

Instituto Cajal, C.S.I.C.

**ESTUDIO SOBRE LAS CARGAS NEGATIVAS EXISTENTES
EN LA SUPERFICIE DE LOS SINAPTOSOMAS**

Dr. L. M. GARCIA-SEGURA
(Instituto Cajal, C.S.I.C.)

La membrana citoplasmática de las células animales se halla cubierta por una capa de polisacáridos (Martínez-Palomo, 1970; Luft, 1976) que presenta en su composición gran variabilidad según el tipo celular. Esta capa interviene en procesos de reconocimiento entre células. En el sistema nervioso estudios morfológicos a microscopía de luz y electrónica han demostrado la existencia de una capa externa de mucopolisacáridos en las neuronas (Bairati, 1953; Arteta, 1956; Abood y Abul-Haj, 1956; Schiffer, 1956; Young y Abood, 1960; Bennett, 1963; Bondareff, 1965, 1966, 1967; Pease, 1966; Rambourg et al., 1966; Rambourg y Leblond, 1967; Castejón, 1970; Martínez-Rodríguez et al., 1975, 1976 a, b). Estos mucopolisacáridos confieren una carga negativa neta a la superficie neuronal. Esta carga negativa se visualiza por la captura de numerosos cationes metálicos (García-Segura, 1977). Resultados obtenidos previamente (García-Segura,

1977) sugieren que los grupos aniónicos responsables de esta captura de cationes se localizan preferentemente, o con una mayor densidad, a nivel de las sinapsis.

En las sinapsis se ha descrito la existencia de glicoproteínas mediante técnicas bioquímicas (Waehnelde et al., 1971; Morgan et al., 1973; Banker et al., 1974; Gurd et al., 1974; Davis et al., 1976) y también mediante técnicas histoquímicas específicas (Matus et al., 1973; Cotman y Taylor, 1974; Bittiger y Schnebli, 1974; Kelly et al., 1976). Las glicoproteínas, junto con los glicolípidos son los constituyentes fundamentales de las cubiertas de las células animales (Luft, 1976) y pueden ser las moléculas responsables de estas cargas negativas (por ejemplo: el grupo carboxilo del ácido siálico).

En el presente estudio se investiga la captura, por los sinaptosomas del encéfalo de ratón, del catión $FeOH^{++}$. Este catión parece ser la forma en la

que se encuentra el hierro en la solución de hierro coloidal, y bajo la que se une a las mucosubstancias de los tejidos en este método histoquímico (Lillie et al., 1973).

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratones de la cepa Balb/c de tres meses de edad. El encefalo se extrajo incluyendo el bulbo y el cerebelo. Se lavó en tampón Tris 0,05 M a pH 7,4, con Sacarosa 0,25 M. El tejido se homogenizó y se procedió a la separación de la fracción mitocondrial por centrifugación. Una vez obtenida la fracción mitocondrial se resuspendió en una solución 0,01M de $\text{Fe}(\text{OH})\text{Cl}_2$ en tampón a pH 7,4. Al cabo de 10 minutos la fracción se centrifugó a 10.000 xg. El sedimento obtenido se resuspendió en tampón a pH 7,4 y se centrifugó nuevamente a 10.000 xg. El nuevo sedimento obtenido se resuspendió en glutaraldehido al 5 % en tampón Millonig. Al cabo de 2 horas a 4° C se centrifugó hasta obtener un precipitado denso que fue procesado para microscopía electrónica.

Antes del tratamiento con la solución de $\text{Fe}(\text{OH})\text{Cl}_2$ se trataron algunas fracciones con una solución de Neuraminidasa de *Cl.perfringens* (Sigma) según las condiciones descritas por Feria-Velasco et al. (1976). En otras fracciones se trató previamente el sedimento con metanol/CIH (Fischer y Lillie, 1954) a 60° C durante 24 horas.

RESULTADOS

Los sinaptosomas presentaron un precipitado uniforme alrededor de toda su superficie en las fracciones tratadas con la solución de $\text{Fe}(\text{OH})\text{Cl}_2$. En las que previamente habían sido tratadas con neuraminidasa se observó una intensa disminución en la densidad de precipitados alrededor de la superficie de los sinaptosomas. Tampoco se observaron precipitados en las fracciones pretratadas con metanol/CIH.

