ZPBSetan gertatzen diren aldaketa morfologikoen garuntxoaren zirkuituek funtzionaltasuna ahalik eta eraginkorrena mantentze aldera egokitzeak duten gaitasuna adierazten egon daitezke.

Gako-hitzak: endokannabinoide-sistema, garuntxoa, CB₁knockout, zuntz paraleloak, mikroskopio elektronikoa

Posterrak

Esker onak: Euskal Herriko Unibertsitateko doktoratu aurreko diru-laguntza (UPV/EHU) (PIF09/2009/PIF09228); Eusko Jaurlaritza (BCG IT764-13); MINECO/FEDER, UE diru-laguntza (SAF2015-65034-R).

Astrozitoen markaketa azpizelular egokienaren bila: GLAST vs GFAP

Svein Achicallende^{1,2}, Itziar Bonilla-Del Río^{1,2}, Jon Egaña-Huguet^{1,2}, Itziar Terradillos^{1,2}, Ianire Buceta^{1,2}, Naiara Royo^{1,2}, Irantzu Rico-Barrio^{1,2}, Nagore Puente^{1,2}, Izaskun Elezgarai^{1,2}, Inmaculada Gerrikagoitia^{1,2}, Pedro Grandes^{1,2,3}

¹Medikuntza eta Erizaintza Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa.

²Achucarro Neurozientzien Euskal Zentroa, UPV/EHUko Zientzia Parkea, Leioa.

³Division of Medical Sciences, University of Victoria, Viktoria, BC, Kanada.

svein.achicallende@ehu.eus

Astrozitoak, neuronak euskarri estrukturaler hornitzen dituzten zelula pasibo izatetik urrun, garuneko ezinbesteko elementuak dira, zeinek garun osasuntsu bateko hainbat oinarritzko prozesu fisiologikotan parte hartzen duten. Gaur egun, zelula glial hauek zirkuitu zerebraleko funtsezko elementu aktibo eta dinamikotzat hartzen dira: hartzaileen garraioan, ioi eta metabolito energetikoen homeostasiaren kontrolean eta neurotransmisoreen garbiketan parte hartzen dute. Gainera, funtzio sinaptikoan eginkizun garrantzitsua duten zelula bezala nabarmentzen ari dira, «Sinapsi Tripartita»ko partaide aktiboak direlarik.

Astrozitoek sinapsi eta neurona, beste zelula glial eta garuneko egitura baskularrekin kontaktu fisiko estua dute, eta inguruko aktibitate neuronalaren antzematea ahalbidetzen dieten hainbat hartzaile funtzional adierazten dituzte. Hartzaile horien aktibazioak aktibitate sinaptikoa, odol-fluxua edo metabolismoa eraldatu ditzake gliotransmisioaren bidez. Hainbat patologiatan ikusienez, garunean kalte bat izanez gero, hartzaile hauen adierazpena aldatzen da, eta gaixotasun edo infekzioen presentzian oso zelula aktiboak bihurtzen dira astrozitoak.

Proteina harikara azidiko gliala (*glial fibrillary acidic protein*, GFAP) astrozitoetako zitoeskeletoko bitarteko proteina harikara nagusia da, eta, ondorioz, markatzaile astrozitiko ohikoena eta erabiliena izan da. Hala ere, GFAP markaketa astrozitoen gorputz eta adarkadura nagusietara mugatzen da, astrozitoen morfologiaren irudi murriztu bat emanez. Bestalde, glutamato aspartato garraiatzailea (*glutamate aspartate transporter*, GLAST), astrozitoek era espezifikoan adierazten duten aminoazido kitzikatzaileen garraiatzaile bat da, astrozito osoan zehar adierazten dena.

Lan honen helburu nagusia izan da saguen hipokanpoko CA1 gunean astrozitoen markatzaile egokiena identifikatzea. Xede horretarako, α -GFAP (#G3893, saga, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA, RRID: AB_477010) eta α -GLAST (Anti-A522, untxia, Ab#314; Niels Christian Danbolt-ek eskuzabaltasunez emana) antigorputzak erabili ziren, mikroskopio elektronikorako murgildu aurreko immunoperoxidasa metodoarekin bateratuz.

GFAParen adierazpena oso urria izan zen CA1eko astrozitoetan, GLASTekin konparatuz. Izan ere, α -GLAST antigorputzak α -GFAP antigorputzak baino lau aldiz prozesu astrozitiko gehiago markatu zituen (GLAST: $0,962\mu\text{m}$ mintz astrozitiko/ μm^2 ; GFAP: $0,212\mu\text{m}$ mintz astrozitiko/ μm^2).

Emaitza hauek zera ematen dute aditzera: GLASTa markatzaile astrozitiko egokiagoa dela mikroskopio elektronikoko prestakinetarako, eta garun osasuntsu eta patologiko baten hartzaile astrozitikoaren adierazpena aztertzeko tresna erabilgarri gisa proposatzen da.

Posterrak

Lan hau honako laguntza hauei esker burutu da: Eusko Jaurlaritza BCG IT764-13 eta MINECO/FEDER SAF2015-65034-R. SAK Euskal Herriko Unibertsitatearen PhD kontratu bat dauka (PIF 16/251).

Gako-hitzak: neurozientziak, astrozitoak, GFAP, GLAST, mikroskopia elektronikoa, mikroskopia fokukidea.