

## CAPÍTULO 3.

### COMUNICACIONES INTERCELULARES

Durante la filogénesis, la formación de los organismos multicelulares a partir de los organismos unicelulares seguramente dependió de la adquisición de la capacidad de comunicación entre las células. Las comunicaciones intercelulares son también indispensables durante la ontogénesis de cada organismo multicelular y para su funcionamiento armonioso. Efectivamente, las comunicaciones entre las células se requieren desde el proceso de fecundación, durante la embriogénesis donde participan en la diferenciación celular y la morfogénesis, en el control del crecimiento y del funcionamiento de los órganos, hasta la comunicación no solamente con el mundo externo, sino también con el mundo interno del organismo. Los organismos integran las informaciones de su mundo externo e interno para adaptarse mejor a su ambiente y para poder sobrevivir y reproducirse. Dentro de las innumerables funciones en que participan las comunicaciones intercelulares, podemos citar también el reconocimiento inmunológico de sí mismo y de lo ajeno, los procesos de percepciones y de coordinación de las actividades motoras, la regulación del ciclo circadiano, la determinación de la vida y de la muerte del organismo. En el ser humano, la memoria y el olvido, la conciencia y lo inconsciente, el pensar, el soñar y fantasear, la creatividad, y las emociones como el amor y el odio son también consecuencias de las comunicaciones intercelulares.

Sin poder dilucidar todos los mecanismos de comunicación intercelular, se han hecho descubrimientos importantes en las últimas décadas. Las células se comunican utilizando cientos de moléculas como señales o **mediadores químicos o ligandos** que incluyen proteínas, pequeños péptidos, aminoácidos, nucleótidos, esteroides, retinoides, derivados de ácidos grasos, y aún gases disueltos como el óxido nítrico o el monóxido de carbono. La mayoría de estas moléculas son secretadas por las células por exocitosis o por difusión a través de su membrana plasmática y afectan a otras células que se encuentran en las cercanías o a cierta distancia. Algunos mediadores no se separan de la célula que los produce, quedándose unidos a la membrana plasmática y afectan únicamente a otras células que entran en contacto con ellas. Los “mensajes” o las señales o la información emitidos de esta manera son recibidos por otras células a través de un sistema

elaborado de proteínas llamadas **receptores**. La respuesta de una célula a un mensaje recibido por uno de sus receptores implica, en general, otros procesos complejos que determinan cambios intracelulares entre los que puede estar la emisión de nuevos mensajes hacia otras células.

### 3.1. PRINCIPIOS GENERALES DE COMUNICACIONES INTERCELULARES

Los receptores, o sea el sistema de reconocimiento de moléculas de señal, son proteínas cuyas propiedades fisicoquímicas (carga, configuración, etc.) favorecen una interacción específica con moléculas complementarias, los mediadores, que tiene como consecuencia un efecto fisiológico sobre la célula que posea los receptores para este mediador. Los receptores pueden exponerse sobre la membrana plasmática o encontrarse dentro de la célula. Los de la membrana plasmática expuestos en la superficie de la célula tienen como mediadores moléculas que no pueden traspasar la membrana porque son demasiado voluminosas o demasiado hidrofílicas. Se encuentran en este grupo de mediadores: las hormonas de naturaleza peptídica del sistema endocrino (insulina, glucagón, prolactina, etc.); algunos factores de crecimiento (epidérmico EGF, fibroblástico FGF, neural NGF, etc.); los neuropéptidos y mediadores nerviosos muy polares tales como la adrenalina, la noradrenalina y la acetilcolina. Para los mediadores solubles en los lípidos, tales como las hormonas esteroideas y tiroideas, los receptores se encuentran dentro de las células. Esos mediadores atraviesan fácilmente la bicapa fosfolipídica de la membrana plasmática para unirse con sus receptores intracelulares.

En general, los mediadores tienen una gran afinidad por sus receptores (la constante de afinidad  $K_a$  es igual o más grande que  $10^9$  litros/mol), es decir que actúan sobre sus receptores en concentraciones muy bajas (igual o menor a  $10^{-9}$  M), lo que significa una gran especificidad. Algunos mediadores se unen a más de un tipo de receptor, pero con afinidades diferentes. En general, la unión del mediador es rápida y reversible; la formación del complejo mediador-receptor sigue una cinética similar a aquella descrita por la ecuación de Michaelis-Menten para las reacciones enzimáticas. Se trata de un proceso de saturación de los receptores. La constante de disociación,  $K_d$ , corresponde a la concentración del mediador cuando la mitad de los receptores están ocupados ( $K_d = 1/K_a$ ).

Se denomina **transducción** al proceso de la transferencia de la información del mediador extracelular al interior de la célula a través de un receptor que induce una respuesta celular. Efectivamente, la unión del mediador a su receptor induce el efecto biológico. Un análogo de un mediador se une al mismo receptor e induce sus efectos biológicos, mientras que un antagonista de un mediador compete con el mediador para suprimir el efecto.

La selectividad de la actividad de una molécula de señal se basa en el hecho de que solamente las células dianas tienen receptores específicos para la molécula implicada, y que el receptor tiene una conformación precisa que se adapta estrechamente a la del mediador. Efectivamente, cada célula es programada durante su diferenciación y especialización para responder únicamente a mediadores específicos por la expresión de genes de receptores determinados. Como los mediadores actúan en combinación, la respuesta celular puede ser de gran especificidad y muy variable dependiendo de la gran posibilidad de combinación de esos mediadores.

Además, diferentes tipos celulares pueden responder de maneras diferentes al mismo mediador. Por ejemplo, la acetilcolina estimula la contracción del músculo esquelético, mientras que disminuye la contracción del músculo cardíaco. Porque el receptor de la acetilcolina en el músculo esquelético es diferente del músculo cardíaco. En muchos otros casos, aunque el receptor sea el mismo, el efecto producido cambia en función de los procesos internos afectados por el receptor. Por ejemplo, la activación del mismo receptor de la acetilcolina disminuye la contracción en el corazón e induce la secreción en las células glandulares.

Las moléculas de señales intracelulares se consideran generalmente como los segundos o terceros mensajeros, mientras que las moléculas de señales extracelulares son consideradas primeros mensajeros. En muchos casos, la respuesta celular a un mediador extracelular es **amplificada** enormemente por la activación de segundos y/o terceros mensajeros y por las cascadas de reacciones enzimáticas. Es decir que cada molécula activada afecta otras moléculas que aumentan la respuesta celular.

Las células pueden responder de manera gradual o de manera repentina al aumento de la concentración de un mediador extracelular. Por ejemplo, el potencial de acción es una respuesta repentina de las neuronas a las estimulaciones por los neurotransmisores.

El complejo comportamiento de las células, como el sobrevivir, la diferenciación, la proliferación, etc., es generalmente regulado por una combinación específica de señales y no por una sola señal que actúa independientemente. La célula debe integrar la información proveniente de múltiples señales para dar una respuesta específica.

Algunas respuestas celulares a los mediadores son rápidas y transitorias, mientras que otras son lentas y más duraderas. Por ejemplo, la acetilcolina induce la contracción del músculo esquelético en milisegundos. Cuando comemos dulces aumenta la glucemia que induce la secreción de insulina que a su turno disminuye la glucemia. Esta normalización de la glucemia disminuye a su turno la secreción

de la insulina. Todas las estimulaciones y respuestas anteriores perduran unas docenas de minutos. Por otra parte, la inducción del desarrollo de las características sexuales secundarias durante la pubertad por las hormonas como el estradiol o la testosterona necesita actuar durante meses.

Durante el desarrollo del organismo, una señal transitoria a menudo produce efectos duraderos porque induce cambios que persisten indefinidamente a través de la memoria de la célula. Pero en la mayoría de los casos, especialmente en los tejidos de los adultos, cuando la señal cesa la respuesta también desaparece. La desaparición de la respuesta puede ser el resultado de la inactivación del mecanismo activado anteriormente o la renovación de moléculas modificadas por la señal por otras moléculas no modificadas. La concentración de moléculas mensajeras (primeros, segundos o terceros mensajeros) puede cambiarse rápidamente si son continuamente degradadas o removidas.

## **3.2. MODALIDADES DE COMUNICACIONES INTERCELULARES**

Una célula puede comunicarse con otra célula utilizando al menos cuatro vías: 1. por la secreción de una molécula de señal (mediador o ligando); 2. por un paso directo de una molécula de señal a la célula vecina a través de una unión comunicante; 3. por un contacto directo de una molécula de señal sobre su membrana con un receptor de la membrana de otra célula; 4. La célula afecta la matriz extracelular sin liberar moléculas de señal, y la matriz extracelular afectada influye sobre otras células.

### **3.2.1. Comunicaciones intercelulares por secreción de moléculas de señal**

Esta modalidad de comunicación intercelular es la mejor conocida. Las comunicaciones intercelulares del sistema nervioso a nivel de las sinapsis por la intervención de los neurotransmisores y del sistema endocrino por las hormonas son las más estudiadas. Más recientemente se descubrieron otras dos modalidades de comunicación intercelular mediadas por moléculas de señal secretadas: la paracrina y la autocrina.

#### **3.2.1.1. Acción paracrina**

Cuando un ligando secretado actúa sobre las células vecinas, se le denomina **parahormona**, y a su acción **paracrina**. Muchas parahormonas secretadas al medio extracelular son captadas y/o destruidas rápidamente por las células vecinas o por enzimas de la matriz extracelular, o son inmovilizadas dentro de la matriz. Así no entran en la sangre cantidades significativas de parahormonas. Por ejem-

plo, la histamina liberada por los mastocitos actúa principalmente como mediador local para la vasodilatación. Diferentes tipos de prostaglandinas y de leucotrienos actúan también de manera paracrina. La gran mayoría de los factores polipeptídicos de crecimiento, de los factores tróficos nerviosos y de los factores angiogénicos derivados de los tumores actúan también de manera paracrina.

Una acción paracrina descubierta recientemente es mediada por un gas, el óxido nítrico (NO). Cuando la acetilcolina secretada en las terminaciones de los nervios autónomos en la pared de los vasos sanguíneos hace fabricar y secretar a las células endoteliales el óxido nítrico que induce una relajación de las células musculares lisas de la pared de los vasos provocando una vasodilatación. El óxido nítrico es secretado también como un mediador local por los macrófagos y polimorfonucleares neutrófilos que intervienen en la destrucción de los microbios. Además, ese gas es utilizado por varios tipos de células nerviosas para dar señales a las células vecinas; por ejemplo, el óxido nítrico secretado por los nervios autónomos en el pene induce una vasodilatación local que es la responsable de su erección, lo que es también la base de la acción de la droga denominada viagra.

El óxido nítrico es fabricado por la enzima óxido nítrico-sintetasa por una deaminación de la arginina. El óxido nítrico se difunde rápidamente a través de la membrana plasmática y pasa directamente a las células vecinas. Su acción es local porque tiene una vida media muy corta en el medio extracelular (5 a 10 segundos) y se convierte rápidamente en nitratos y en nitritos por el oxígeno y el agua. En muchas células, el óxido nítrico activa la producción del GMPc (guanosín monofosfato cíclico).

Hay evidencias de que el monóxido de carbono (CO) sirve también como una señal intercelular y puede actuar de la misma manera que el óxido nítrico, estimulando la producción del GMPc.

### 3.2.1.2. Acción autocrina

La acción autocrina fue descubierta inicialmente *in vitro* en algunas células cancerosas, las cuales secretan al medio extracelular moléculas de señales, como el factor de crecimiento tumoral (TGF) o la bombesina que estimulan su propia proliferación. Se dedujo entonces que las células pueden mandar mensajes también a sí mismas y a otras células del mismo tipo. Existen células normales que secretan mediadores que se unen también a sus propios receptores.

Este modo de acción local, llamado **autocrino**, debe ser frecuente durante el desarrollo del organismo. La señal autocrina sería más efectiva si se utilizara simultáneamente por células vecinas del mismo tipo para inducir un grupo de células idénticas a realizar las mismas decisiones de desarrollo (por ejemplo, diferenciación y crecimiento sincronizado).

Los eicosanoides (*eicosanoids*) son moléculas de señal autocrinas en los animales adultos. Los eicosanoides son derivados de los ácidos grasos, sintetizados continuamente por la membrana plasmática y liberados al exterior de las células donde son degradados rápidamente por las enzimas. Los ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana que intervienen en la síntesis de los eicosanoides son liberados por la acción de las fosfolipasas. Existen cuatro grandes clases de eicosanoides: prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos. Estas moléculas tienen una actividad biológica variada: afectan la contracción del músculo liso y la agregación de plaquetas y participan en las respuestas inflamatorias y dolorosas. Cuando las células son activadas por un daño del tejido, la síntesis de eicosanoides se aumenta y afecta a las células que los liberan y a las vecinas.

Las hormonas corticoesteroides, como la cortisona, inhiben las fosfolipasas que actúan en la primera etapa de la síntesis de los eicosanoides, mientras que otras drogas antiinflamatorias no esteroideas, como la aspirina o el ibuprofeno, inhiben la ciclo-oxigenasa que interviene en la síntesis de los eicosanoides, con excepción de los leucotrienos. Ciertas prostaglandinas que son producidas en gran cantidad por el útero durante el trabajo del parto, estimulan la contracción del útero y son utilizadas como agentes farmacológicos para inducir abortos.

### 3.2.1.3. Acción endocrina

Los mensajes locales no son suficientes para coordinar el comportamiento de las células de un organismo multicelular complejo. Se necesita un sistema de comunicación entre las diferentes partes del cuerpo que se encuentran a distancia. El sistema nervioso es el sistema más sofisticado y más rápido para este tipo de comunicación. Otro tipo de comunicación a distancia, más lento pero también muy complejo, es el sistema endocrino.

En las glándulas endocrinas, como la hipófisis, el páncreas, los ovarios, los testículos, la tiroides, etc., las células especializadas secretan moléculas de señal a la sangre, llamadas **hormonas**, donde se transportan para actuar sobre células dianas dentro de todo el cuerpo. Existen otros tipos de glándulas que se llaman exocrinas porque secretan sus productos al medio exterior como las glándulas sebáceas o sudoríparas de la piel, o las glándulas que secretan a la luz de los aparatos digestivo, respiratorio o urinario.

Como las hormonas necesitan difusión y transporte en la sangre, su acción es relativamente más lenta que la del sistema nervioso que puede realizarlo con mayor rapidez y precisión.

El hipotálamo, con sus células neurosecretoras, controla la función de varios órganos endocrinos: hipófisis, glándulas suprarrenales, tiroides, genitales, etc. Las células dianas tienen receptores específicos para una hormona. Sus mecanismos de acción se describen en la sección 3.3.

Algunas hormonas actúan también como factores específicos de crecimiento. Por ejemplo, el estradiol estimula la proliferación del epitelio de la glándula mamaria durante la pubertad. La hormona de crecimiento (somatotropina) estimula el metabolismo y el crecimiento de los músculos y del cartílago hasta el final de la pubertad y un poco más allá. En el caso de insuficiencia de esta hormona se produce el enanismo, y en su exceso el gigantismo en el puber y acromegalia en el adulto.

Existen cientos de hormonas diferentes que pueden ser de naturaleza proteica o lipídica, pero la gran mayoría de las hormonas son péptidos o proteínas: la hormona estimulante del folículo (FSH), la hormona estimulante luteizante (LH) y la hormona estimulante de la tiroides o tireotrópica (TSH) son glicoproteínas; la insulina, la somatotropina, las somatomedinas, la hormona estimulante de la corticosuprarrenal (ACTH), el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y la parathormona son proteínas. Algunas hormonas son oligopéptidos: la hormona estimulante de la secreción de la TSH de 3 aa (TRH), la vasopresina de 9 aa (ADH), la hormona estimulante de la secreción del ovario de 10 aa (LH-RH), la somatostatina de 14 aa. Otras son derivadas de aminoácidos, más pequeñas, como la adrenalina, la noradrenalina, la triyodotironina o T3 y la tiroxina o T4.

Las hormonas lipídicas son, en general, derivadas del colesterol e incluyen el cortisol, la aldosterona, la testosterona, el estradiol, la progesterona y la vitamina D.

Podemos asimilar las **ferhormonas** a las hormonas. Las ferhormonas, en algunas especies animales, son secretadas fuera del organismo y afectan a otro miembro de la misma especie, sobre todo en el comportamiento sexual.

#### 3.2.1.4. Acción por sinapsis

El funcionamiento del sistema nervioso en general, y sus mecanismos de comunicación en particular, son los más complejos y sofisticados del organismo. En el ser humano falta mucho por descubrir sobre la organización y el funcionamiento del cerebro. Se conoce poco sobre su desarrollo, su plasticidad, la memoria, el recordar, el olvido, el pensamiento y mucho menos sobre la represión psicológica y lo inconsciente.

Los mediadores químicos secretados por las neuronas se llaman **neurotransmisores** y **neuropéptidos**. Ellos intervienen principalmente en la comunicación entre dos neuronas a nivel de estructuras especializadas denominadas **sinapsis químicas**, y entre una neurona y una célula muscular a nivel de las **uniones neuromusculares**. El papel de las terminaciones nerviosas en los otros tejidos se conoce menos bien, como en el caso de su intervención en el control de la secreción de las glándulas endo y exocrinas. Un ejemplo lo constituyen los

neurotransmisores del hipotálamo que afectan la secreción de la hipófisis. Los neurotransmisores secretados en las terminaciones nerviosas o a nivel de las estructuras especializadas mencionadas actúan como mediadores locales.