El precipitado observado sobre los sinaptosomas en las fracciones tratadas con $\text{Fe}(\text{OH})\text{Cl}_2$ y no sometidas a la acción de la neuraminidasa ni del metanol/CIH se presentó uniforme en toda la superficie de los sinaptosomas, sin mostrar una mayor densidad en las uniones sinápticas ni en ninguna otra zona de la membrana.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente trabajo coinciden con los obtenidos por Feria-Velasco et al. (1976) utilizando el método de Gasic et al. (1968). Feria-Velasco et al. (1976) indican que no se encuentra ninguna diferencia en la distribución de los depósitos electrón-densos entre el área de contacto sináptico y el resto de la membrana sinaptosómica. Este hecho, encontrado también por nosotros con el ión FeOH^{++} en el presente trabajo, contrasta con la localización más específica, encontrada por otros autores, para las glicoproteínas de las sinapsias

Gastrosorb[®]

Antiácido-gastroprotector

actúa de forma **directa y rápida** para desarrollar su poder de protección.

Composición

Por comprimido masticable:

Beta- glicirretato de aluminio 50 mg.
Hidróxido de aluminio, gel seco . . . 175 mg.
Trisilicato magnésico 350 mg.

Indicaciones

Hiperclorhidria, gastralgias y pirosis.
Gastritis; úlceras gástricas, úlceras duodenales;
gastritis y úlceras de etiología yatrogénica.

Dosis

1 a 2 comprimidos, a tomar masticados en el intervalo entre las principales comidas (hora y media después de cada comida), según la gravedad de la dolencia o la magnitud de los síntomas.

Contraindicaciones

No se conocen.

Incompatibilidades

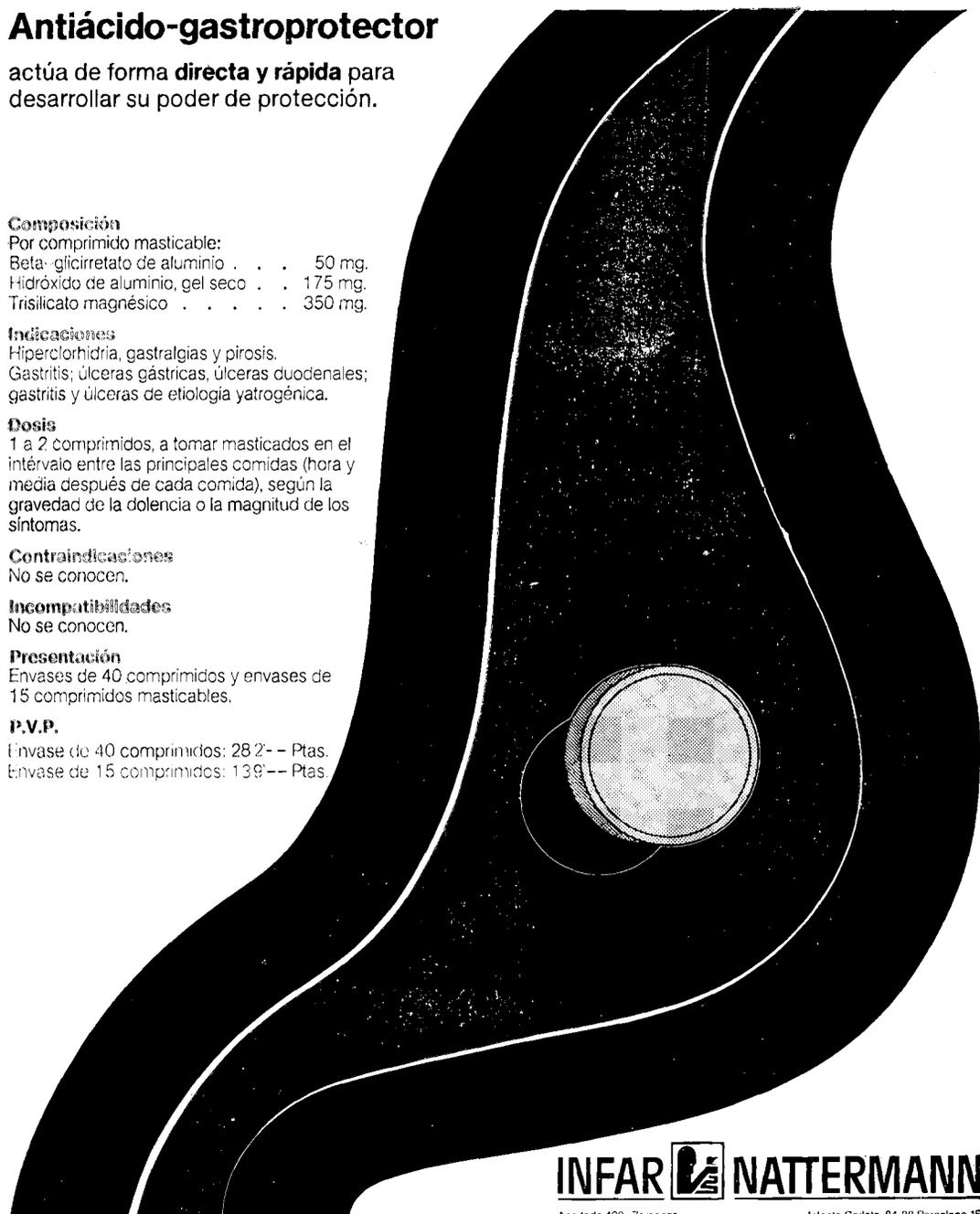
No se conocen.

