

**RESUMEN**

El ATP es una molécula de señalización potente que, actuando a través de receptores P2 ó purinérgicos ubicados en la membrana plasmática, modula funciones biológicas importantes en diversos tipos celulares. En el presente trabajo de tesis se investigó la modulación por ATP de la concentración de calcio intracelular ( $[Ca^{2+}]_i$ ), las cascadas de señalización de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs), la vía fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K)/Akt, y su interrelación en células tumorales de mama (línea MCF-7). Los resultados demuestran que el ATP aumenta la  $[Ca^{2+}]_i$  por liberación del catión desde depósitos intracelulares sensibles a inositol trifosfato ( $IP_3$ ) involucrando a la fosfolipasa C (PLC). Además, se observó un influjo transitorio de calcio sensible a gadolinio y lantano, producido por la adición de vehículo posterior a la estimulación purinérgica, al que se denominó influjo SAC (por "*stress activated calcium influx*").

Se comprobó que el ATP estimula la fosforilación de las MAPKs ERK1/2, p38 y p46 JNK en forma dependiente de la dosis y tiempo de tratamiento, y de p54 JNK con un perfil diferente al observado para las otras MAPKs. La fosforilación de MAPKs mostró involucrar la vía PI-PLC/ $IP_3$ / $Ca^{2+}$  y la proteína quinasa C (PKC), pero resultó independiente del calcio extracelular y de la tirosina quinasa Src. También se comprobó que el ATP estimula la expresión del factor de transcripción c-Fos y la fosforilación de los factores ATF1, c-Jun y

JunD en células MCF-7. Se estableció la participación de las MAPKs solamente en la inducción de c-Fos y en la fosforilación de c-Jun y JunD por ATP.

Adicionalmente, se demostró que el ATP promueve, en forma dependiente de PKC, la fosforilación de la familia de tirosina quinasas Src en tirosina 416 y la fosforilación de Akt en serina. A diferencia de lo observado para las MAPKs, Src participó en la fosforilación de Akt inducida por ATP. Igualmente, PI3K medió la estimulación por ATP de la fosforilación de Akt y no la de MAPKs.

La caracterización farmacológica realizada en base al empleo de agonistas de distintos subtipos de receptores P2Y, en conjunto con estudios de RT-PCR, sustentan la expresión de receptores P2Y<sub>2</sub> y P2Y<sub>4</sub>. Los resultados presentados en este trabajo de tesis contribuyen al conocimiento de los mecanismos de transducción de señales de nucleótidos extracelulares, particularmente del ATP, en células mamarias tumorales.