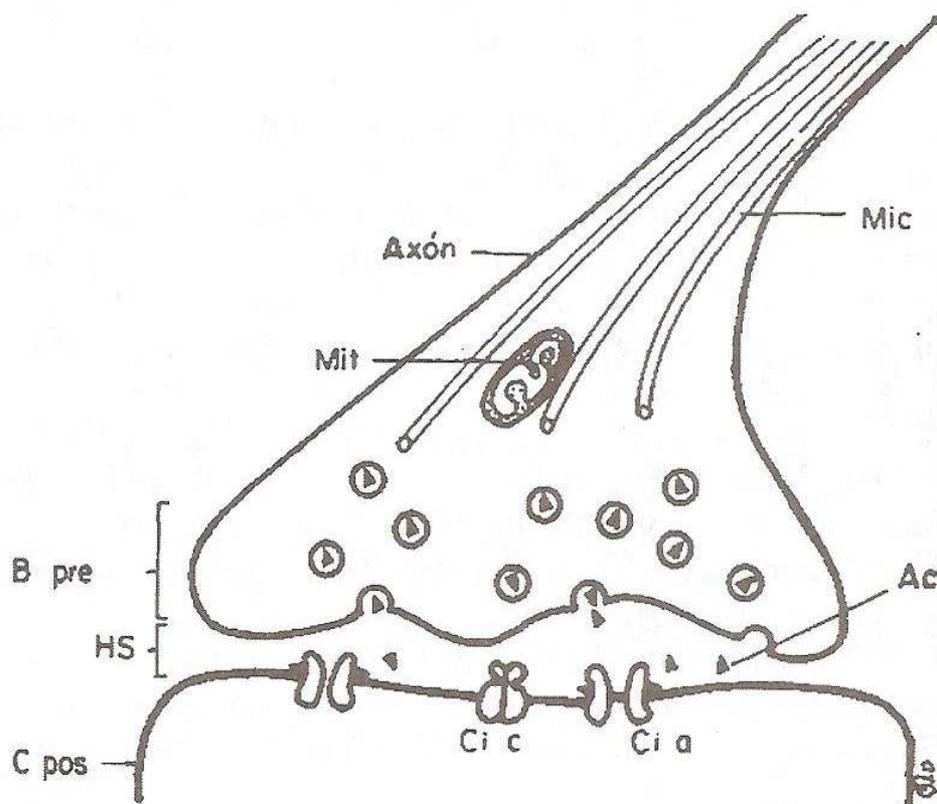
Ya se dijo que todas las células del organismo son polarizadas por un potencial de membrana. Cualquier cambio de este potencial juega un papel muy importante en el funcionamiento de muchos tipos celulares. Pero su papel es más espectacular y mejor conocido en las neuronas y en las células musculares. Estos dos tipos de células tienen la capacidad de invertir su potencial eléctrico produciendo un **potencial de acción**, y conducirlo rápidamente (hasta 100 m/seg) a lo largo de los axones o de la célula muscular alargada. Esta señal eléctrica del potencial de acción se comunica a la célula diana (otra neurona u otros tipos de células) por intermedio de los neurotransmisores secretados o por uniones comunicantes. Los neurotransmisores se unen a sus receptores específicos en la célula diana e inducen unas respuestas específicas según el mecanismo de acción de estos receptores. La respuesta inducida puede ser un cambio en el potencial de membrana, la contracción muscular, la secreción endocrina o exocrina, un cambio en el funcionamiento intracelular como el aumento del adenosín monofosfato cíclico (AMPc), etc.

Se han identificado más de 30 moléculas diferentes de neurotransmisores y neuropéptidos en los vertebrados. Los más conocidos son: acetilcolina, noradrenalina, glicina, GABA (ácido  $\gamma$ -aminobutírico), ácido aspártico, ácido glutámico, dopamina, serotonina, histamina, y una gran variedad de péptidos denominados neuropéptidos como las encefalinas, las endorfinas, el neuropéptido Y, el VIP (péptido intestinal vasoactivo) y el CGRP (péptido relacionado con el gen de la calcitonina).

Hay que anotar que un mismo mediador puede a veces ser utilizado en un mismo organismo por diferentes células como neurotransmisor, como hormona o como parahormona. Por ejemplo, la adrenalina y la noradrenalina funcionan como hormonas y como neurotransmisores.

La figura 3.1. esquematiza una sinapsis química típica donde interviene la acetilcolina como neurotransmisor. La sinapsis química posee un botón presináptico, formado por un axón y un elemento postsináptico perteneciente, según el caso, a una dendrita, a otro axón o también a un cuerpo celular. El axón presináptico termina en un replegamiento, el botón sináptico (Fig. 3.1 B pre), que contiene numerosas vesículas de 50 nm de diámetro en promedio, elementos fibrilares como los microtúbulos y organelos citoplásmicos tales como las mitocondrias. Cuando se estimula el botón presináptico, el mediador que se encuentra en las vesículas, en este caso la acetilcolina (Fig. 3.1 Ac), es secretado por exocitosis en la hendidura sináptica (Fig. 3.1. HS). La hendidura sináptica tiene un espesor de 25 nm y separa los elementos presinápticos de los postsinápticos. La membrana postsináptica contiene los receptores (30 a 40 millones en una unión

neuromuscular) que fijan el mediador (Fig. 3.1 C pos). La formación del complejo mediador-receptor induce un cambio de configuración en el receptor que activa un canal iónico (Fig. 3.1 CNc y CNa), permitiendo la entrada de iones del sodio y la salida de iones de potasio.



**Figura 3.1. Sinapsis química.**

Ac: acetilcolina; B pre: botón presináptico; HS: hendidura sináptica; C pos: célula postsináptica; Ci c: canal iónicos cerrados; Ci a: canal iónicos abiertos; Mit: mitocondrias; Mic: microtúbulos.

Una enzima de la hendidura sináptica, la acetilcolina esterasa, hidroliza la acetilcolina no fijada a sus receptores. Esto desplaza el equilibrio de la reacción de asociación-disociación del mediador al receptor, provocando la liberación del mediador de su receptor. La destrucción del mediador que transmite la señal, como ocurre en este caso, no es un fenómeno general. En la mayoría de los casos, el complejo formado entre un mediador y su receptor es interiorizado por la célula, como se verá en el capítulo siguiente.

Algunas toxinas interfieren uniéndose al receptor de la acetilcolina. Es el caso de la abungarotoxina y de la tubocurarina. Estas toxinas entran en competencia con la acetilcolina por su receptor e inhiben la transmisión del influjo, induciendo una parálisis muscular. Otros venenos como algunos gases de combate impiden la inactivación de la acetilcolina al inhibir la acetilcolina esterasa.

En algunas sinapsis, los neurotransmisores actúan a través de segundos mensajeros intracelulares en lugar de afectar directamente el flujo de iones de canales controlados. Por ejemplo, la noradrenalina y la dopamina estimulan la adenilato ciclasa.

En ciertas partes del sistema nervioso las neuronas se comunican más rápidamente por uniones comunicantes. Este tipo de comunicación entre dos neuronas se llama **sinapsis eléctrica** para diferenciarla de las sinapsis químicas.

### **3.2.2. Comunicaciones intercelulares por uniones comunicantes**

La estructura y algunas características de las uniones comunicantes entre las células vecinas de algunos tejidos fueron descritas en el capítulo anterior (2.1.2.2.1). Desde el punto vista funcional, se trata de una comunicación metabólica y eléctrica entre células vecinas. Efectivamente, las moléculas de peso molecular de 1.000 daltons o menos pueden pasar rápidamente por uniones comunicantes de una célula a otra. Es decir que los iones inorgánicos como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , etc., los azúcares, los aas, los nucleótidos como AMPc, GMPc, etc. y las vitaminas se equilibran rápidamente sin ninguna restricción entre las células que tengan estas uniones. Pero las macromoléculas como proteínas, polisacáridos y ácidos nucleicos no pasan.

Se ha descrito que la formación de esas uniones comunicantes está regulada según las circunstancias; como los canales iónicos, pueden formarse o desorganizarse en algunos minutos. Además, cuando una célula es lesionada pierde rápidamente sus uniones comunicantes.

La función de estas estructuras es entonces comunicar las células vecinas, ya sea a nivel de estructuras especializadas como las sinapsis eléctricas, o ya sea de manera general para permitir el pasaje de metabolitos o de mensajeros. El intercambio de mensajeros hace que las uniones comunicantes tengan una función de regulación, que puede ser particularmente importante para el control del crecimiento y de la diferenciación de grupos de células, durante el desarrollo embrionario.

Este tipo de comunicación entre las neuronas funciona como una sinapsis eléctrica, entre las células musculares del corazón sincroniza la contracción, entre las células de músculo liso del intestino sincroniza el movimiento peristáltico y entre las células epiteliales. La comunicación metabólica entre las células del embrión, antes de que se forme la circulación sanguínea, es un factor indispensable para la distribución de nutrientes y la eliminación de moléculas como  $\text{CO}_2$ , urea, etc. Un caso particular es la existencia de estas comunicaciones entre las células de la granulosa y el oocito permitiendo la nutrición de este último, a veces durante muchos años, y su maduración desde el folículo primario hasta el folículo maduro de Graff.

Los osteocitos tienen uniones comunicantes más permanentes a nivel de sus prolongaciones dentro de los canalículos óseos. De esta manera todos los osteocitos dentro de la matriz ósea mineralizada pueden comunicarse.

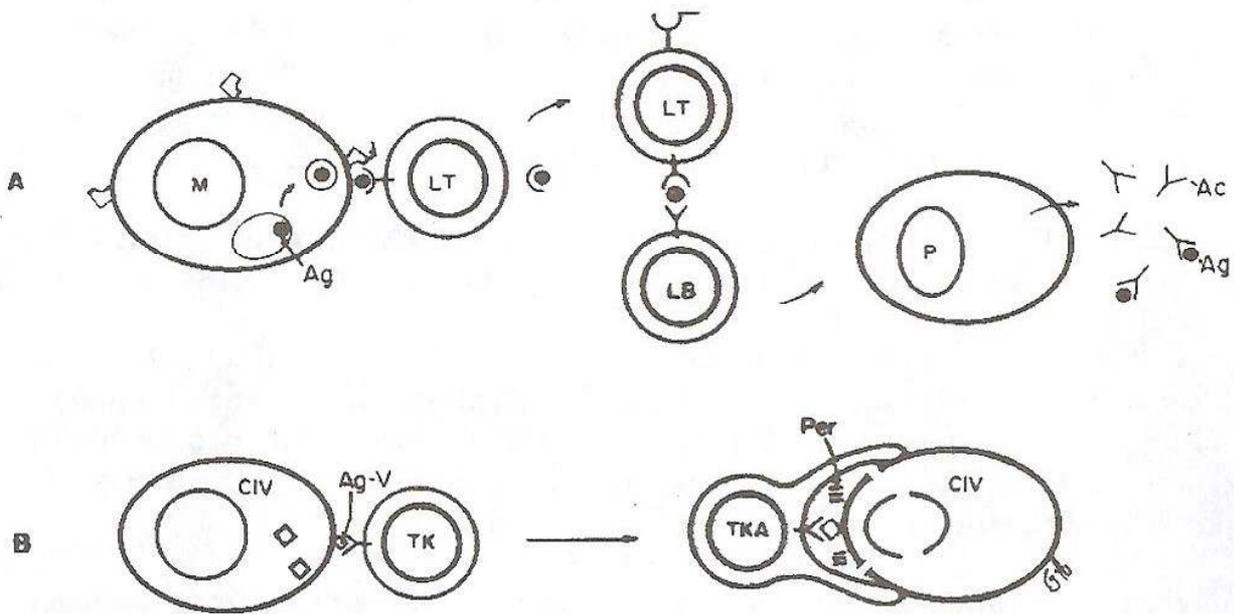
En cultivo, las uniones comunicantes pueden formarse entre células de vertebrados de diferentes especies, aunque la síntesis protéica sea bloqueada, lo que significa que las proteínas que intervienen en su formación son iguales o muy similares entre los vertebrados, y no se requiere su síntesis para la reformación de la unión.

### 3.2.3. Comunicaciones intercelulares por contacto directo de moléculas ligadas a la membrana plasmática

Poco se conoce sobre las comunicaciones intercelulares por interacción directa de las moléculas unidas a la superficie de las células, debido a la dificultad de solubilizarlas y purificarlas. Además, si se observa que una célula afecta a otra que está en contacto, hay que excluir las comunicaciones por uniones comunicantes o por la secreción de un mediador de acción paracrina.

Existen argumentos indirectos en unos casos y directos en otros de la existencia de una comunicación por moléculas ligadas a la membrana plasmática entre dos células. Un argumento indirecto es el hecho que muchos agentes patógenos infectan de manera selectiva únicamente algunos tipos celulares y no otros. Se supone que las células de un determinado tejido tienen receptores específicos para algunas moléculas de la membrana del agente infeccioso. Otros argumentos provienen de las interacciones entre las células del sistema inmunitario para la activación de linfocitos B y T contra los antígenos específicos (Fig. 3.2). La figura 3.2. A muestra la activación de un linfocito B contra un antígeno de una bacteria. Cuando una bacteria entra al medio interior de un organismo, normalmente los macrófagos la fagocitan y la destruyen. Al mismo tiempo, el macrófago inserta una o varias de las proteínas extrañas de la bacteria (antígenos) en su membrana (Fig. 3.2 M). El linfocito T ayudante reconoce con sus receptores este antígeno extraño presentado por el macrófago y se activa (Fig. 3.2 LT). El linfocito T ayudante activado interactúa luego directamente con un linfocito B y le induce a proliferarse y diferenciarse en plasmocitos. Cada plasmocito sintetiza y secreta únicamente el anticuerpo dirigido contra el antígeno de la bacteria presentado por el macrófago (Fig. 3.2 P). Además, algunos linfocitos B activados de esta manera se convierten en linfocitos B de memoria que responderán más rápidamente en un encuentro futuro con el mismo antígeno.

Los linfocitos T citotóxicos (*killer* o asesinos) destruyen las células infectadas por unos virus. La activación de linfocitos T citotóxicos contra una célula que presenta un antígeno viral se hace de manera similar a la activación de un linfocito B (Fig. 3.2 B). La célula infectada por un virus presenta proteínas antigénicas virales sobre su superficie. El linfocito T citotóxico entra en contacto directo con la célula infectada por el virus y se activa, es decir que prolifera y madura para matar las células que presentan el antígeno inicial (Fig. 3.2 TK).



**Figura 3.2. Comunicación intercelular por contacto directo de moléculas ligadas a la membrana plasmática.**

A. Activación de un linfocito B. El macrófago (M) presenta el antígeno bacteriano (Ag) al linfocito T ayudante (LT). El linfocito T ayudante estimulado activa un linfocito B (LB) que se diferencia en un plasmocito (P).

B. Activación de un linfocito T citotóxico o *killer* (TK) por la presencia de un antígeno viral (Ag-V) en la membrana de una célula infectada por virus (CIV). El linfocito T citotóxico activado (TKA) destruye la célula infectada por virus por contacto directo, secretando perforinas (Per) que crean un orificio en la membrana de la célula infectada.

Ac: anticuerpo.

El mecanismo de la destrucción de células infectadas por un virus por los linfocitos T citotóxicos activados es una de las mejores demostraciones de una comunicación por contacto directo de moléculas ligadas a la membrana plasmática (aunque sea para matar). Efectivamente, se visualizó *in vitro* que cuando el linfocito T citotóxico activado y la célula infectada se ponen en estrecho contacto, el citoesqueleto, el aparato de Golgi y los gránulos de secreción del linfocito se orientan hacia el lugar de contacto, y las proteínas llamadas **perforinas** son excitadas únicamente en esta área (Fig. 3.2. Per). Los monómeros de perforina entran en la membrana plasmática de la célula diana donde se polimerizan y forman un orificio. La formación del orificio anula la permeabilidad selectiva de la membrana matando así la célula. Se observó también *in vitro* que un sólo linfocito T citotóxico activado destruye muchas células dianas individualmente sin que se dañe el mismo. Es por esto que estas células se conocen también como linfocitos T asesinos.

### 3.2.4. Comunicaciones intercelulares mediadas por la matriz extracelular

En el anterior capítulo se dijo que las interacciones mediadas por integrinas y los PG de la membrana plasmática entre la matriz extracelular y el citoesqueleto afectan la orientación de las células en la matriz y de la matriz en un tejido. Es decir que las integrinas y los PG comunican la matriz extracelular y el citoesqueleto a través de la membrana plasmática.

La matriz extracelular puede, en principio, propagar una señal de una célula a la otra. Ésto ocurre durante la formación de tejidos orientados con cierta regularidad como el tejido conectivo denso regular de los tendones, la osificación endocondral o de osteones, etc. En estos casos, la célula afecta la orientación de las fibras de la matriz extracelular y esta matriz orientada afecta a su vez a otras células en su diferenciación y su orientación en el tejido, creándose así un tejido con una orientación regular.

## 3.3. MECANISMOS DE COMUNICACIONES INTERCELULARES

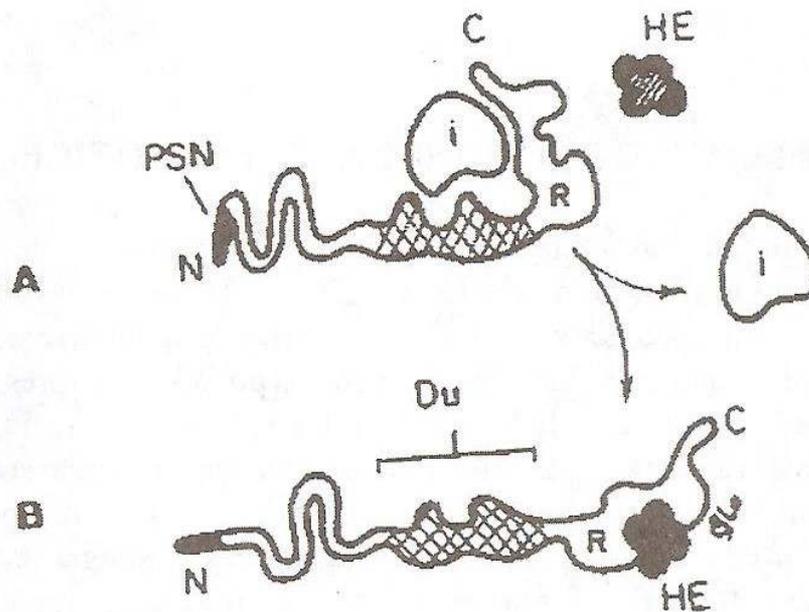
Se han considerado hasta este punto algunos principios generales y las modalidades de las comunicaciones intercelulares. En esta sección se describe cómo una célula responde a un mediador, o sea el mecanismo de **transducción** celular. Ya se ha mencionado que la transducción está mediada por los receptores intracelulares y por los que se encuentran en la superficie celular. Aunque se han realizado muchos descubrimientos durante las últimas décadas en esta área, queda todavía mucho por ser precisado en los mecanismos de transducción. En muy pocos casos la respuesta celular es inducida por un solo mediador, en general, la célula recibe múltiples señales al mismo tiempo, y su respuesta resulta de una integración de las informaciones traídas por las señales. Aunque muchos mecanismos de transducción ocurren al mismo tiempo, se describen separadamente para facilitar su comprensión.

### 3.3.1. Transducción por receptores intracelulares

Las hormonas esteroides, las hormonas tiroideas, los retinoides, la vitamina D y la hormona *ecdysone* se unen a receptores intracelulares. Los receptores intracelulares son, en general, proteínas reguladoras de genes. Es decir que esos receptores unidos a sus mediadores se unen al ADN y regulan la transcripción de genes específicos. Las hormonas esteroides, como el cortisol, la corticosterona, la aldosterona, la testosterona, el estrógeno, la progesterona y la vitamina D, tienen sus receptores en el citosol. La unión de la hormona a su receptor activa el receptor provocando un cambio alostérico en su conformación que aumenta su habilidad para unirse al ADN. Así, el complejo hormona-receptor viaja al núcleo donde

se une al ADN y regula (activa o inhibe) la transcripción de genes específicos. Una célula diana típica tiene unos 10.000 receptores. Todos los receptores intracelulares son estructuralmente similares y constituyen la superfamilia de receptores intracelulares o la superfamilia de receptores de hormonas esteroides.

