

SESIÓN 1 - N° 14**Rol de las Conexinas 26 y 43 en la proliferación y acople de células endimarias en ratones neonatos**

María Constanza Silvera (1), Milagros Benítez Verdier (1), María Victoria Falco (1), María Gabriela Fabbiani (1), Daniel Prieto (1), Federico F. Trigo (1), Raúl R. Russo (1)

1: *Departamento de Neurofisiología Celular y Molecular, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay.*

Resumen:

Las lesiones en la médula espinal (ME) resultan un desafío en mamíferos debido a su limitada capacidad de reparación. En animales adultos, el epéndimo de la ME es un nicho latente de células madre que se reactiva tras una lesión. Por el contrario, en ratones neonatos el epéndimo es un nicho activo en el cual las células endimarias (CE) están acopladas por uniones gap. En esta etapa las conexinas (Cx) 26 y 43 muestran alta expresión. En ratones adultos la expresión de Cx26 es casi nula, pero la de Cx43 se mantiene constante. Tras una lesión, aumentan el acople y la expresión de Cx26, posiblemente imitando lo que ocurre durante el desarrollo postnatal.

El objetivo de este trabajo es estudiar el rol de la Cx26 y Cx43 en la proliferación de las CE y el acople via "gap junctions" durante el desarrollo postnatal temprano. Para ello, empleamos ratones transgénicos floxeados (fl) para Cx26 o Cx43 cruzados con ratones FoxJ1CreER-tdTomato. El promotor FoxJ1 controla la expresión de la recombinasa CreER en células ciliadas lo que resulta en la expresión de tdTomato y el silenciamiento de la Cx seleccionada selectivamente en las CE. Para inducir la recombinación, inyectamos tamoxifeno 5 días antes. Para los ensayos de proliferación, realizamos dos inyecciones de EdU espaciadas por 4 h. Posteriormente, disecamos la ME y generamos cortes seriados sobre los que revelamos el EdU. Adquirimos imágenes utilizando microscopía confocal y cuantificamos núcleos EdU positivos de células tdT+ en los tres genotipos mencionados. Para registrar el acople de las CE, utilizamos la técnica de "patch clamp" en rodajas de ME. Obtuvimos registros de corriente frente a distintos pulsos de voltaje en el rango de -60 a +50 mV y construimos curvas I/V. A partir de estos datos extrajimos los valores de conductancia y resistencia de cada célula y comparamos el acople para los tres genotipos. La solución de registro contenía biocitina, que utilizamos para visualizar las CE acopladas con microscopía confocal.

Los resultados preliminares indican que la proliferación de las CE en neonatos Cx26fl/fl está reducida respecto a los ratones control, y no muestran diferencias en el acople. En cambio, en ratones neonatos Cx43fl/fl la proliferación de las CE es nula y están menos acopladas que en el control. Estos datos sugieren que la Cx43 es la principal responsable del acople via "gap junctions" pero ambas Cx son necesarias para mantener el epéndimo como un nicho de células progenitoras activo.