

El estímulo lumínico modula el metabolismo del 2-araquidonoil glicerol en los segmentos externos de los bastones de la retina bovina

Estefania Chamorro Aguirre, Virginia L. Gaveglio, Susana J. Pasquare
INIBIBB, UNS-CONICET. DEPTO. BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA y FARMACIA, UNS
echamorro@inibibb-conicet.gob.ar

El 2-araquidonoil glicerol (2-AG) es un endocannabinoide de naturaleza lipídica que puede unirse a receptores cannabinoides. Está involucrado en mecanismos intracelulares de gran relevancia, y cumple funciones neuromoduladoras y neuroprotectoras. La principal ruta metabólica para la síntesis del 2-AG involucra la acción combinada de una fosfolipasa C (PLC) y una diacilglicerol lipasa (DAGL). Otra vía de formación de 2-AG es a partir del 2-araquidonoil lisofosfatidato (2-araquidonoil-LPA) por la acción de una lisofosfatidato fosfohidrolasa (LPAPasa). El sistema endocannabinoide ha sido poco estudiado en la retina, si bien se ha demostrado su presencia aún se desconoce su rol funcional en la visión. La luz produce la activación de la rodopsina y la disociación de la transducina ($G\alpha_{GDP}\beta\gamma$) en los discos de los segmentos externos de los bastones (célula fotorreceptora) dando inicio a la conversión de la señal lumínica en señal eléctrica, proceso denominado fototransducción. La $G\alpha_{GDP}\beta\gamma$ se une a la rodopsina activada por luz, promoviendo el intercambio de GDP por GTP en la subunidad α de la transducina. Este cambio provoca la disociación de la subunidad $G\alpha_{GTP}$ de la $G\beta\gamma$, lo que activa a la fosfodiesterasa de GMPc, produciendo el cierre de los canales de ingreso de Na^+ y Ca^{2+} de la membrana plasmática. Esto hiperpolariza al fotorreceptor y genera una disminución en la liberación de glutamato, que es sentido por las células bipolares. El objetivo del presente trabajo fue determinar si el metabolismo del 2-AG en los segmentos externos de los bastones (ROS) es modulado por exposición a la luz, y si la transducina participa en su regulación. Para esto, se evaluaron las actividades de la DAGL y la LPAPasa (síntesis), y la monoacilglicerol lipasa (MAGL) (hidrólisis) del 2-AG, en los ROS de retinas provenientes de ojos bovinos adaptados a la oscuridad (ROS O), ROS de retinas expuestas a 3000 luxes por 30 minutos (ROS L) y ROS O blanqueados a 3000 luxes por 30 minutos (ROS B). Los ROS fueron purificados por un gradiente discontinuo de sacarosa y los ensayos enzimáticos se realizaron con sustratos radiomarcados. Para analizar el efecto de la transducina, los ROS O fueron preincubados durante 15 minutos con $GTP\gamma S$ o $GDP\beta S$ a temperatura ambiente, y seguidamente expuestos a la luz. Los resultados obtenidos mostraron un incremento de la actividad de la DAGL en ROS L (121%) y ROS B (43%) respecto a ROS O, mientras que la actividad de la LPAPasa fue similar en todas las condiciones evaluadas. El MAG, generado por la DAGL, se metabolizó a glicerol (37%) en ROS O y ROS L, lo que sugirió la acción de una MAGL. Esto se corroboró empleando MAG como sustrato exógeno, observándose un incremento (69%) de la actividad enzimática en ROS L respecto a ROS O. Por otra parte, se observó que el agregado de $GTP\gamma S$ a los ROS O incrementó la actividad de DAGL, llegando a valores obtenidos en ROS B. Esto indica que la activación de la transducina por $GTP\gamma S$ es capaz de igualar el efecto de la luz sobre la DAGL. Estos resultados evidencian la participación del 2-AG en el proceso de fototransducción, donde la transducina estaría involucrada en la regulación de la actividad de la DAGL.

Financiamiento: ANPCyT, SECyT-UNS, CONICET, CIC.

Sesión: Lípidos y Transducción de Señales