En la figura 3.3 se esquematiza la activación de un receptor por una hormona esteroide. El receptor en su estado inactivo se encuentra unido a un complejo proteico inhibitor (Fig. 3.3 i). La unión de la hormona esteroide (Fig. 3.3 HE) a su receptor disocia el complejo inhibitor e induce un cambio alostérico dejando libre el dominio de unión al ADN (Fig. 3.3 Du).



**Figura 3.3. Activación de un receptor intracelular por una hormona esteroide.**

A. Receptor inactivo por la unión del complejo inhibitor.

B. Receptor activado por la unión de la hormona esteroide.

N: extremo amino terminal del receptor; C: extremo carboxi terminal del receptor; i: complejo inhibitor; HE: hormona esteroide; Du: dominio de unión al ADN; PSN: péptido señal nuclear.

Los receptores de las hormonas esteroides tienen, en su extremo amino terminal, un péptido de señal nuclear (Fig. 3.3 PSN) que es reconocido por las proteínas de choque térmico 70 (hsp 70), las cuales transportan los receptores activados hasta el complejo del poro nuclear. Una vez dentro del núcleo, el complejo hormona-receptor se une al ADN para regular la transcripción de genes.

Los mediadores liposolubles tienen una vida media mucho más larga, del orden de horas o días, que los mediadores hidrosolubles. Es por esto que, en general, las hormonas liposolubles median las respuestas que duran mucho tiempo, mientras que las hormonas hidrosolubles median las respuestas que duran poco tiempo. En muchos de estos casos, la respuesta celular ocurre en dos etapas: la respuesta primaria es una inducción directa de la transcripción de un número pequeño de genes específicos en unos 30 minutos; los productos de estos genes a su vez activan otros genes y producen la respuesta secundaria. Los mecanismos de activación y desactivación de los genes se estudiarán en el capítulo 8.

No hay cooperatividad entre los receptores de los esteroides, pero una hormona esteroide puede unirse a varios receptores de otras hormonas esteroides pero con afinidades diferentes. Es decir que la especificidad no es absoluta, lo que explica muchas veces los efectos secundarios no deseados. Por ejemplo: el estrógeno se une a sus receptores con una  $K_a$  de  $10^{10}$  litros/mol y se une a los receptores de andrógenos con una  $K_a$  de  $3,3 \cdot 10^8$  litros/mol. Otro ejemplo la progesterona que además de unirse a sus receptores se une también a los receptores de los andrógenos, glucocorticoides o mineralocorticoides.

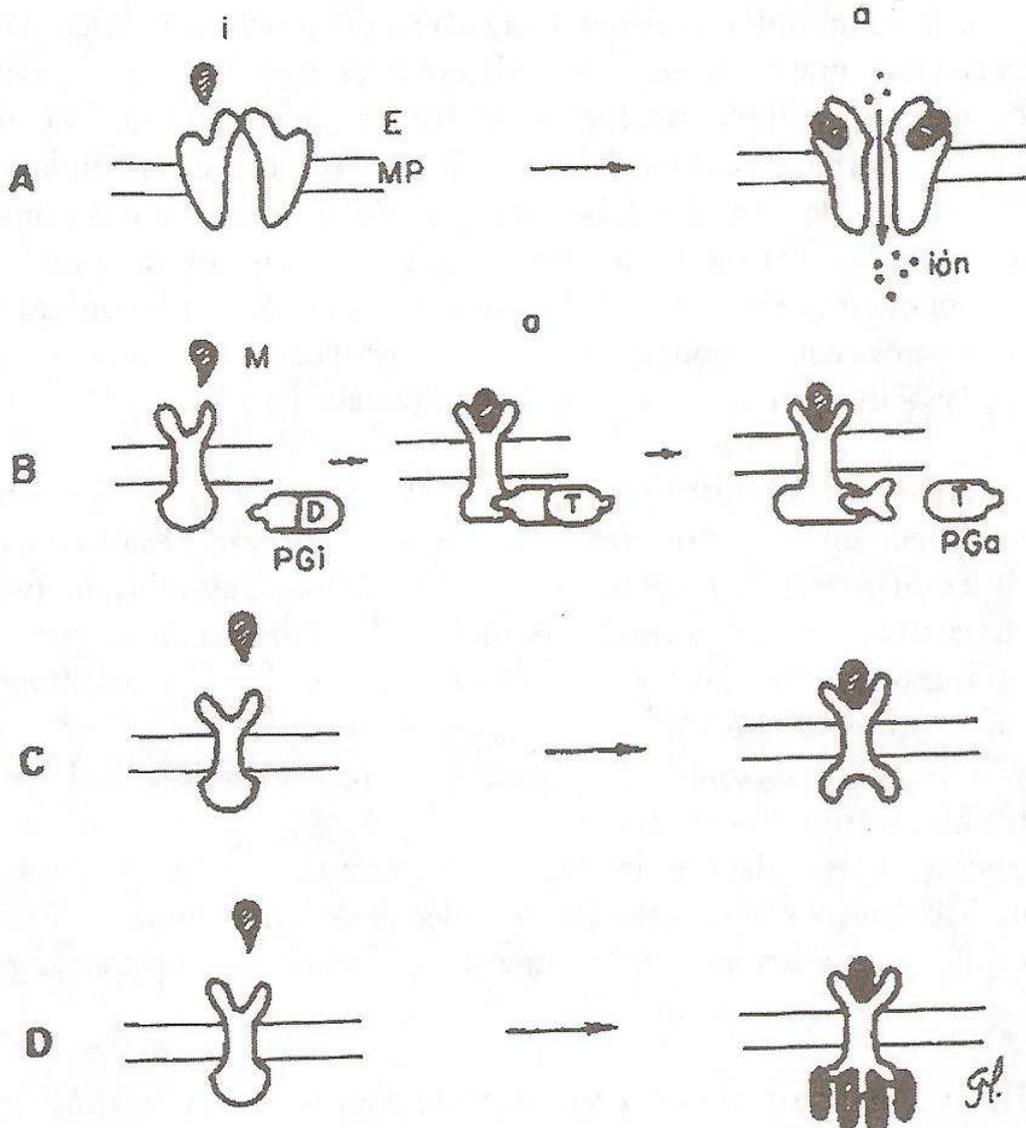
La respuesta a estas moléculas de señal está determinada más por la naturaleza de la célula diana que por la naturaleza de la molécula de señal. Aunque diferentes tipos de células tengan los receptores intracelulares idénticos, la gama de genes que el receptor activado regula es diferente.

### **3.3.2. Transducción por receptores de la membrana plasmática**

La gran mayoría de los mediadores químicos tienen sus receptores sobre la superficie de las células dianas como se mencionó anteriormente. Se ha comprobado que el número de receptores para un mediador determinado puede variar entre 500 a 100.000 por célula diana y la distribución puede ser difusa o localizada en una región específica de la membrana plasmática como en las células polarizadas morfológicamente.

Se pueden dividir en cinco clases los receptores de la membrana plasmática según el mecanismo de iniciación de la transducción (Fig. 3.4):

1. Los receptores que funcionan como canales iónicos.
2. Los receptores que activan una proteína G trimérica.
3. Los receptores que funcionan como enzimas o activan directamente a otras enzimas.
4. Los receptores que reclutan proteínas.
5. Otros tipos de receptores.



**Figura 3.4. Diferentes mecanismos de transducción por los receptores de la membrana plasmática.**

Los receptores inactivos (iA, iB, iC e iD) se activan cuando se unen a sus mediadores (aA, aB, aC y aD). El receptor activado induce:

A. la apertura de un canal iónico; B. la activación de una proteína G trimérica; C. la activación enzimática del receptor o de otras enzimas; y D. el reclutamiento de proteínas alrededor del receptor.

E: exterior de la célula; MP: Membrana plasmática; M: mediador; i: receptor inactivo; a: receptor activo; PGi; proteína G trimérica inactiva; PGa: proteína G trimérica activa.

### 3.3.2.1. Receptores que funcionan como canales iónicos

La estructura y la función de los canales iónicos se han descrito en la sección 2.1.2.1.4.

Los receptores que afectan directamente los canales iónicos son proteínas transmembranas de múltiples pasos y hacen parte de la estructura de los cana-

les. La unión de un mediador específico a este tipo de receptor abre transitoriamente el canal iónico específico permitiendo el paso de un ion o iones específicos (Fig. 3.4 A). Este mecanismo está involucrado principalmente en la señalización entre las células excitables eléctricamente. Un número pequeño de neurotransmisores interviene en este tipo de señalización donde cambian brevemente la permeabilidad de la membrana plasmática y en consecuencia el potencial de la membrana o la excitabilidad de la célula diana. El cambio en la polarización de la célula afecta sus funciones y eventualmente puede generar un potencial de acción o una hiperpolarización de la membrana celular.

Los canales iónicos pueden generar una respuesta de dos maneras. La primera es una inducción de un flujo pequeño de iones, como ocurre con los canales regulados por mediadores, que cambia un poco y transitoriamente el voltaje a través de la membrana plasmática. Este mecanismo opera principalmente en las células activas eléctricamente como las neuronas y las células musculares. Una disminución en el potencial de membrana por debajo de un cierto nivel (umbral) desencadena una despolarización explosiva de la membrana plasmática (potencial de acción). Esto se produce por la abertura de canales de  $\text{Na}^+$  regulados por el voltaje (Fig. 2.6 A), que son diferentes de los canales regulados por los mediadores (Fig. 2.6 B). Cuando el potencial de acción llega a la terminación nerviosa se abren los canales de  $\text{Ca}^{++}$  regulados también por el voltaje. En este caso, el  $\text{Ca}^{++}$  extracelular entra al botón terminal de la sinapsis donde actúa como un segundo mensajero para iniciar la secreción de neurotransmisores como la acetilcolina y la noradrenalina.

La segunda acción de los canales iónicos puede ser una inducción de un mayor flujo de iones hacia el citosol, que a su turno inicia la respuesta intracelular. Muchas células animales, que no son activas eléctricamente, tienen en la membrana plasmática receptores relacionados funcionalmente con canales de  $\text{Ca}^{++}$ . La unión del mediador a su receptor tiene como efecto abrir los canales de  $\text{Ca}^{++}$  permitiendo la entrada masiva del  $\text{Ca}^{++}$  extracelular dentro del citosol, donde funciona como un segundo mensajero. Este aumento de la concentración intracelular de calcio libre activa otras moléculas efectoras (la calmodulina, la proteína quinasa C, etc.) e interviene en los procesos como la secreción por exocitosis y la contracción muscular. En estos casos, la abertura de los canales iónicos está mediada por los receptores que se unen a una proteína G trimérica cuyo mecanismo se verá en la siguiente sección.

### **3.3.2.2. Receptores que activan una proteína G trimérica**

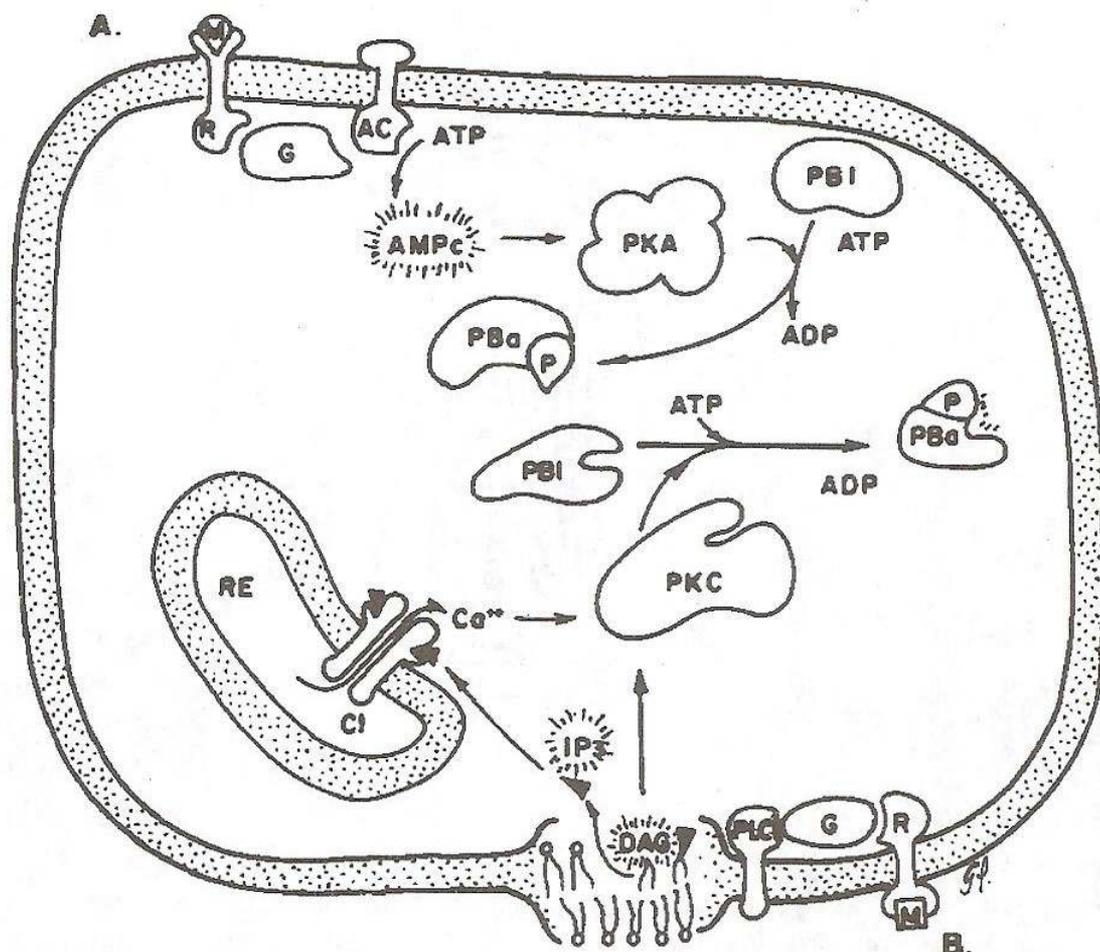
Este mecanismo de transducción es utilizado por un gran número de receptores. Por la tecnología del ADN recombinante ya han sido caracterizados y secuenciados en los mamíferos más de 10 receptores diferentes. Estos receptores intervienen en las respuestas celulares de una gran diversidad de moléculas mediadoras.

Los receptores de esta familia, cuando son activados por su unión a sus mediadores, se unen a una proteína G trimérica (*trimeric GTP-binding regulatory protein*) (Fig. 3.4 B) y la activan (Fig. 3.4 B PGa). La proteína se denomina trimérica porque está constituida por tres subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . La respuesta celular dependerá de las acciones posteriores de la proteína G trimérica específica activada según el receptor y según la célula diana. Además, el mismo mediador puede activar diferentes receptores de la misma familia. Por ejemplo, la adrenalina activa al menos nueve receptores distintos de esta familia, la acetilcolina otros cinco o más, y la serotonina al menos quince.

La unión de un mediador extracelular a su receptor induce un cambio en la conformación del receptor permitiendo su asociación a una proteína G trimérica para activarla (Fig. 3.4 B). La activación de una proteína G trimérica se realiza por su unión a una molécula de GTP catalizada por el receptor y la liberación de la molécula de GDP. La proteína G trimérica activada ejerce sus funciones regulando la actividad de otras proteínas que pueden ser canales iónicos o enzimas. La inactivación de la proteína G trimérica ocurre cuando ella misma hidroliza su GTP convirtiéndolo en GDP, ésto significa que la proteína G trimérica tiene una actividad GTPásica.

La mayoría de los receptores que se unen a las proteínas G triméricas activan una cadena de eventos que alteran la concentración de una o más moléculas de señales intracelulares. Esas pequeñas moléculas, a menudo llamadas mediadores intracelulares (mensajeros intracelulares o segundos mensajeros), a su turno transmiten la señal cambiando el comportamiento de proteínas específicas induciendo de esta manera la respuesta celular. Una de las enzimas activadas por una proteína G trimérica activada es la adenilato ciclasa (Fig. 3.5 A) que produce el AMPc. Otra enzima activada por otra proteína G trimérica es la fosfolipasa C que produce el inositol trifosfato (IP3) y el diacilglicerol (DAG) (Fig. 3.5 B). El AMPc, el IP3 y el DAG son los mediadores intracelulares principales que intervienen en muchos procesos metabólicos activando proteínas quinasas que a su vez fosforilan otras proteínas que culminan con la respuesta celular a la señal extracelular. La figura 3.5 muestra estas dos vías de transducción mediadas por proteínas G triméricas activadas.

Los receptores que activan las proteínas G triméricas y estimulan la adenilato ciclasa pertenecen a una gran superfamilia de proteínas homólogas, porque tienen una estructura muy similar y relacionada evolutivamente. Estos receptores están constituidos por una sola cadena polipeptídica que atraviesa siete veces la membrana plasmática (Fig. 3.6). El receptor tiene un dominio extracelular globular que se une a su mediador específico, y un dominio intracelular que se une a una proteína G trimérica también específica. El receptor, en su extremo citosólico, tiene 3 secuencias de fosforilación específicas, cuando son fosforiladas se inactiva el receptor y no se puede unir a la proteína G trimérica.



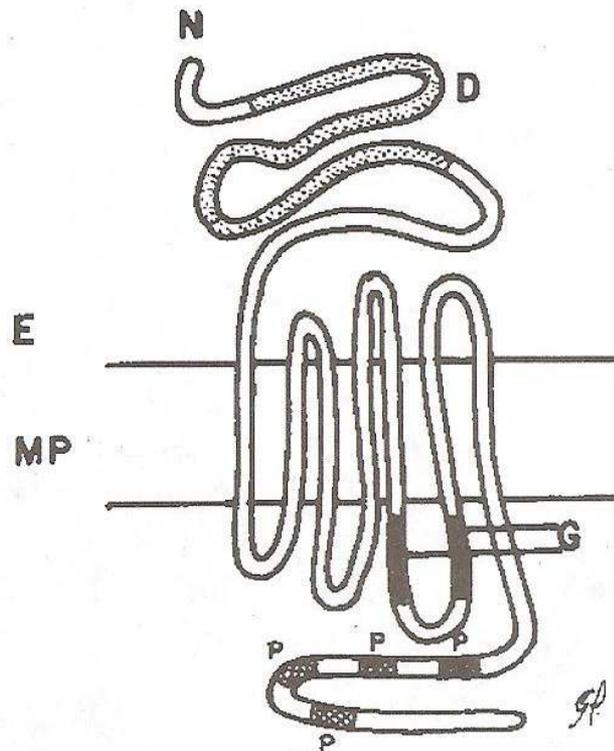
**Figura 3.5. Mecanismos de transducción por receptores que activan las proteínas G triméricas.**

La unión del mediador (M) al receptor (R) activa una proteína G trimérica (G).