Presentación

Envases de 40 comprimidos y envases de 15 comprimidos masticables.

P.V.P.

Envase de 40 comprimidos: 282-- Ptas.
Envase de 15 comprimidos: 139-- Ptas.



INFAR  **NATTERMANN**

Apartado 400-Zaragoza

Infanta Carlota, 84-88-Barcelona-15

(Matus et al., 1973; Bittiger y Schnebli, 1974; Cotman y Taylor, 1974; Kelly et al., 1976; Cotman y Lynch, 1976). Este resultado puede interpretarse como indicativo de que la unión del hierro a la superficie de los sinaptosomas, probablemente por fuerzas electrostáticas (Martínez-Palomo, 1970; Gesic et al., 1968; Blanquet y Loiez, 1974; Feria-Velasco et al., 1976), no es tan específica como la unión de la Concanavalina A y otras lecitinas utilizadas para la demostración histoquímica de las glicoproteínas. Sin embargo no descarta la hipótesis de que sean otros grupos de las glicoproteínas las responsables de la capa-

tura del hierro. Igualmente es posible que ciertos grupos específicos de las glicoproteínas se hallen situados en localizaciones clave, en relación con los fenómenos sinápticos, y al mismo tiempo exista una cubierta menos específica de glicoproteínas que rodee toda la superficie del sinaptosoma.

Nuestro estudio pone de evidencia la existencia de cargas negativas, en la superficie de los sinaptosomas, capaces de atraer al catión FeOH^{++} . Es posible que estas cargas jueguen un papel importante en los fenómenos de reconocimiento sináptico y en la formación de contactos sinápticos específicos.

BIBLIOGRAFIA

- Abood, L. G. y Abul-Haj, S. K. — Histochemistry and characterization of hyaluronic acid in axons of peripheral nerve. *J. Neurochem.*, 1: 119-125 (1956).
- Arteta, J. L. — Effect of hyaluronidase on the cat's brain. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 91: 440-442 (1956).
- Bairati, R. — Spreading factor and mucopolysaccharides in the central nervous system of vertebrates. *Experientia*, 9: 461-462 (1953).
- Banker, G.; Churchill, L. y Cotman, C. W. — Proteins of the postsynaptic density. *J. Cell. Biol.*, 63: 456 (1974).
- Bennett, H. S. — Morphological aspects of extracellular polysaccharides. *J. Histochem. Cytochem.*, 11: 14-23 (1963).
- Bittiger, H. y Schnebli, H. P. — Bindings of concanavalin A and Ricin to synaptic junctions of rat brain. *Nature (Lond.)*, 249: 370-371 (1974).
- Blanquet, P. R. y Loiez, A. — Colloidal iron used at pH's lower than 1 as electron stain for surface proteins. *J. Histochem. Cytochem.*, 22: 368-377 (1974).
- Bondareff, W. — The extracellular compartment of the cerebral cortex. *Anat. Rec.*, 152: 119-128 (1965).
- Bondareff, W. — Electron microscopic evidence for the existence of an intercellular substance in rat cerebral cortex. *Z. Zellforsch.*, 72: 487-495 (1966).
- Bondareff, W. — An intercellular substance in rat cerebellar cortex: submicroscopic distribution of ruthenium red. *Anat. Rec.*, 157: 527-536 (1967).
- Castejón, H. J. — Histochemical demonstration of sulphated polysaccharides at the surface coat of nerve cells in the mouse central nervous system. *Acta Histochem.*, 38: 55-64 (1970).
- Cotman, C. W. y Lynch, G. S. — Reactive synaptogenesis in the adult nervous system. En: *Neuronal Recognition*. Editado por: S. H. Barondes, pp.69-108. London, Chapman and Hall, 1976.
- Cotman, C. W. y Taylor, D. — Location and characterization of ConA receptors in the synaptic cleft. *J. Cell. Biol.*, 62: 236-242 (1974).