A. La proteína G trimérica activa la adenilato ciclasa (AC) formando el AMPc que activa las proteínas quinasas AMPc dependientes (PKA).

B. La proteína G trimérica activa la fosfolipasa C (PLC) que forma el inositol trifosfato (IP<sub>3</sub>) y el diacilglicerol (DAG). El IP<sub>3</sub> abre los canales de Ca<sup>++</sup> del retículo endoplásmico (RE). El Ca<sup>++</sup> y el DAG activan las proteínas quinasas calcio dependientes (PKC). Las proteínas quinasas inducen la respuesta celular a través de la fosforilación de otras proteínas específicas. AMPc: adenosín monofosfato cíclico; ATP: adenosín trifosfato; P: fosfato; PBI: proteína blanco inactiva; PBa: proteína blanco activa; CI: canal iónico del RE; Ca<sup>++</sup>: iones de calcio.

Las proteínas G triméricas descritas son diferentes de las proteínas monoméricas que se unen también al GTP, llamadas proteínas G monoméricas. Las proteínas G monoméricas se encuentran en el citosol e intervienen en varios procesos de control en las células eucarióticas, se activan también por su unión al GTP y se inactivan de la misma manera que las triméricas, o sea por la hidrólisis del GTP en GDP. Las proteínas de la familia *ras* son proteínas G monoméricas que se activan por proteínas quinasas cuya activación es controlada por otra vía de transducción celular que se describe en la sección siguiente.



**Figura 3.6. Esquema general de la familia de receptores que se unen a la proteína G trimérica y activan la adenilato ciclasa (Alberts y col., 1994).**

E: exterior; MP: membrana plasmática; D: dominio que se une al mediador extracelular; G: dominio que se une a una proteína G trimérica; P: secuencias que pueden ser fosforiladas; N: extremo amino terminal del receptor; C: extremo carboxi terminal del receptor .

El AMPc y el  $\text{Ca}^{++}$ , producidos por el mecanismo de transducción que se está describiendo, son los dos mediadores intracelulares más utilizados por las células (Fig. 3.5). El AMPc activa las proteínas quinasas A (Fig. 3.5 PKA) y el  $\text{Ca}^{++}$  las proteínas quinasas C (Fig. 3.5 PKC). Estas dos clases de proteínas quinasas fosforilan a su vez otras proteínas activando o inhibiendo sus funciones.

### 3.3.2.2.1. AMPc

El AMPc (adenosín monofosfato cíclico) se sintetiza a partir del ATP por la enzima adenilato ciclasa, ligada a la membrana plasmática, y se destruye rápidamente por la AMPc fosfodiesterasa. El AMPc regula las reacciones intracelulares de todas las células procarióticas y eucarióticas estudiadas. Pero, la existencia de células sin AMPc (por mutaciones), muestra también que su presencia no es indispensable para la supervivencia y la división de estas células. Su concentración intracelular es de  $10^{-7}$  M o menor, y esta concentración puede variar 5 veces en segundos por cambios en la actividad de la adenilato ciclasa.

Cada tipo celular responde de una manera característica al aumento de la concentración intracelular del AMPc. Las siguientes hormonas estimulan sus células

diana por medio de la adenilato ciclasa: ACTH, TSH, LH, FSH, vasopresina, glucagón, parathormona, dopamina (receptores D1), la adrenalina (receptores  $\beta_1$ , y  $\beta_2$ ). La tabla 3.1 muestra algunas respuestas celulares inducidas por las hormonas que aumentan la concentración del AMPc.

**Tabla 3.1. Respuestas celulares por el aumento del AMPc inducido por algunas hormonas.**

Células diana	Hormona	Respuesta celular
Glándula tiroides	Hormona estimulante de la tiroides (TSH)	Síntesis y secreción de las hormonas tiroides (T3 y T4)
Corticosuprarrenal	Hormona estimulante de la corticosuprarrenal (ACTH)	Secreción de cortisol
Ovario	Hormona luteizante (LH)	Secreción de progesterona
Músculo	Adrenalina	Glicogenolisis
Hueso	Parathormona	Reabsorción del hueso
Corazón	Adrenalina	Incrementa la rata cardiaca y la fuerza de contracción
Hígado	Glucagón	Glicogenolisis
Riñón	Vasopresina	Reabsorción del agua
Adipocitos	Adrenalina, ACTH, Glucagón, y TSH	Degradación de triglicéridos

Existen también hormonas que inhiben la adenilato ciclasa como la somatostatina, la melatonina, la adenosina, la dopamina (receptores D2), la adrenalina (receptores  $\alpha_2$ ). Muchas moléculas de señal extracelular actúan controlando la concentración de AMPc activando o inhibiendo la actividad de la adenilato ciclasa. Este control aparentemente antagónico se debe a la existencia de proteínas G triméricas estimuladoras o inhibidoras, que son activadas por el receptor, que culminan con la estimulación o inhibición de la adenilato ciclasa. Estas proteínas G triméricas se denominan, en el primer caso, **proteína G trimérica estimuladora** (Gs) y en el segundo caso, **proteína G trimérica inhibidora** (Gi).

Hay una gran variedad de proteínas G triméricas con localizaciones y funciones diferentes (Tabla 3.2). La clasificación de las proteínas G triméricas se basa en las secuencias de los aminoácidos de la subunidad  $\alpha$ . En los mamíferos se han descrito aproximadamente 20 subunidades  $\alpha$ , al menos 4  $\beta$  y 7  $\gamma$ .

**Tabla 3.2. Principales familias de proteínas G triméricas.**

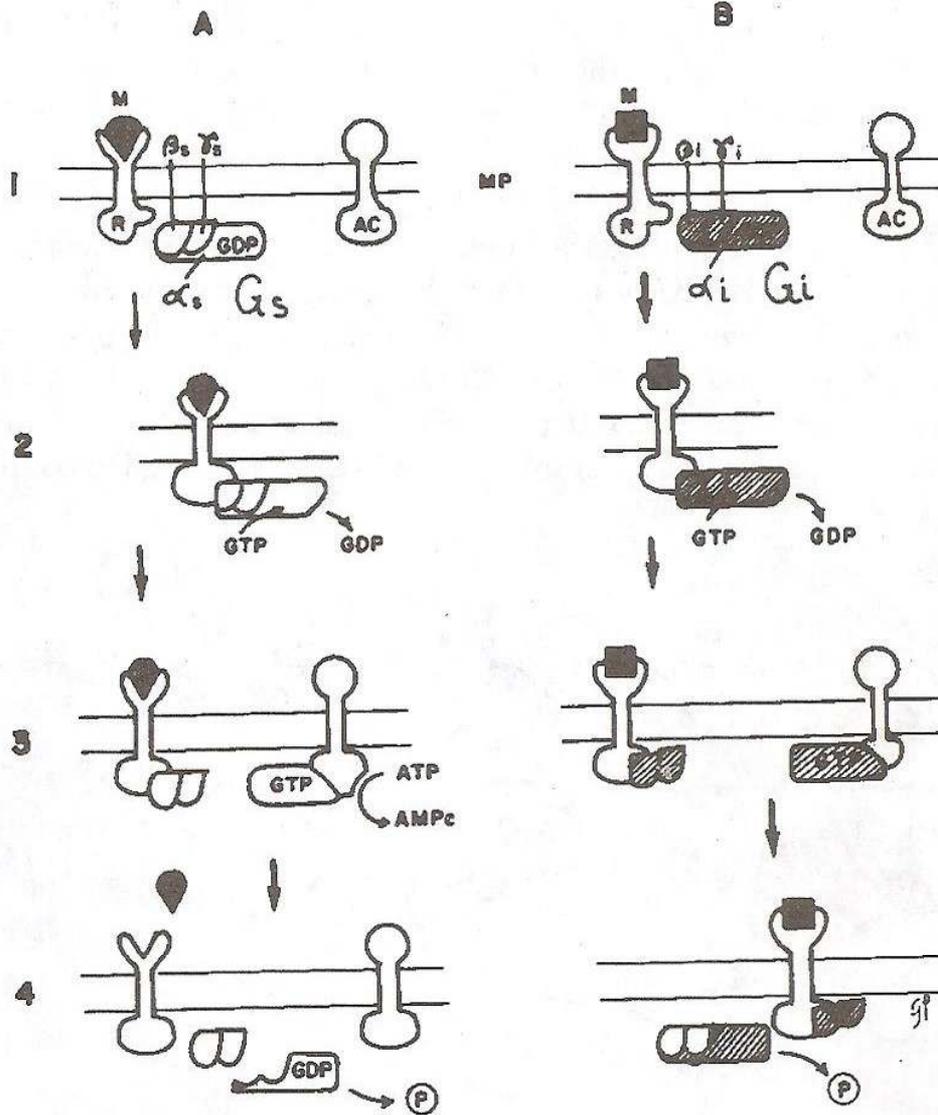
Familia	Algunos Miembros	subunidad $\alpha$	Funciones
I	Gs	$\alpha_s$	Activa la adenilato ciclasa Activa los canales de $Ca^{++}$
	Golf	$\alpha_{olf}$	Activa la adenilato ciclasa en las neuronas olfativas
II	Gi	$\alpha_i$	Inhibe la adenilato ciclasa Activa los canales de $K^+$
	Go	$\alpha_o$	Activa los canales de $K^+$ Inactiva los canales de $Ca^{++}$
	Gt (Transducina)	$\alpha_t$	Activa la fosfodiesterasa y el GMPC en fotorreceptores de los bastones en vertebrados
III	Gq	$\alpha_q$	Activa la fosfolipasa C

La misma molécula de señal puede aumentar o disminuir la concentración del AMPc dependiendo del tipo de receptor al que se une. Por ejemplo, cuando la adrenalina se une a los receptores  $\beta$ -adrenérgicos activa la adenilato ciclasa por la activación de una proteína Gs (Fig. 3.7 A), y cuando se une a los receptores  $\alpha$ -2-adrenérgicos la inhibe por activación de una Gi (Fig. 3.7 B).

El receptor estimulado por un mediador se une a la proteína Gs cuya subunidad  $\alpha_s$  intercambia el GDP por GTP (Fig. 3.7 A2). La subunidad  $\alpha_s$  activada se separa de las subunidades  $\beta$ - $\gamma$ s y se une a la adenilato ciclasa y la activa para catalizar la formación del AMPc (Fig. 3.7 A3). Al hidrolizar rápidamente el GTP en GDP y fosfato la subunidad  $\alpha_s$  se inactiva (Fig. 3.7 A4) y la adenilato ciclasa también. La subunidad  $\alpha_s$  inactivada se une al dímero  $\beta$ - $\gamma$ s para esperar un nuevo estímulo.

La inhibición de la formación del AMPc por la proteína Gi se puede producir de dos maneras: primero, la subunidad  $\alpha_i$  activada por la unión de la proteína Gi al receptor (Fig. 3.7 B2) se une directamente a la adenilato ciclasa impidiendo la formación del AMPc (Fig. 3.7 B3); segundo, la subunidad  $\alpha_i$  al hidrolizar su GTP puede unirse al dímero  $\beta$ - $\gamma$ s, impidiendo su unión a la subunidad  $\alpha_s$  (Fig. 3.7 B4) y así impide la activación de la adenilato ciclasa.

La toxina del cólera inhibe la hidrólisis del GTP unido a las proteínas Gs, dejando activada la adenilato ciclasa indefinidamente. El aumento en la concentración del AMPc intracelular causa una salida exagerada de  $Na^+$  y agua de las células epiteliales del intestino hacia su luz, provocando una diarrea severa.



**Figura 3.7. Activación de las proteína Gs trimérica (A1, A2, A3 y A4) y proteína Gi trimérica (B1, B2, B3 y B4).**

A1. Unión del mediador al receptor que estimulará una proteína Gs.

A2. Unión de la proteína Gs al receptor e intercambio del GDP por GTP que activa la subunidad  $\alpha_s$ .

A3. La subunidad  $\alpha_s$  activa la adenilato ciclasa quien cataliza la formación del AMPc.

A4. La subunidad  $\alpha_s$  se inactiva hidrolizando el GTP; la subunidad  $\alpha_s$  inactivada puede unirse de nuevo a las subunidades  $\beta_s$ - $\gamma_s$ .

B1. Unión del mediador al receptor que estimula una proteína Gi.

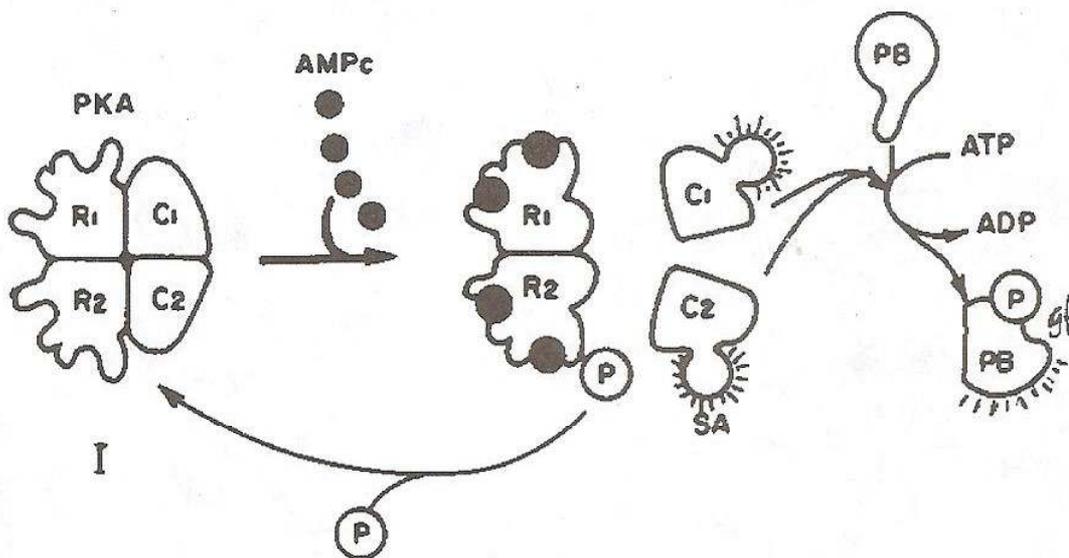
B2. Unión de la proteína Gi al receptor e intercambio del GDP por GTP que activa la subunidad  $\alpha_i$ .

B3. La subunidad  $\alpha_i$  se une a la adenilato ciclasa impidiendo la formación de AMPc.

B4. La subunidad  $\alpha_i$  se inactiva hidrolizando el GTP y se une a las subunidades  $\beta_s$ - $\gamma_s$  impidiendo la unión de ellos con la subunidad  $\alpha_s$ . La subunidad  $\alpha_i$  puede unirse al dímero  $\beta_i$ - $\gamma_i$  (no se muestra en el esquema).

M: mediador; R: receptor; Gs: proteína G trimérica estimuladora de la adenilato ciclasa; Gi: proteína G trimérica inhibidora de la adenilato ciclasa;  $\beta_s$ ,  $\gamma_s$  y  $\alpha_s$  subunidades de la proteína Gs;  $\beta_i$ ,  $\gamma_i$  y  $\alpha_i$ : subunidades de la proteína Gi; AC: adenilato ciclasa; GTP: guanósín trifosfato; GDP: guanósín difosfato; AMPc: adenosín monofosfato cíclico; ATP: adenosín trifosfato; P: fosfato.

El AMPc ejerce su acción por la activación de enzimas específicas llamadas proteínas quinasas AMPc dependientes (PKA o quinasas) que catalizan la transferencia de un grupo fosfato del ATP a los residuos de serina o treonina de proteínas blanco (Fig. 3.5 A PKA). Los dos tipos de PKA conocidas están constituidas por cuatro subunidades: dos reguladoras (Fig. 3.8 R1 y R2) y dos catalíticas (Fig. 3.8 C1 y C2). Cuando dos o más moléculas de AMPc se unen a las subunidades reguladoras se disocia la PKA y las subunidades catalíticas se activan y pueden fosforilar las proteínas blanco (Fig. 3.8 PB). La fosforilación de las proteínas afecta a su vez la actividad de estas proteínas (activación o inhibición). Las PKA se han encontrado en todas las células animales pero sus substratos difieren según el tipo celular, lo que explica el efecto tan amplio y variado del AMPc según la célula diana.



**Figura 3.8. Activación de una proteína quinasa AMPc dependiente (PKA).**

La unión de las moléculas del AMPc a las subunidades reguladoras activa las subunidades catalíticas de la PKA que fosforilan proteínas específicas.

PKA: proteína quinasa AMPc dependiente; R1 y R2: subunidades reguladoras de la PKA; C1 y C2: subunidades catalíticas de la PKA; AMPc: adenosín monofosfato cíclico; P: fosfato; SA: sitio catalítico de las subunidades C; ATP: adenosín trifosfato; PB: proteína blanco; ADP: adenosín difosfato.

Los efectos del AMPc son transitorios debido a las acciones de enzimas, llamadas fosfoproteínas serina/treonina fosfatasas (PS/TP), que defosforilan las proteínas fosforiladas por las PKA.

En algunos tipos de células, como en las fotosensibles de la retina, el GMPc reemplaza como segundo mensajero al AMPc. Además, la guanilato ciclasa no está siempre unida a la membrana. Generalmente, la concentración intracelular del GMPc es al menos 10 veces más baja que la del AMPc. El GMPc activa proteínas quinasas GMPc dependientes (PKG o quinasas G).

### 3.3.2.2.2. Calcio como segundo y tercer mensajero

Las proteínas G triméricas activadas por algunos receptores abren los canales de  $\text{Ca}^{++}$  aumentando considerablemente la concentración intracelular de iones de calcio libre. El  $\text{Ca}^{++}$  es también un mediador intracelular importante cuya concentración libre intracelular puede ser aumentada al menos por tres mecanismos diferentes:

1. Por la abertura de canales de  $\text{Ca}^{++}$  de la membrana plasmática controlados por voltaje. Esos tipos de canales de  $\text{Ca}^{++}$  se encuentran en las terminaciones nerviosas donde inducen la secreción de neurotransmisores y en las células musculares esqueléticas donde participan en su contracción.
2. Por la abertura de canales de  $\text{Ca}^{++}$  de la membrana plasmática activados directamente por mediadores o indirectamente por una proteína G trimérica.
3. Por la liberación del  $\text{Ca}^{++}$  intracelular almacenado en el Retículo Endoplásmico.

El  $\text{Ca}^{++}$  es aún más utilizado como mediador intracelular que el AMPc en las células. La concentración del  $\text{Ca}^{++}$  libre en el citosol de cualquier célula es muy baja, menor o igual a  $10^{-7}$  M, mientras que su concentración extracelular o dentro del RE es igual o mayor a  $10^{-3}$  M. Debido a este gran gradiente de concentración, cuando se abren los canales de  $\text{Ca}^{++}$  de la membrana plasmática o del RE, la concentración citosólica del  $\text{Ca}^{++}$  libre aumenta dramáticamente activando las proteínas específicas.

La célula tiene varios mecanismos para restaurar la concentración normal del calcio después de su aumento. Todas las células eucarióticas tienen en su membrana plasmática una bomba  $\text{Ca}^{++}$ -ATPasa que saca el calcio hacia el exterior de la célula. Las células musculares y nerviosas tienen una bomba adicional que acopla la salida de  $\text{Ca}^{++}$  y la entrada de  $\text{Na}^{+}$ , que se activa cuando la concentración de calcio en el citosol aumenta alrededor de 10 veces más. Otra bomba de calcio se encuentra en la membrana del RE que es una  $\text{Ca}^{++}$ -ATPasa muy activa.

Con la intervención de mediadores extracelulares la concentración de calcio en el citosol no aumenta más de  $5 \cdot 10^{-6}$  M, pero, si aumenta más en el citosol, se produce un daño en la célula. Cuando la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  pasa de  $10^{-5}$  M, la célula tiene otro mecanismo de recaptación del calcio citosólico que entra en acción y evita el daño celular. Este mecanismo de "rescate" concentra el calcio libre citosólico dentro de la matriz mitocondrial transportándolo por el mecanismo de cotransporte a través de las permeasas de protones de la membrana interna de las mitocondrias.

El calcio no solamente interviene como mediador intracelular en las terminaciones nerviosas y en los músculos esqueléticos, sino en todas las células eucarióticas donde la unión del mediador extracelular al receptor de superficie celular induce la liberación de  $\text{Ca}^{++}$  del RE. Esta abertura de canales de  $\text{Ca}^{++}$  del RE es contro-

lada por otro mediador intracelular, el **inositol trifosfato (IP3)** (Fig. 3.5 IP3). Efectivamente, muchas hormonas y neurotransmisores, cuando se unen a su receptor de membrana, activan la proteína Gq trimérica, que activa la fosfolipasa C (PLC) de la membrana plasmática. La PLC hidroliza el fosfolípido fosfatidil inositolbifosfato (IPI2) y produce el IP3 y el **diacilglicerol (DAG)**, otro mediador intracelular. El IP3 abre los canales de  $Ca^{++}$  del RE liberando así el calcio concentrado del RE al citosol (Fig. 3.5  $Ca^{++}$ ). En este caso, el  $Ca^{++}$  se considera como un tercer mensajero, siendo el mediador extracelular el primer mensajero y el IP3 el segundo mensajero. Más de 25 receptores de superficie celular utilizan esta vía de transducción. Algunos ejemplos de ellos se muestran en la tabla 3.3.

**Tabla 3.3. Algunas respuestas celulares mediadas por la proteína Gq trimérica.**

Células diana	Mediador	Respuesta celular
Hepatocitos	Vasopresina	Glicogenolisis
Acinos pancreáticos	Acetilcolina	Secreción de amilasa
Músculo liso	Acetilcolina	Contracción
Mastocitos	Antígeno	Secreción de histamina
Plaquetas	Trombina	Agregación plaquetaria

Se descubrió inicialmente que el calcio activa un grupo de proteínas quinasas serina/treonina específicas que denominaron **proteínas quinasas C (PKC o quinasa C)** que fosforila la serina o la treonina de proteínas específicas en la célula diana. Más tarde se dieron cuenta que el DAG activa también algunas proteínas quinasas estructuralmente y funcionalmente similares a las PKC. Estas últimas, aunque no son activadas por el calcio, se clasifican dentro del grupo de PKC debido a su estructura isoforma. Dentro de una docena de PKC distintas (isoformas) en mamíferos, al menos 4 son activadas únicamente por el DAG. En muchas células, la activación de las PKC aumenta la transcripción de genes específicos e intervienen en la proliferación celular normal o cancerosa (Ver capítulos 9 y 10).

La acción del IP3 puede mimetizarse utilizando un ionóforo conocido como A23187 o la ionomicina que aumentan la permeabilidad de la membrana plasmática al  $Ca^{++}$ , permitiendo la entrada de cantidades mayores de calcio hacia el interior de la célula. Mientras que la acción del DAG se puede mimetizar utilizando ésteres de forbol (son promotores de cancerización) que se unen a las PKC y las activan directamente.

Los siguientes mediadores intervienen indirectamente en la hidrólisis del fosfatidilinositol bifosfato, produciendo IP3 y DAG: ACTH y angiotensina en la

corticosuprarrenal, vasopresina, TRH, LHRH, histamina, bradiquinina, serotonina, adrenalina (receptores  $\alpha$ -1), PDGF, bombesina, y acetilcolina en el músculo liso y el cerebro.

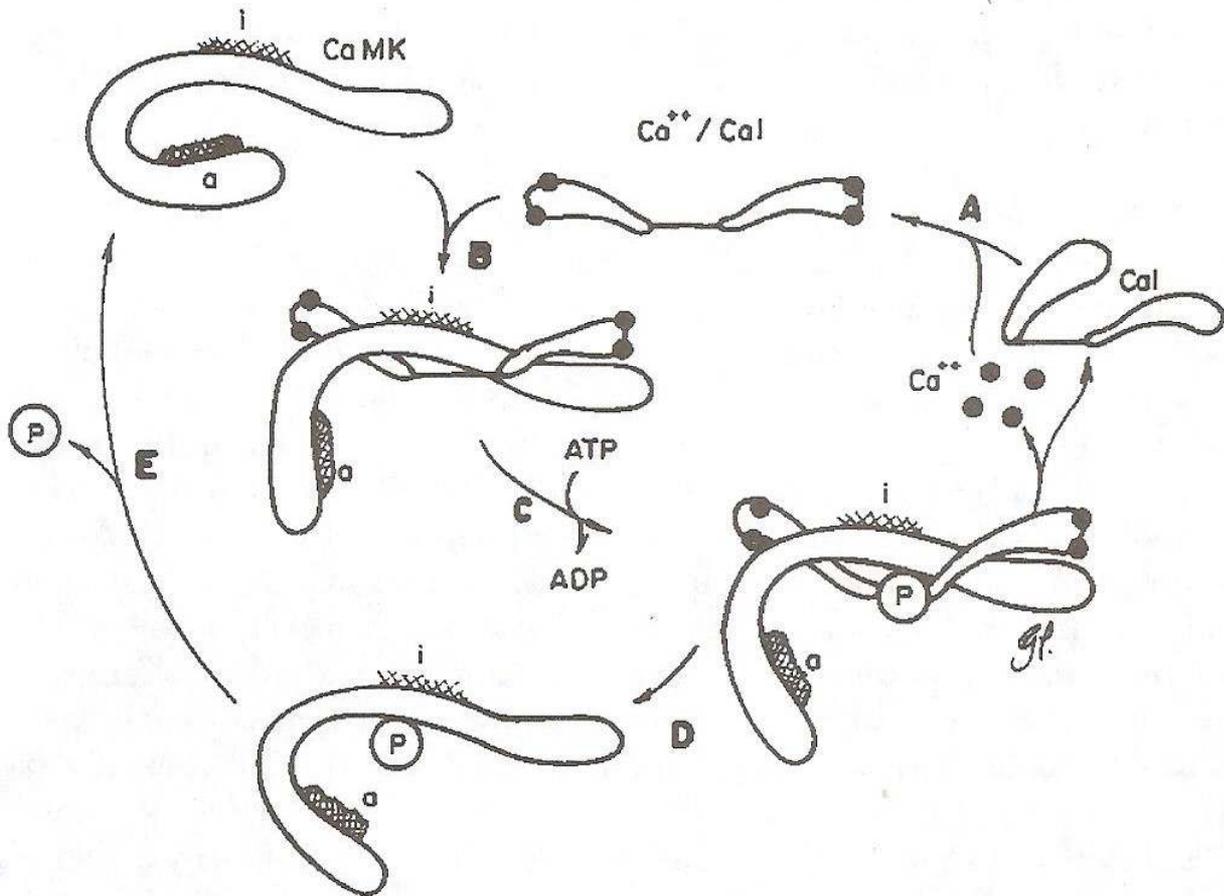
El  $\text{Ca}^{++}$  intracelular se une a proteínas específicas como la troponina C de las células musculares estriadas o a la calmodulina en otros tipos de células incluyendo las células musculares lisas. La calmodulina al unirse al  $\text{Ca}^{++}$  se activa y puede activar otras enzimas o proteínas de transporte de la membrana plasmática. Efectivamente, la mayoría de los efectos del  $\text{Ca}^{++}$  en las células son mediados por la fosforilación de proteínas realizada por una familia de **proteínas quinasas dependientes del complejo  $\text{Ca}^{++}$ /calmodulina** (CaMK). Estas proteínas quinasas fosforilan las serinas y treoninas de proteínas específicas. Existe en las células animales, sobre todo en el cerebro, una CaMK con una capacidad de quedarse activa (fosforilada) después que baja la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  en el citosol. Hay indicios que esta proteína quinasa interviene en el aprendizaje de los ratones. La activación de esta CaMK se hace en dos etapas (Fig.3.9). La primera etapa es la unión de la calmodulina a los iones de calcio que forma el complejo  $\text{Ca}^{++}$ /calmodulina (Fig. 3.9 A). Este complejo se une a la CaMK en su sitio de inhibición y la activa (Fig. 3.9 B). La segunda etapa es cuando la CaMK se autofosforila y llega a su máximo de actividad quinásica (Fig. 3.9 C). La CaMK queda con 60% de su actividad quinásica después de la liberación del complejo  $\text{Ca}^{++}$ /calmodulina (Fig. 3.9 D). La CaMK vuelve a su forma inactiva por la desfosforilación efectuada por una proteína fosfatasa (Fig. 3.9 E).

Las moléculas de calmodulina se encuentran también asociadas a elementos del citoesqueleto como el huso mitótico, los filamentos de actina y los filamentos intermedios. La calmodulina interviene en la determinación de la forma de las células, la división celular, la liberación de hormonas en las glándulas endocrinas.

La troponina C unida a los iones de calcio interviene en el control de la contracción de los músculos esqueléticos (Ver capítulo 7). Se piensa que la calmodulina actúa como la troponina C en el movimiento de las células no musculares.

El AMPc y el  $\text{Ca}^{++}$  interactúan para regular la actividad celular de muchas maneras. He aquí algunos ejemplos:

1. Los niveles intracitosólicos del AMPc y del  $\text{Ca}^{++}$  pueden afectar uno al otro; por ejemplo, la calmodulina puede regular la enzima que rompe el AMPc, mientras que las PKA podrían fosforilar los canales de calcio y bombas de  $\text{Ca}^{++}$ .
2. Las enzimas reguladas directamente por el  $\text{Ca}^{++}$  y por el AMPc pueden influir la una sobre la otra; por ejemplo, algunas CaMK son fosforiladas por las PKA.
3. Una misma proteína puede ser regulada por enzimas activadas por el  $\text{Ca}^{++}$  y el AMPc.



**Figura 3.9. Activación de una proteína quinasa dependiente del complejo  $\text{Ca}^{++}$ /calmodulina (CaMK).**

- A. Unión de cuatro moléculas de  $\text{Ca}^{++}$  con la calmodulina.
- B. Activación de la CaMK por el complejo  $\text{Ca}^{++}$ /calmodulina.
- C. Autofosforilación de la CaMK.
- D. Liberación del complejo  $\text{Ca}^{++}$ /calmodulina de la CaMK.
- E. Inactivación de la CaMK por desfosforilación.

CaMK: proteína quinasa  $\text{Ca}^{++}$ /calmodulina dependiente; i: dominio de inhibición de la CaMK; a: dominio catalítico de la CaMK; Cal: calmodulina;  $\text{Ca}^{++}$ : iones de calcio;  $\text{Ca}^{++}$ /C: complejo de  $\text{Ca}^{++}$ /calmodulina; ATP: adenosín trifosfato; ADP: adenosín difosfato, P: fosfato.

Se había mencionado que una proteína G trimérica activada por un receptor de membrana activado por su unión a su mediador podría también regular (activar o inhibir) directamente los canales iónicos de la membrana plasmática. La acetilcolina en el corazón activa una  $G_i$  que inhibe la adenilato ciclasa pero abre los canales de  $\text{K}^+$ . Otras proteínas G triméricas regulan indirectamente la actividad de los canales iónicos, ya sea por la regulación de la fosforilación de los canales, por las PKA, PKC o CaMK por ejemplo, o causando la producción o la destrucción de nucleótidos cíclicos (AMPc o GMPc) que directamente activan o inhiben los canales iónicos. Los canales iónicos regulados por nucleótidos cíclicos juegan un papel crucial en el proceso de transducción en los órganos del olfato y de la visión.

Efectivamente cuando se unen los mediadores a la mayoría de los receptores de las neuronas olfativas activan las proteínas Golf triméricas. La proteína Golf activada estimula la adenilato ciclasa que aumenta la concentración del AMPc. Este aumento del AMPc abre canales de  $Ca^{++}$  y permite también la entrada de  $Na^+$  que despolariza la célula e inicia un potencial de acción que se transmite a lo largo del axón hasta el cerebro. Otros receptores olfativos actúan por canales de  $Ca^{++}$  de la membrana plasmática regulados por el IP<sub>3</sub>, pero se conoce muy poco este mecanismo de transducción.

Los canales iónicos regulados por nucleótidos cíclicos están también involucrados en la transducción de la visión de los vertebrados, pero en estos casos el nucleótido cíclico es el GMPc y no el AMPc. Similar al AMPc, la concentración del GMPc en la célula es controlada por la síntesis rápida (por la guanilato ciclasa) y degradación rápida (por la GMPc fosfodiesterasa).

En la transducción visual, la activación del receptor es inducida por la luz que baja la concentración del GMPc. La rodopsina es el receptor, cuando recibe los fotones de la luz, se une a la proteína Gt trimérica (*transducin*) y la activa. La proteína Gt trimérica activada estimula la GMP fosfodiesterasa que hidroliza el GMPc, disminuyendo su concentración. Como consecuencia, el GMPc se separa de los canales de  $Na^+$  de la membrana plasmática permitiendo su cierre, lo que provoca una hiperpolarización, en lugar de una despolarización.

### 3.3.2.3. Receptores que funcionan como enzimas o activan directamente otras enzimas

Esta tercera clase de receptores de la membrana plasmática actúan directamente como una enzima o activan otras enzimas, cuando son activados por la unión a su mediador (Fig. 3.4 C). La mayoría de estos receptores son proteínas transmembranas de un solo paso, y tienen su sitio de unión al mediador en el exterior de la célula y su sitio catalítico en el citosol. Estos receptores, comparados con las otras dos clases de receptores que acabamos de describir, son proteínas muy heterogéneas. Los primeros receptores descritos con actividad enzimática fueron los que tienen una actividad proteína quinasa tirosina específica o que activan directamente otras proteínas con la misma actividad. Las proteínas quinasas tirosina específicas son enzimas que fosforilan únicamente las tirosinas de proteínas específicas que afectan sus funciones en una célula diana. Se descubrieron más tarde receptores con otras actividades enzimáticas o que activan directamente otras enzimas. Esta clase de receptores se pueden dividir en cinco subclases según su actividad:

1. Receptores con actividad guanilato ciclasa, que catalizan la producción del GMPc en el citosol.
2. Receptores con actividad de proteína quinasa tirosina específica, que fosforilan residuos específicos de tirosinas sobre una gama pequeña de proteínas.

3. Receptores que activan directamente proteínas quinasas tirosina específicas.
4. Receptores con actividad de proteína quinasa serina/treonina específica, que fosforilan serinas o treoninas específicas de algunas proteínas.
5. Receptores con actividad de proteína fosfatasa, que defosforilan las proteínas específicas.

Las principales moléculas blanco de la transducción celular a los diferentes mediadores fueron primero las proteínas quinasas denominadas a veces como efectoras de un estímulo. Como se ha mencionado, las proteínas quinasas catalizan la adición de uno o varios fosfatos a diferentes proteínas blanco. Estas proteínas fosforiladas pueden fosforilar otras proteínas produciendo la amplificación por fosforilación. Las proteínas fosforiladas intervienen en muchos casos, para cambiar la transcripción de genes específicos y el comportamiento de la célula.

Este proceso de amplificación por fosforilación está mediado por dos tipos principales de proteínas quinasas: las **proteínas quinasas serina/ treonina específicas** (PKser/tre) que fosforilan las serinas y las treoninas (con menos frecuencia) de proteínas específicas; y las **proteínas quinasas tirosina específicas** (PKT) que fosforilan tirosinas específicas de las proteínas. Las proteínas **quinasas ocasionales** pueden fosforilar los tres aminoácidos mencionados. Se estima que alrededor del 1% de nuestros genes codifican proteínas quinasas y una sola célula de mamíferos puede contener más de 100 tipos distintos de estas enzimas, pero la mayoría de ellas son PKser/tre. Aunque menos del 0,1% de proteínas fosforiladas en las células contienen fosfotirosina, esta pequeña minoría juega un papel crucial en la señalización por los receptores que tienen una actividad proteína quinasa tirosina específica y por la mayoría de receptores que directamente activan enzimas.

El proceso de amplificación por el mecanismo de fosforilación de proteínas está controlado o inactivado por la defosforilación de estas mismas proteínas por otra serie de enzimas denominadas proteínas fosfatasas.

Existen también receptores que, cuando se unen a su mediador, tienen una actividad proteína fosfatasa, es decir que eliminan el fosfato adicionado por las proteínas quinasas de las proteínas específicas. Pueden ser proteínas fosfatasas serina/treonina específicas, pero las más conocidas son los receptores con una actividad de **proteína tirosina fosfatasa** específica (PTP) que tiene la acción opuesta a las PKT. Se han identificado 75 proteínas fosfatasas tirosina específicas, que han sido clasificadas en tres familias. Aunque tengan muy poca similitud en la secuencias de sus aminoácidos, tienen una gran similitud en la estructura terciaria de la molécula presentando el mismo mecanismo catalítico. Las PTP no se encuentran únicamente como receptores de la membrana plasmática sino también en forma libre en el citosol.

### 3.3.2.3.1. Receptores con actividad guanilato ciclasa

Estos receptores catalizan directamente, cuando se unen a sus mediadores, la producción del GMPc en el citosol que sirve como segundo mensajero. El GMPc activa las proteínas quinasas GMPc dependientes (PKG) que fosforilan las serinas o las treoninas en proteínas específicas. Los péptidos natriuréticos atriales son unos de los pocos mediadores conocidos que se unen a los receptores con actividad guanilato ciclasa. Los péptidos natriuréticos atriales son una familia de hormonas peptídicas secretadas por las células musculares del *atrium* del corazón cuando la presión sanguínea aumenta. Estos péptidos estimulan la excreción del  $\text{Na}^+$  y del agua por el riñón e inducen una vasodilatación. Ambos efectos tienden a bajar la presión sanguínea.