- Davis, L. G.; Brunngraber, E. G. y Routtenberg, A. — A study of ³H-L-Fucose-containing glycoproteins of the crude synaptosomal fraction obtained from rat brain regions at various ages. *J. Neurosci. Res.*, 2:83-88 (1976).
- Feria-Velasco, A.; Sánchez de la Peña, S. y Magdaleno, V. — Labelling of electrical surface charges at synaptosome membrane: an electron cytochemical and biochemical study. *Brain Res.*, 112: 214-220 (1976).
- Fisher, E. R. y Lillie, R. D. — The effect of methylation on basophilia. *J. Histochem. Cytochem.*, 2: 81-87 (1954).
- García-Segura, L. M. — Etude sur la capture de divers cations métalliques par la couche externe de mucopolysaccharides qui entoure les neurones. *Acta Histochem.*, en prensa (1977).
- Gasic, G. J.; Berwick, L. y Sorrentino, M. — Positive and negative colloidal iron as cell surface electron stains. *Lab. Invest.*, 18: 63-71 (1968).
- Gurd, J. W. y Mahler, H. R. — Fractionation of synaptic plasma membrane glycoproteins by lecitin affinity chromatography. *Biochemistry*, 13: 5193 (1974).
- Kelly, P.; Cotman, C. W.; Gentry, C. y Nicolson, G. L. — Distribution and mobility of lecitin receptors on synaptic membranes of identified neurons in the central nervous system. *J. Cell. Biol.*, 71: 487-496 (1976).
- Lillie, R. D.; Vacca, L. y Pizzolato, P. — Hydroxy-ferric ions in histochemistry. Iron ion hydroxylation and histotopochemistry of tissue iron uptake. *J. Histochem. Cytochem.*, 21: 161-165 (1973).
- Luft, J. H. — The structure and properties of the cell surface coat. *Int. Rev. Cytol.*, 45: 291-382 (1976).
- Martínez-Palomo, A. — The surface coats of animal cells. *Int. Rev. Cytol.*, 29: 29-75 (1970).
- Martínez-Rodríguez, R.; García-Segura, L. M.; Toledano, A.; González, M.; Gamonal, A.; de Agustín, M.; Díaz-González, P. y Rodríguez-González, C. — Investigation of acid mucosubstances in rat's cerebellum. *Ann. Histochem.*, 20: 205-215 (1975).
- Martínez-Rodríguez, R.; Toledano, A.; García-Segura, L. M.; Rodríguez-González, C. — Histochemical study of mucopolysaccharides in the subthalamic region of rats. *Acta histochem.*, 56: 200-210 (1976).
- Martínez-Rodríguez, R.; Toledano, A.; García-Segura, L. M.; González, M.; Gamonal, A.; Díaz-González, P.; de Agustín, M. y Rodríguez-González, C. — Mucopolysaccharides in hypothalamic neurons of the rat. *J. Anat. (Lond.)*, 121: 231-239 (1976).
- Matus, A.; De Petris, S. y Raff, M. C. — Mobility of ConA receptors in myelin and synaptic membranes. *Nature (Lond.)*, 244: 278-279 (1973).
- Morgan, I. G.; Zanetta, J. P.; Breckenridge, W. C.; Vincendon, G. y Gombos, G. — The chemical structure of synaptic membranes. *Brain Res.*, 62:405 (1973).
- Pease, A. C. — Polysaccharides associated with exterior surface of epithelial cells: kidney, intestine, brain. *J. ultrastruct. res.*, 15: 555-888 (1966).
- Rambourg, A. y Leblond, C. P. — Electron microscopic observation on the carbohydrate-rich cell coat present at the surface of cells in the rat. *J. Cell. Biol.*, 32: 27 (1967).
- Rambourg, A.; Nauta, M. y Leblond, C. P. — Presence of a "cell coat" rich in carbohydrate at the surface of cells in the rat. *Anat. Rec.*, 154: 41-72 (1966).
- Schiffer, D. — Etude histochimique de la métachromasie du système nerveux central chez l'homme. *M Schr. Psychiat. Neurol.*, 132: 207-220 (1956).
- Wachneldt, T. V.; Morgan, I. G. y Gombos, G. — The synaptosomal plasma membrane: protein and glycoprotein composition. *Brain Res.*, 34: 403 (1971).
- Young, I. J. y Abood, L. G. — Histological demonstration of hyaluronic acid in central nervous system. *J. Neurochem.*, 6: 89-94 (1960).