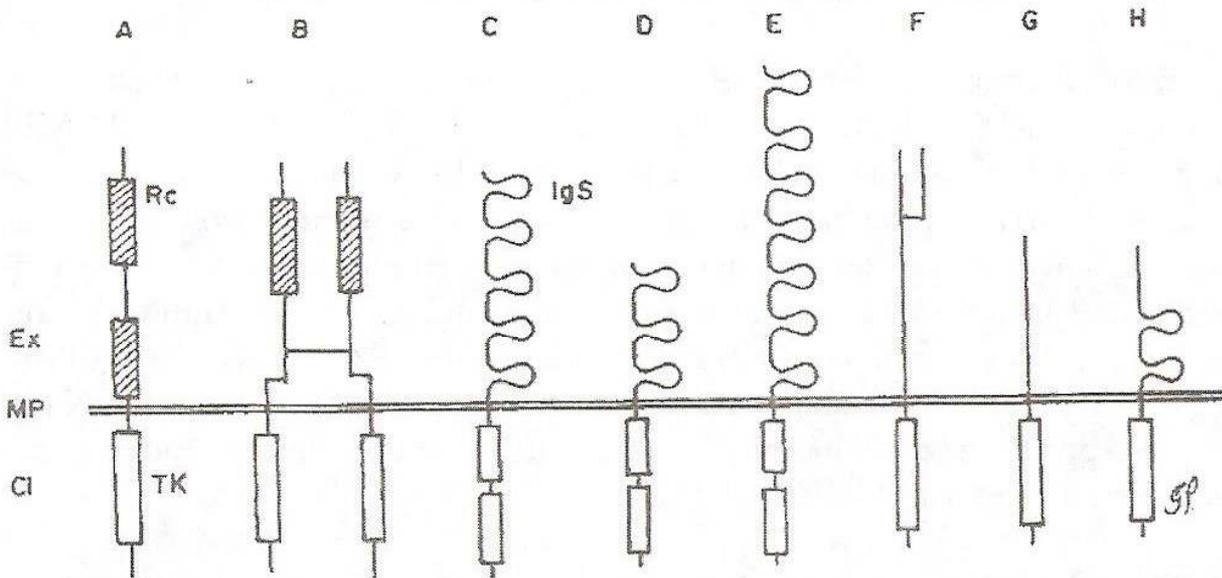
### 3.3.2.3.2. Receptores con actividad de proteína quinasa tirosina específica

Los receptores de la mayoría de los factores de crecimiento pertenecen a esta familia que fosforila residuos específicos de tirosinas sobre una gama pequeña de proteínas intracelulares. En general, el dominio catalítico de estas enzimas es de 250 aminoácidos con secuencias muy similares, sugiriendo que se originaron de una proteína ancestral común en el dominio citosólico (Fig. 3.10). Se han descrito 10 familias diferentes de estos receptores, pero en dos de ellas no se han encontrado todavía sus mediadores. La figura 3.10 muestra ocho familias de receptores con actividad proteína quinasa tirosina específica (RTK).

Todos estos receptores se fosforilan a sí mismos sobre sus tirosinas (autofosforilación) cuando se unen a su mediador. Los receptores autofosforilados sobre sus múltiples tirosinas se vuelven capaces de unirse y de fosforilar otras proteínas intracelulares efectoras y/o de señalización, como la quinasa inositol trifosfato (IP3K) o la fosfolipasa C- $\gamma$  (PLC $\gamma$ ). Los diferentes RTK activan una combinación distinta de proteínas, determinando así las diferentes respuestas celulares.

Los efectos de las proteínas fosforiladas sobre sus tirosinas en las células son muy complejos y todavía poco comprendidos. Se sabe que muchas de ellas intervienen en la proliferación, la diferenciación y la supervivencia de las células específicas.

Muchas proteínas que intervienen en las cascadas de señalización que son activadas por los RTK fueron primero identificadas como proteínas oncogénicas en células transformadas por virus o por mutación de sus genes normales. La producción excesiva o la activación inapropiada de estas proteínas fueron encontradas en varios tipos de cáncer o de células transformadas *in vitro* (Ver capítulo 10).



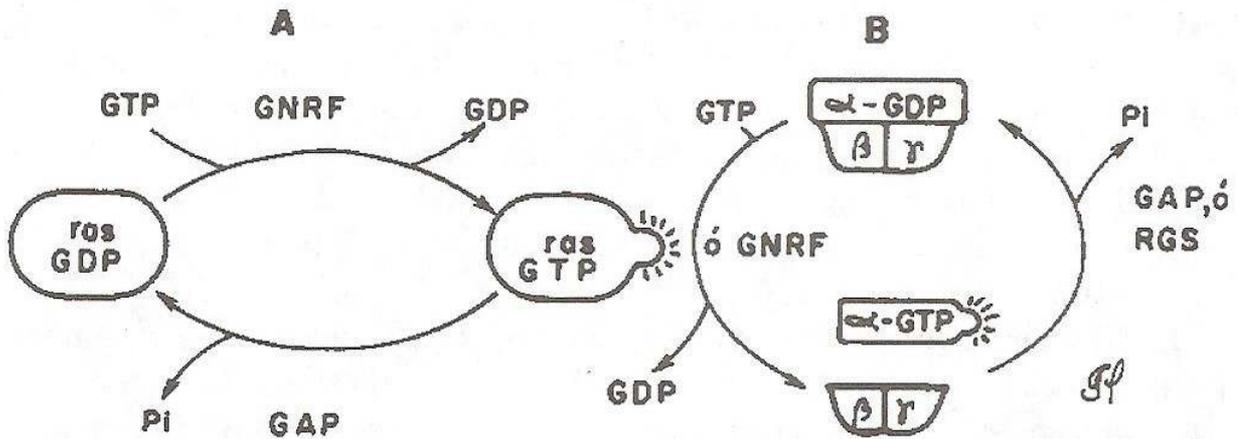
**Figura 3.10. Esquema de la estructura de 8 familias de receptores con actividad de proteínas tirosina quinasa específica.**

- A. Los receptores del factor de crecimiento epidermal.
  - B. Los receptores de la insulina, y receptores del factor de crecimiento similar a la insulina-1 o somatomedina C.
  - C. Los receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas, y del factor de estimulación de colonia de macrófagos.
  - D. Los receptores de los factores de crecimiento de fibroblastos 1, 2, 3 y 4. En esta familia se encuentra también los receptores del factor de crecimiento de queratinocitos.
  - E. Los receptores del factor de crecimiento vascular endotelial.
  - F. Los receptores del factor de crecimiento de hepatocitos.
  - G. Los receptores de factores de neurotróficos A, B, y C.
  - H. Los receptores del factor de crecimiento nervioso, del factor neurotrófico derivado del cerebro, y de las neurotrofinas 3 y 4.
- Ex: Exterior de la célula; MP: Membrana Plasmática; Ci: Citosol; TK: dominio de proteína quinasa tirosina específica; Rc: dominio rico en cisteínas; IgS: dominio similar a las inmunoglobulinas.

Una de las familias de proteínas fosforiladas sobre sus tirosinas por los RTK activados es la familia de proteínas *ras* o p21<sub>ras</sub>. Estas proteínas fueron descubiertas primero como producto hiperactivo de genes *ras* mutados en algunos tipos de cáncer. Más tarde se descubrió que las proteínas *ras* juegan un papel crucial también en la proliferación y diferenciación normal de las células.

Las proteínas *ras* son proteínas G monoméricas, es decir que tienen capacidad de unirse al GTP e hidrolizarlo (actividad GTPásica). Estas proteínas se activan cuando se unen al GTP y se inactivan hidrolizándolo en un ciclo continuo (Fig. 3.11 A). La cantidad relativa de la forma activa (*ras*-GTP) e inactiva (*ras*-GDP) está bajo el control de dos clases de moléculas: los **factores de intercambio de nucleótido de guanina** (GNRF) favorecen la forma activa; y las proteínas GAP

(proteína que activa la acción GTPásica de las proteínas G) activando la actividad GTPásica de la *ras* y inactivándola (*ras*-GDP) (Fig. 3.11 A). La *ras*-GTP aumenta cuando un factor de crecimiento se une a su RTK que fosforila la tirosina del GNRF y lo activa, o GNRF es fosforilado sobre su tirosina por otras PKT activadas.



**Figura 3.11. Ciclo de control de la proteína G monomérica *ras* y de una proteína G trimérica.**

A. La proteína *ras* es activada por un factor de intercambio de nucleótidos de guanina (GNRF) e inactivada por una proteína que activa la acción GTPásica de las proteínas G (GAP).

B. La proteína G trimérica es activada por la *ras*-GTP o por una GNRF, e inactivada por una GAP o por una RGS.

RGS: proteína reguladora de la hidrólisis del GTP de la subunidad  $\alpha$  de la proteína G trimérica. *ras*-GDP: proteína *ras* inactiva; *ras*-GTP: proteína *ras* activa; GNRF: factor que intercambia el nucleótido de guanina; GAP: proteína que activan la acción GTPásica de la *ras*;  $\alpha$ -GDP- $\beta$ - $\gamma$ : proteína G trimérica inactiva;  $\alpha$ -GTP y  $\beta$ - $\gamma$ : proteína G trimérica activa; RGS: proteína reguladora de la hidrólisis del GTP de la subunidad  $\alpha$  de la proteína G trimérica; GTP: guanosín trifosfato; GDP: guanosín bifosfato; P: fosfato.

Las funciones de las proteínas p21ras son variadas; entre las que se incluyen la activación de otras proteínas quinasas y de lípidos quinasas, o su funcionamiento como un factor de intercambio de nucleótidos de guanina (GNRF) para activar proteínas G triméricas (Fig. 3.11 B). La intervención de las p21ras oncogénicas en la cancerización posiblemente se debe a una actividad GTPásica más prolongada debida a mutaciones de los genes normales.

Las proteínas G triméricas son activadas también por los GNRF fosforilados, mientras que las GAP y una nueva familia de proteínas **reguladoras de las proteínas G triméricas** (RGS) inactivan las proteínas G triméricas (Fig. 3.11 B).

Las proteínas *ras* pertenecen a una superfamilia de proteínas GTPasas monoméricas que incluye otras dos familias: la familia de las proteínas *rho* y *rac* involucradas en la transmisión de señales a los filamentos de actina del citoesqueleto,

de receptores de factores de crecimiento y de las integrinas. La segunda familia, las proteínas *rab*, interviene en la regulación del tráfico del transporte intracelular de vesículas (Ver 5.4.2.3).

Las moléculas mitogénicas que incluyen los factores de crecimiento (Fig. 3.10) son sustancias extracelulares que estimulan la proliferación celular y tienen como receptores principalmente los RTK. La unión del factor de crecimiento o mitogénico a su RTK desencadena las reacciones en cascada de fosforilaciones que activan las proteínas quinasas activadoras de la mitosis (MAPK, *mitogen activated protein kinases*). Las proteínas activadas por esta cascada son los factores de transcripción como las proteínas *fos* y *jun* que inducen la transcripción de genes específicos y estimulan la proliferación celular.

La vía de transducción por los receptores que tienen una acción de proteína tirosina quinasa, como se ha visto, es activada por muchos factores de crecimiento o mitogénicos, e interviene en muchas reacciones en cascada de los procesos biológicos que determinan la supervivencia, la proliferación y la diferenciación celular. Se discutirán con más precisión los factores y la regulación de la transcripción en el capítulo 8, la regulación de la proliferación celular en el capítulo 9, y los mecanismos de cancerización en el capítulo 10.

Existe otro mecanismo de transducción mediado por los RTK, donde la activación del receptor es modulada por varias PKT y la transducción es inhibida por receptores con actividad opuesta, es decir por proteínas fosfatasas tirosina específicas. Este mecanismo de transducción interviene en el funcionamiento de algunos tipos de células del sistema inmune como en la activación de los linfocitos B y T, y en la degranulación de los mastocitos y polimorfonucleares basófilos. Estos receptores específicos del sistema inmune son denominados **inmunoreceptores tirosina quinasa con motivo inhibitor** (ITIM), porque tienen una actividad TK cuando son activados y son inactivados por la desfosforilación por proteínas fosfatasas activadas. Estas proteínas fosfatasas pueden ser activadas también por receptores unidos a sus mediadores.

Cuando un mediador (un antígeno por ejemplo) se une al ITIM, el receptor se autofosforila y actúa como un RTK, pero para desencadenar la respuesta celular específica, ya sea la producción de anticuerpos en los linfocitos B, el reconocimiento de antígenos presentados por otras células en las linfocitos T o la degranulación de los mastocitos, necesita de otro ITIM que esté unido al mismo antígeno. Para la proliferación celular necesita de la cooperación de otro RTK activado por su unión al mismo antígeno en el caso de las células B o por su unión a otra molécula del mismo antígeno presentado por la célula presentadora de antígenos en el caso de las célula T; es decir que el desencadenamiento de la prolife-

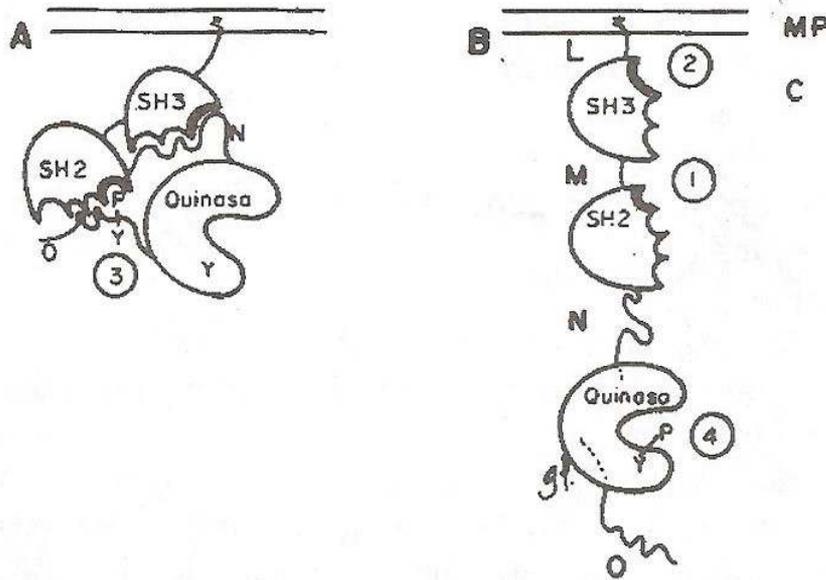
ración de estas células está inducido por la acción concomitante (o cooperación) de dos, tres o cuatro receptores activados. Esta vía de transducción es inhibida por proteínas fosfatasas que desfosforilan inicialmente el ITIM y luego los otros RTK.

### 3.3.2.3.3. Receptores que activan directamente proteínas quinasas tirosina específicas

Es una familia de receptores heterogéneos que no tienen actividad catalítica propia de tirosina quinasa pero están asociados de manera no covalente a las proteínas quinasas tirosina específicas que son activadas cuando el receptor se une con su mediador. En esta familia se encuentran los receptores de mediadores locales como las **citoquinas** (que regulan la proliferación y la diferenciación celular en el sistema hematopoyético) y de algunas hormonas como la hormona de crecimiento y la prolactina.

La primera proteína quinasa con actividad tirosina específica (PKT) identificada fue la proteína oncogénica viral *src* (*v-src*) y luego se descubrió su activación por varios tipos de receptores. La proteína *v-src* es una variante mutada de una proteína celular normal que se expresa en la gran mayoría de las células eucarióticas y es altamente conservada a través de la evolución. A partir de esta proteína quinasa tirosina específica se han encontrado muchas otras proteínas incluyendo los receptores con la misma actividad. Las proteínas *src* normal son una gran familia de PKT, localizadas en el lado citosólico de la membrana plasmática. Las proteínas *src* normales se unen a muchas clases diferentes de receptores y participan en las vías de señalización que controlan una gran diversidad de actividades biológicas.

Las proteínas quinasas tirosina específicas asociadas a los receptores son miembros de la familia *src* (PKT*src*) o de la familia Janus. Las PKT de la familia Janus intervienen en la transducción de las señales de receptores de la hormona del crecimiento y de la prolactina entre otros. Existen al menos 11 miembros de proteínas quinasas de la familia *src* en mamíferos: *src*, *yes*, *fgr*, *frk*, *yrk*, *fyn*, *lck*, *lyn*, *hck* y *blk*. Todos ellos contienen 3 dominios homólogos: el primero es el catalítico o tirosina quinasa (Fig. 3.12 Quinasa); le sigue el segundo dominio de 100 aas denominado SH2 (segunda secuencia homóloga de la proteína del protooncogen *c-src*) (Fig. 3.12 SH2); y el tercer dominio denominado se denomina SH3 (Fig. 3.12 SH3). En algunas de ellas se encuentra un cuarto dominio homólogo, denominado SH4. Los dominios homólogos quinásico, SH2 y SH3 se encuentran separados por dominios no homólogos, denominados N y M. En los dos extremos de la proteína *src* se encuentran las secuencias no homólogas O y L. La secuencia L se inserta en la membrana cuando la PKT*src* es una proteína integral de la membrana plasmática, porque existen también PKT*src* libres en el citosol.



**Figura 3.12. Activación de las proteínas quinasas de la familia *src* (PKTsrc).**

A. La forma inactiva de la PKTsrc es replegada. La secuencia no homóloga O es fosforilada sobre la tirosina en posición 527 (3) y se une al dominio homólogo SH2; y el dominio no homólogo N al dominio homólogo SH3.

B. La forma activa de la molécula es desplegada y se encuentra unida al receptor (no se muestra) por las secuencias sombreadas del dominio SH2 (1) y del dominio SH3 (2). La tirosina 527 (3) es desfosforilada y la 416 del sitio catalítico es autofosforilada (4) (Thomas y Brugge, 1997).

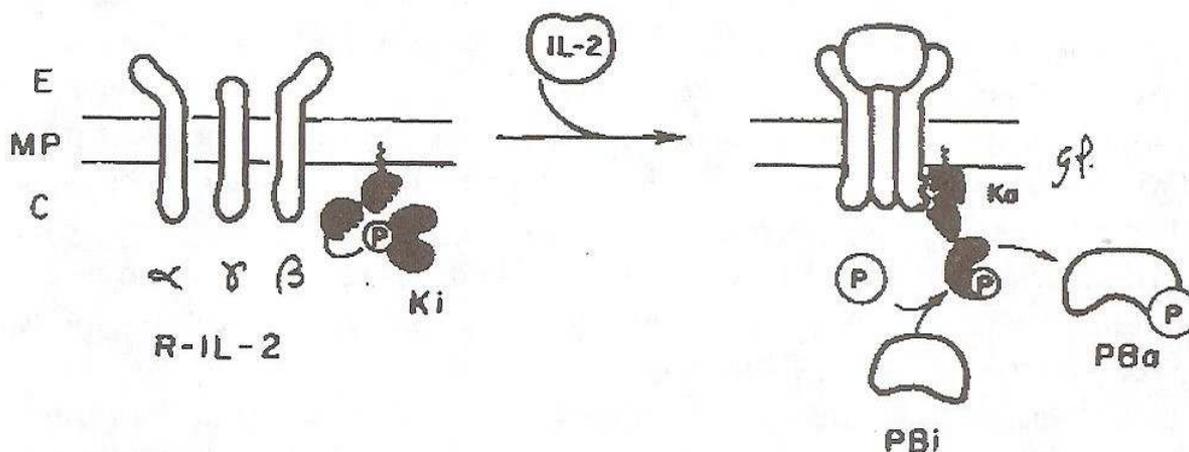
SH3, SH2, quinasa: dominios homólogos de las proteínas quinasas tirosina específicas de la familia de las proteínas *src*; L, M, N, O: dominios no homólogos; 1 y 2: secuencias de unión de la región SH2 y SH3 de la PKTsrc al receptor; Y: tirosina; 3: tirosina en posición 527 de la PKTsrc; 4: tirosina en posición 416 de la PKTsrc; P: fosfato; E: exterior de la célula; MP: membrana plasmática; C: citosol.

Los dominios SH2 y SH3 son reguladores del dominio quinásico de la molécula. En la forma inactiva, la PKTsrc es replegada (Fig. 3.12 A), el dominio O se une al dominio SH2 y el N al SH3. Una tirosina en la posición 527 del dominio O es fosforilada para que se una al dominio SH2 asegurando la forma replegada de la PKTsrc (Fig. 3.12 A, 3).

La activación de la PKTsrc se realiza por su unión al receptor por intermedio de secuencias específicas de los dominios SH2 (Fig. 3.12 B, 1) y SH3 (Fig. 3.12 B, 2). Cuando la PKTsrc está unida al receptor, se activa por la desfosforilación del dominio de la tirosina 527 (Fig. 3.12 A, 3) dejando libre el dominio quinásico que se autofosforila sobre una tirosina en la posición 416 (Fig. 3.12 4). Durante estos procesos la PKTsrc se despliega dejando libre el dominio quinásico para fosforilar otras proteínas específicas sobre sus residuos de tirosinas.

En las proteínas *src* mutadas u oncogénicas que se encuentran en algunos tipos de cáncer, la tirosina en la posición 527 falta y en consecuencia no puede ser fosforilada y la proteína no puede ser inactivada, dando como resultado la NO inhibición del sitio catalítico volviéndose una enzima activa todo el tiempo.

Los receptores que activan las proteínas quinasas tirosina específicas pueden estar constituidos por varias subunidades peptídicas. Por ejemplo, el receptor de GABA está constituido por dos subunidades peptídicas, y el de la interleuquina-2 (IL-2, un mediador local secretado por los linfocitos T que estimula la proliferación de linfocitos) tiene tres subunidades,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  que se ensamblan cuando se une a su mediador. La subunidad  $\beta$  se une a la proteína quinasa tirosina específica *lck* y la activa (Fig. 3.13), y así puede fosforilar tirosinas específicas de proteínas blanco.



**Figura 3.13. Activación de la proteína quinasa tirosina específica *lck* (Ki) por el receptor de la interleuquina-2 (IL-2).**

El receptor de la interleuquina-2 (R-IL-2) tiene tres subunidades,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , que se ensamblan cuando se unen al IL-2. El receptor ensamblado activa la PKT *lck* (Ka).  
 E: exterior de la célula; MP: membrana plasmática; C: citosol; Ki: PKT *lck* inactiva; Ka: PKT *lck* activada; P: fosfato; PBi: proteína blanco inactiva; PBa: proteína blanco activa.

### 3.3.2.3.4. Receptores con actividad de proteína quinasa serina/treonina específica

Una superfamilia de mediadores que incluye la familia de los factores de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) activa receptores que son proteínas quinasas que fosforilan únicamente las serinas y/o las treoninas específicas de algunas proteínas intracelulares.

Los TGF- $\beta$  constituyen una familia de mediadores locales que regulan la proliferación y las funciones de muchos tipos celulares de los vertebrados. Los 5 miembros de la familia, de TGF1 a TGF5, son proteínas con estructuras y funciones similares. Otras dos familias de la superfamilia son las **activinas** que juegan un papel importante en la inducción del mesodermo en el desarrollo de los vertebrados, y las **proteínas morfogenéticas del hueso** que estimulan la formación del hueso. Estos receptores son proteínas de un solo paso en la membrana plasmática con su dominio serina/treonina quinasa en el lado citosólico. No se conocen con precisión las proteínas fosforiladas por estos receptores.

### 3.3.2.3.5. Receptores con actividad de proteína fosfatasa

Como se mencionó anteriormente, la fosforilación y la desfosforilación de proteínas determinan en muchos casos sus actividades. También como ya se mencionó, las enzimas que fosforilan las proteínas se denominan proteínas quinasas y las que desfosforilan se llaman proteínas fosfatasas.

Algunas proteínas fosfatasas desfosforilan a nivel de los tres aminoácidos que se pueden fosforilar en una proteína, es decir la serina, la treonina y la tirosina, denominadas fosfatasas de actividad dual. Pero cada proteína fosfatasa interviene únicamente en la desfosforilación de proteínas particulares.

Se han encontrado también proteínas fosfatasas serina/treonina específicas, pero todavía se conoce muy poco de ellas. Estas proteínas fosfatasas intervienen en la desfosforilación de proteínas fosforiladas, entre otras, por las PKA, las PKC y las CaMK. La fosforilación y desfosforilación rápida de las proteínas es uno de los factores que explica el efecto transitorio de los mediadores extracelulares y de segundos mensajeros como el efecto del AMPc.

La proteínas fosfatasas más estudiadas son las que desfosforilan las fosfotirosinas de las proteínas, denominadas **fosfoproteínas tirosina fosfatasas (PTP)**. Las PTP, aunque tengan muy poca homología en las secuencias de sus aminoácidos, tienen una gran similitud en la estructura terciaria de la molécula presentando el mismo mecanismo catalítico. Sus actividades altamente específicas y rápidas aseguran una vida media muy corta a las tirosinas fosforiladas de proteínas y un nivel muy bajo de fosfotirosinas en una célula en reposo. Las PTP no solamente reinvierten en forma continua el efecto de las proteínas quinasas tirosina específicas, sino que sus actividades pueden ser reguladas para cumplir funciones específicas en la señalización y el ciclo celular. Las PTP tienen una actividad 10 a 100 veces más que la de las PKT, lo que explica la cantidad reducida de fosfotirosinas encontrada en una célula.

Se han identificado 75 PTP, y se clasifican en tres familias según su localización en la célula. Algunas se encuentran en forma soluble, otras están unidas a la membrana en el lado citosólico, pero la gran mayoría se encuentra como proteínas transmembranas. La estructura de estas últimas hace pensar que son también receptores aunque no se hayan encontrado los mediadores extracelulares en la gran mayoría de los casos. Las PTP transmembranas tienen dos dominios catalíticos muy conservados de acción tirosina fosfatasa en el lado citosólico, pero el extremo extracelular es muy variable.

El receptor con actividad PTP mejor conocido es la **proteína CD45**. Esta proteína representa el 10% del total de proteínas en la superficie celular de las células hematopoyéticas. También es un receptor de superficie de los glóbulos

blancos que juega un papel importante en la activación de los linfocitos T y B por un antígeno. Cuando este receptor se une a su mediador, su dominio citoplasmático adquiere la actividad de tirosina fosfatasa que desfosforila fosfotirosinas de proteínas específicas en la célula. La *lck*, y la *fyn*, ya mencionadas y que pertenecen a la superfamilia de las PKTsrc, serían inactivadas por la desfosforilación en sus tirosinas por el receptor CD45.

### 3.3.2.4. Receptores que agrupan proteínas

En esta sección se tratará el mecanismo de transducción de los receptores que intervienen en el proceso de muerte celular programada, denominado **apoptosis**.

El proceso de apoptosis se conoce desde hace varias décadas, sobre todo en la embriología y en los procesos de morfogénesis. Durante la ontogénesis se forman órganos de especies filogenéticamente anteriores que involucionan durante el desarrollo embrionario. Un ejemplo es la cola de la larva de los anfibios que involuciona por el proceso de apoptosis. También ocurre la muerte celular programada después del nacimiento. Por ejemplo, en los seres humanos, el 50% del peso de la corteza de la glándula suprarrenal se pierde durante el primer mes y el 80% al año de la vida extrauterina. Otro ejemplo es la muerte por apoptosis de la gran mayoría de las células del útero grávido después del parto. Muchas células de las glándulas mamarias entran también en apoptosis después del período de lactación. La apoptosis o muerte celular normal es también un mecanismo que interviene en la homeostasis de muchos tejidos en el adulto donde existe al mismo tiempo cierto grado de proliferación celular.

Las células apoptóticas se caracterizan morfológicamente por la reducción del volumen celular y una coloración más intensa del citosol que las células vivas. En los tejidos epiteliales, la célula en apoptosis es fácil de identificar, pues se destaca entre las células vivas por su núcleo condensado, citoplasma más densamente coloreado y el tamaño reducido de la célula en comparación con las células vivas que la rodean.

En el proceso de apoptosis se produce una activación de enzimas citosólicas que degradan los constituyentes celulares sin afectar a las células vecinas y sin inducir una reacción inflamatoria, mientras que en el proceso de **necrosis** celular se liberan enzimas lisosomiales induciendo una reacción inflamatoria y, en general, afecta un gran número de células en un tejido.

La mayoría de las células están programadas, durante su diferenciación, para depender de una gama específica de mediadores simplemente para vivir. Pero, además, las células pueden recibir la señal de algunos mediadores que activan el proceso de apoptosis.

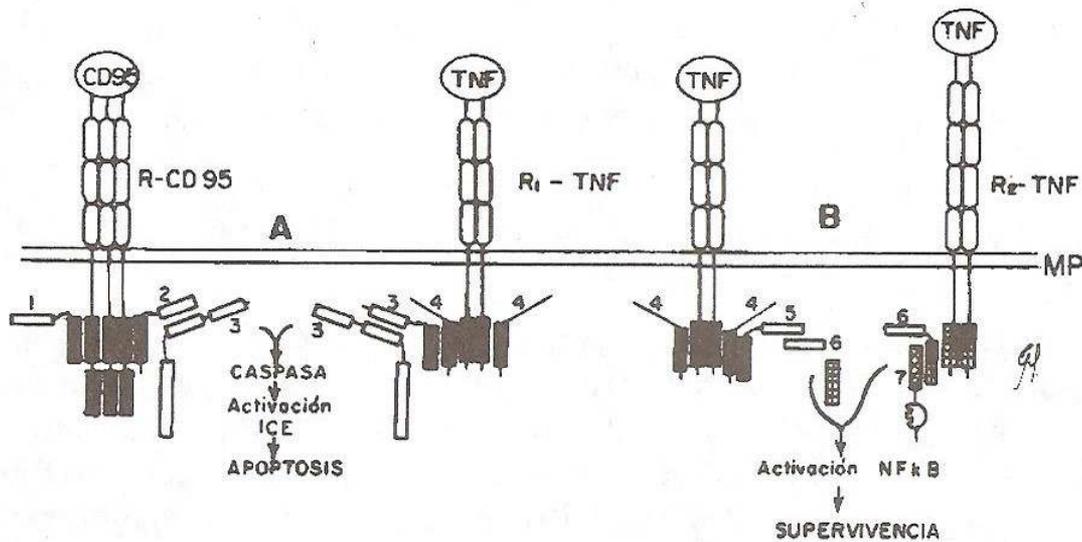
Los conocimientos recientes sobre el proceso de la apoptosis explican algunos aspectos de sus mecanismos moleculares. El proceso molecular se inicia por mediadores externos que culminan con la activación de enzimas citosólicas que degradan los constituyentes celulares sin afectar a las células vecinas.

Algunos receptores inducen únicamente la apoptosis cuando son activados, mientras que otros receptores pueden promover la apoptosis o la supervivencia y proliferación celular dependiendo de la programación previa de la célula. La tercera clase de receptores estimulan únicamente la supervivencia celular.

Entre los receptores que inducen únicamente apoptosis los más conocidos son el receptor R-CD95 (*death receptor-95*) que se une a un mediador denominado Apo1 o Fas o CD95 (*cell death-95*) (Fig. 3.14) y el receptor R-CD3 (*death receptor-3*) que se une al mediador CD3 (*cell death-3*). Los receptores que inducen una respuesta dual de proliferación o de apoptosis son los receptores de la primera familia del factor de necrosis tumoral (R1-TNF). Los receptores de la segunda familia (R2-TNF) estimulan únicamente la supervivencia celular. Todos estos receptores pertenecen a la superfamilia de receptores de los factores de necrosis tumoral (TNF), caracterizados por tener dominios ricos en cisteína en el lado extracelular. Pero en el lado citosólico, los R-CD95 y R1-TNF tienen dominios denominados de apoptosis o de muerte celular, mientras que los R2-TNF tienen dominios de supervivencia.

Los TNF son secretados principalmente por monocitos, macrófagos y las células del tejido conectivo. Los TNF son 7 familias de proteínas de regulación celular cuyas actividades dependen del tipo de TNF y de la célula diana. Los diferentes tipos de TNF se localizan en el citosol, transmembranalmente o en el medio extracelular. Inicialmente se creyó que los TNF inducían la necrosis de las células cancerosas (de ahí su nombre) pero se descubrió que tienen una actividad muy variada.

Durante el desarrollo normal de *Caenorhabditis elegans*, la activación de las proteasas ced-4 y ced-3 inducen la muerte de las células bien determinadas. En los mamíferos una proteasa homóloga a ced-3 activa las proteasas ICE (*enzyme interleukin-1 $\beta$  converting-like proteases*) desencadenando la apoptosis. Los receptores R-CD95 y R1-TNF estimulados activan las proteasas homólogas a la ced-3. Si no funciona la proteína ced-9 se produce una hiperactivación de las ced-4 y ced-3 provocando la muerte de muchas más células que lo normal en *C. elegans*. En los mamíferos la proteína *bcl-2* es homóloga a la proteína ced-9 de *C. elegans* y suprime la muerte celular programada en muchos tipos de células. La sobreexpresión del gen *bcl-2* interviene en el desarrollo de algunos tipos de cáncer.



**Figura 3.14. Receptores que reclutan proteínas. Receptores de la superfamilia de los factores de necrosis tumoral unido a sus mediadores.**

A. Inducción de la apoptosis.

B. Vía de supervivencia celular.

CD95: mediador de la muerte celular-95 (*cell death*); TNF: factor de necrosis tumoral; R-CD95: receptor del CD-95; R1-TNF: receptor de la primera familia de los TNF; R2-TNF: receptor de la segunda familia de los TNF; ICE: proteasas ICE (*enzyme interleukin-1 $\beta$  converting-like proteases*); NFκB: factor de transcripción que inhibe la apoptosis; los números del 1 al 7: representan las proteínas reclutadas que interactúan con el receptor.

La característica de estos receptores es que reclutan o agrupan alrededor de sus dominios citosólicos proteínas que culminan, en el caso del R-CD95 y R1-TNF con la activación de las proteasas ICE que induce la apoptosis, y en el caso de los R2-TNF con la activación de la molécula NFκB que inhibe la apoptosis. La NFκB activada impide la acción de las proteasas ICE promoviendo la supervivencia celular y eventualmente su proliferación (Fig. 3.14). La NFκB es un factor de transcripción cuyo mecanismo de acción se verá en el capítulo 8.

Las proteínas que se reclutan alrededor de estos receptores se denominan *receptor-interacting protein* (RIP) que aparecen numerados del 1 al 7 en la figura 3.14. Las proteínas RIP estimulan la caspasa-8 que activa las proteasas ICE induciendo la apoptosis.

Los receptores R1-TNF tienen una acción dual: de una parte pueden intervenir en la activación de la caspasa-8 que induce la apoptosis (Fig. 3.14 A); de otra parte pueden reclutar otras RIP y activar la NFκB que inhibe la apoptosis (Fig. 3.14 B). Es decir que hay un delicado balance entre vida y muerte celular. Se están comenzando a conocer los diferentes componentes de los complejos que transducen señales de vida y muerte. No se sabe cómo la caspasa-8 activa las proteínas dianas para la apoptosis, ni como la NFκB es crítica para el mantenimiento de la vida celular. Tampoco son claras las interacciones entre las diferentes RIP.

Antes de identificar mediadores de la muerte celular se encontró en los linfocitos T receptores cuya activación por antígenos inducen la apoptosis. Efectivamente los linfocitos T y B tienen receptores que reclutan proteínas y tienen una acción dual entre apoptosis y supervivencia celular.

### 3.3.2.5. Otros tipos de receptores

Los mecanismos de transducción utilizados por algunos receptores son tan poco comprendidos que no están todavía clasificados. Por ejemplo, las integrinas generan señales intracelulares en los lugares de contactos de las células cultivadas con la matriz extracelular, desencadenando el ensamblaje de un complejo intracelular de señalización (Ver 2.2.2). Las integrinas activan dos tipos de proteínas quinasas: las quinasas de adhesión focal (FAK) y las PKTsrc (Fig. 7.21), pero sus mecanismos moleculares aún no han sido elucidados en detalle.

Otro ejemplo es la inhibición lateral de la proliferación celular por los receptores transmembranos **Notch** y la proteína **Sev** en *Drosophila*. No es claro todavía cómo se hace la transmisión de señales desde los receptores hasta el núcleo para que la célula controle su proliferación.

Muchos de los mecanismos intracelulares descritos que intervienen en las comunicaciones intercelulares deben también intervenir en muchos otros procesos biológicos intracelulares incluyendo la comunicación intracelular entre los diferentes compartimentos (con y sin membrana) de una célula eucariótica.

### 3.3.3. Movilización molecular durante los procesos de transducción

No se conocen todos los mecanismos que pueden ser desencadenados por la unión de un mediador extracelular a su receptor. Por ejemplo, luego de la fosforilación de las proteínas que desencadenan la respuesta celular por un receptor unido a su mediador, la membrana plasmática presenta un aumento en el flujo de iones sodio, potasio e hidrógeno disminuyendo temporalmente el pH del citosol. Otros receptores regulan directamente sistemas de transporte más complejos como los canales de calcio de la membrana plasmática promoviendo la entrada del ion y su salida por cotransporte con el potasio.

En otros casos la movilidad de las moléculas de la membrana parece tener importancia fundamental para las acciones de mediadores que se fijan a los receptores. Numerosas proteínas quinasas y fosfatasa, cuando se activan, cambian de localización intracelular, ya sea por estimulación de una señal extracelular, o ya sea como respuesta intracelular a las necesidades de la célula. Este desplazamiento o translocación de moléculas en la célula es muy común, pero sus mecanismos moleculares son bastante desconocidos. La molécula activada se desplaza a otro

lugar de la célula para ejercer su función. La movilización o translocación intracelular de las PKC es la más estudiada, pero también se han descrito para otras proteínas quinasas (Tabla 3.4).

Se ha descrito también en la sección 3.3.1 la translocación del citosol al núcleo de los receptores intracelulares unidos a sus mediadores.

### **3.3.4. Resumen de los procesos de la transducción**

La gran mayoría de las funciones celulares, incluidas su proliferación y su muerte normal, están reguladas por los mediadores extracelulares: las hormonas, neurotransmisores, neuropéptidos, los factores de crecimiento y otros tipos de mediadores. Los principales mecanismos de transducción utilizados por estos mediadores están resumidos en la figura 3.15.

Los mediadores como las hormonas esteroides y tiroideas atraviesan la membrana plasmática y se unen a sus receptores en el citosol (Fig. 3.15 R1). Los receptores intracelulares activados por su unión a su mediador se translocan generalmente al núcleo donde controlan directamente la transcripción de genes. La respuesta celular específica a un mediador en este caso dependerá del resultado de control sobre la transcripción de genes.

Los mediadores que no pueden atravesar la membrana plasmática se unen a receptores de membrana de las células diana. Estos receptores activados por su unión a sus mediadores afectan la actividad de canales iónicos o de enzimas. Los cambios en la actividad de los canales iónicos y de las enzimas determinan las respuestas específicas de las células a estos mediadores. Se pueden resumir los mecanismos conocidos de transducción de los receptores de la membrana celular de la siguiente manera:

Primero, la actividad de algunos tipos de canales iónicos es regulada directamente por mediadores extracelulares, es decir que funcionan como receptores (Fig. 3.15 R2). Por ejemplo, la acetilcolina, en la unión neuromuscular, induce la abertura de los canales de  $\text{Na}^+$ . Los canales iónicos intervienen en todas las células generando un potencial de membrana, pero sus participaciones son más espectaculares en la generación y la conducción del potencial de acción en las neuronas y en el proceso de contracción y relajamiento muscular. El calcio libre intracelular, que puede ser aumentado por la abertura de uno de esos canales, interviene, entre otros, en la activación de las PKC, en los procesos de secreción y en el movimiento celular.

Tabla 3.4. Translocación de las quinasas inducida por señales intra o extracelulares.

Enzima	de	→	a
PKC- $\alpha$	Citosol		MP, Periferia intracelular, Núcleo
PKC- $\beta$	Citosol		MP, Núcleo
PKC- $\gamma$	Citosol		MP
PKC- $\delta$	Núcleo		Región perinuclear
	Citosol		MP
PKC- $\epsilon$	Núcleo		Región perinuclear
	Citosol		MP
PKC- $\zeta$	Núcleo		Región perinuclear
	Citosol		MP
PKA (sub-unidad C)	Citosol		Núcleo
PKG	Citosol		MP
CaMKII	Citoesqueleto de Mp		Filamentos del citoesqueleto
DAG-K	Citosol		MP
BARK	Citosol		Mp, Citoesqueleto
<i>c-src</i>	Citosol		MP
	MP		Citosol
	Citoesqueleto		Citoesqueleto
PI 3-K	Citosol		Mp
<i>raf</i>	Citosol		Mp, Región perinuclear
MAPK	Citosol		Núcleo, MP
CKII	Citosol		Núcleo

MP: membrana plasmática; PKC: proteínas quinasas C; PKA: proteína quinasa AMPc dependiente; PKG: proteína quinasa GMPc dependiente; CaMKII: proteínas quinasas Ca<sup>++</sup>/calmodulina dependientes II; DAG-K: proteína quinasa dependiente del diacilglicerol;  $\beta$ BARK: quinasas de receptores  $\beta$  adrenérgicos; *c-src*: proteína quinasa tirosina específica *src*; PI3-K: proteína quinasa dependiente del inositol trifosfato; *raf*: proteína quinasa treonina específica *raf*; MAPK: quinasas de las proteínas activadas mitógenos; CKII: proteína quinasa de la caseína II.

Los receptores que afectan directamente o indirectamente los canales iónicos cambian rápidamente la composición iónica de la célula afectando seguramente otras proteínas efectoras y las funciones de la célula (Fig. 3.15 iones).

Segundo, los receptores que se unen a una proteína G trimérica tienen varios mecanismos de activación de segundos mensajeros:

1. Pueden activar la enzima PLC que produce el DAG y el IP3 (Fig. 3.15 R3). El DAG y el IP3 son ambos segundos mensajeros. El DAG interviene en la activación de las PKC, y el IP3 libera el calcio almacenado en el RE (Fig. 3.15 R3). Por ejemplo, la estimulación de la glicogenólisis por la vasopresina en los hepatocitos y la contracción del músculo liso por la acetilcolina son realizados inducidos por estos segundos mensajeros.
2. Algunos receptores de esta familia se unen a otros tipos de proteína G trimérica que controlan la concentración intracelular del AMPc regulando la actividad de la adenilato ciclasa (Fig. 3.15 R4). El AMPc es uno de los segundos mensajeros que interviene en muchos procesos biológicos controlando la actividad de las PKA. Muchos mediadores extracelulares estimulan estos receptores, que incluyen las hormonas de naturaleza proteica como la TSH que estimula en la tiroides la secreción de hormonas tiroideas.
3. Otros receptores de esta familia controlan la concentración del GMPc donde este último sirve de segundo mensajero en lugar del AMPc. Por ejemplo, el óxido nítrico (NO) activa la guanilato ciclasa en las células de Purkinje utilizando este mecanismo de transducción.
4. Algunos receptores de esta familia controlan también indirectamente la actividad de algunos canales iónicos. Las PKA, la PKC, y las proteínas triméricas Gs y Gi pueden regular la actividad de canales iónicos.

Tercero, los receptores que tienen una actividad proteína quinasa tirosina específica (Fig. 3.15 RTK) controlan la actividad de otras proteínas efectoras fosforilándolas sobre sus tirosinas o también pueden activar a otras proteínas quinasas (Fig. 3.15 PK). Algunos factores de crecimiento como el EGF o el NGF tienen receptores con la actividad proteína quinasa tirosina específica.

Cuarto, los receptores que activan directamente proteínas quinasas tirosina específicas (Fig. 3.15 R5) o indirectamente otras proteínas quinasas inducen también la fosforilación de proteínas. Por ejemplo, la interleuquina-1 en los linfocitos T estimula una PKT. La insulina y la somatomedina C activan una proteína quinasa serina/treonina específica.

Quinto, los receptores que activan directamente o indirectamente proteínas fosfatasa que desfosforilan proteínas específicas (Fig. 3.15 R6). Un ejemplo de esta vía es el mecanismo de transducción utilizado por el TGF- $\beta$ .

Sexto, los receptores con actividad de proteína fosfatasa tirosina específica controlan también la actividad de proteínas efectoras desfosforilándolas (Fig. 3.15 RPTP). El ejemplo más conocido es el receptor CD45 de los linfocitos estimulado por un antígeno.

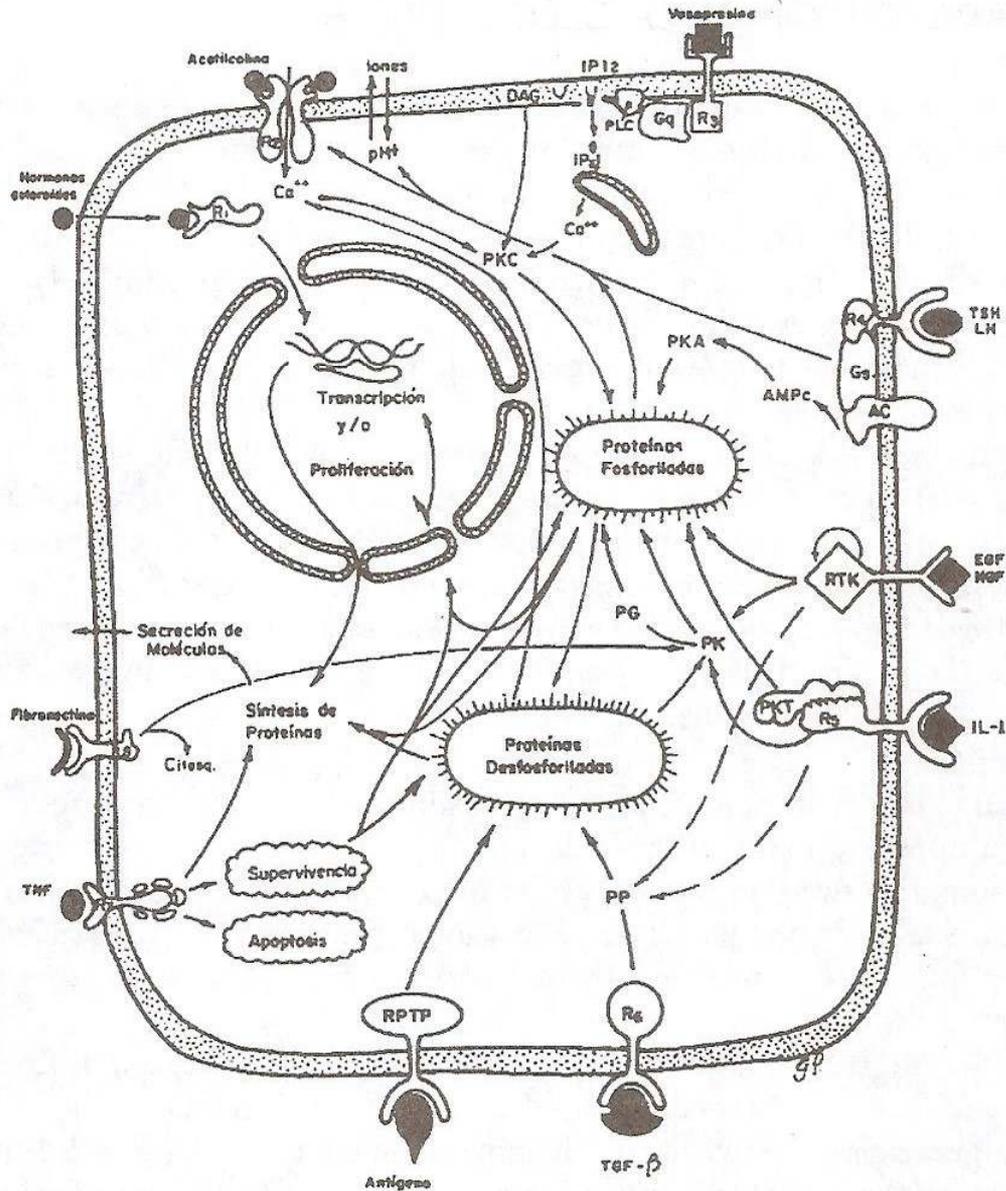
Séptimo, algunos receptores, cuando son estimulados, reclutan proteínas que activan proteasas citosólicas induciendo la muerte celular por apoptosis, o promueven la supervivencia celular (Fig. 3.15 R7). Por ejemplo, los receptores 1 de los TNF inducen la apoptosis o la supervivencia y los receptores 2 de los TNF promueven la supervivencia celular.

Octavo, hay que mencionar los receptores que se unen a algunos componentes de la matriz extracelular. Estos receptores además de colaborar en la organización del citoesqueleto, activan también proteínas quinasas (Fig. 3.15 R8). Por ejemplo, la fibronectina y la vitronectina se unen a sus receptores específicos y regulan la migración de las neuronas durante la embriogénesis.

La mayoría de los receptores de la membrana plasmática controlan la actividad de enzimas, activan o inhiben enzimas que a su turno pueden controlar la actividad de otras enzimas u otras proteínas efectoras. Así, de una manera muy compleja, controlan el metabolismo de una célula. Seguramente el control del metabolismo de una célula implica múltiples y diferentes mecanismos de retroalimentación (*feedback*) positivos y negativos (Ver 3.4).

La respuesta de la célula puede ser, por ejemplo, la secreción de una molécula, la síntesis de una proteína desde su transcripción en el núcleo hasta su maduración en el citoplasma, el crecimiento, la diferenciación, la división mitótica o la apoptosis.

La comunicación intercelular hace intervenir en la célula que recibe las señales una gran encrucijada de mecanismos moleculares que controlan las diferentes vías que van desde la afinidad del receptor hasta la intensidad de la respuesta final de la célula. Se están conociendo cada vez más estos mecanismos moleculares de la vida de los organismos multicelulares. Una de estas encrucijadas que mejor se conoce, porque fue la primera oncoproteína descrita y analizada, es el efecto de la activación de la PKTsrc. El gran espectro de actividad de la familia de las PKTsrc es una consecuencia de su habilidad de acoplarse a muchas vías de transducción mediadas por diferentes clases de receptores en una misma célula. Entre los eventos regulados por las PKTsrc en la célula se encuentran: la activación de sus proteínas blanco, la adhesión de la célula a la matriz extracelular y a otras células, la formación y desorganización de las placas de adhesión en la célula en cultivo, la formación de lamelipodios y el movimiento celular, la progresión del ciclo celular hacia la proliferación, la apoptosis, la diferenciación tisular, la activación de la transcripción de genes, la síntesis de proteínas, la secreción de moléculas y la oncogénesis.



**Figura 3.15. Resumen de los procesos de transducción.**

Los mediadores liposolubles se unen con sus receptores intracelulares activándolos. El complejo mediador-receptor se transloca al núcleo donde controla directamente la transcripción de genes. Otros mediadores, por su unión a sus receptores específicos sobre la membrana plasmática, controlan la actividad de canales iónicos o inician una cascada de reacciones que terminan fosforilando o desfosforilando proteínas efectoras. Todos estos mecanismos de transducción determinan una respuesta celular específica según el mediador y según el tipo y estado de una célula. **R1**: receptor citosólico; **R2**: canal iónico;  $Ca^{++}$ : iones de calcio; **R3**: receptor que activa proteína Gq trimérica; Gq: proteína G trimérica que activa la fosfolipasa C (PLC); IPI2: fosfoinositolbifosfato; DAG: diacilglicerol; IP3: inositoltrifosfato; PKC: proteína quinasa calcio dependiente; TSH: hormona tireotrópica, LH: hormona luteizante; **R4**: receptor que activa proteína Gs trimérica; Gs: proteína G trimérica que activa la adenilato ciclasa (AC); AMPc: adenosín monofosfato cíclico; PKA: proteína quinasa AMPc dependiente; **RTK**: receptor con actividad proteína quinasa tirosina específica; **R5**: receptor que activa proteína quinasa tirosina específica; PK: proteína quinasa; PG: proteína G con actividad GTPásica; TGF- $\beta$ : factor de crecimiento tumoral  $\beta$ ; **R6**: receptor que activa proteínas fosfatasas (PP); **RPTP**: receptor con actividad proteína fosfatasa tirosina específica; TNF: factor de necrosis tumoral; **R7**: receptor que recluta proteínas; **R8**: receptor de la matriz extracelular; Citesq: citoesqueleto.

### 3.4. ADAPTACIÓN DE LA CÉLULA DIANA

Las comunicaciones intercelulares son reguladas generalmente por los mecanismos que controlan la concentración del mediador químico por retroalimentación (*feedback*) negativa. Por ejemplo, cuando se estimula la secreción de TSH por la hipófisis, aumenta la secreción de las hormonas tiroideas T3 y T4. Estas hormonas, a su turno, inhiben la secreción de TRH hipotalámico que inhibe la secreción de TSH. A parte de este mecanismo que regula la concentración de un mediador, la célula diana puede también regular la amplitud de su respuesta a la misma concentración de un mediador.

La presencia o la ausencia de un receptor a un mediador específico ya es un primer nivel de control que está determinado durante la diferenciación celular. Pero existen también situaciones donde la expresión (o tasa de expresión) o la represión del gen de un receptor es inducida según las necesidades de una célula diferenciada. Por ejemplo, el estrógeno en el útero aumenta el número de receptores de sí mismo y de la progesterona; y la progesterona disminuye los mismos receptores también en el útero.

Cuando las células son expuestas a un estímulo fuerte por un período prolongado, su respuesta a este estímulo disminuye de manera reversible. Este proceso se denomina la **adaptación** o la **desensibilización** de la célula diana. La adaptación ocurre también por una retroalimentación negativa que opera con cierto retraso.

La adaptación de una célula diana a mediadores químicos puede ocurrir de varias maneras:

1. Cambio de la afinidad del receptor según la tasa de ocupación. En algunos casos existen receptores de baja y alta afinidad al mismo mediador.
2. En algunos casos resulta de una disminución gradual en el número de receptores específicos debido a la interiorización, a la digestión lisosomal del receptor y/o a la disminución de la tasa de síntesis. Estos procesos, generalmente, toma horas. Existen también situaciones donde se induce la síntesis o se acelera la tasa de síntesis de un receptor.
3. En otros casos resulta de una inactivación rápida y reversible del receptor que puede ocurrir en algunos minutos.
4. Y en otros, se debe a cambios en las proteínas involucradas en la transducción de la señal después de la activación del receptor, que puede tomar un tiempo intermedio.

#### 3.4.1. Cambio de afinidad del receptor ( $K_a$ ) según la tasa de ocupación

La unión de un mediador a su receptor puede influir a los receptores vecinos del mismo mediador, disminuyendo la afinidad de unión del segundo receptor al mediador y así progresivamente; este proceso se denomina **cooperatividad ne-**

**gativa.** La insulina es un ejemplo de este tipo de disminución de la afinidad progresiva de sus receptores. Se supone que puede ocurrir lo contrario, que la unión del primer ligando a su receptor aumenta la afinidad de los otros receptores al mismo ligando; este proceso sería **cooperatividad positiva**.

En otros casos existen dos tipos de receptores al mismo mediador con dos constantes de afinidad ( $K_a$ ) distintas. Los receptores de alta afinidad se unen a los mediadores cuando su concentración en el medio extracelular es baja, mientras que los receptores de baja afinidad se unen a los mediadores cuando su concentración es más alta y pasa cierto umbral.

### 3.4.2. Disminución gradual del número de receptores

El número de receptores varía según el mediador y según el tipo celular. Por ejemplo, se determinó un promedio de 500 receptores de TSH por tirocito; 5 000 receptores para la T3 y la T4 y 250 000 receptores de insulina por hepatocito; y como un récord 1'000 000 de receptores de acetilcolina por unión neuromuscular del aparato eléctrico del torpedo. De otra parte, la vida media de los receptores es generalmente de 5 a 6 horas, pero puede cambiar según las circunstancias.

La unión del mediador puede inducir la interiorización de los receptores por endocitosis mediada por receptores o endocitosis específica (Ver 4.1.3). De esta manera disminuye progresivamente el número de receptores sobre la superficie celular reduciendo también la sensibilidad de la célula diana al mediador, aunque su concentración siga alta en el medio extracelular. Este proceso se llama **regulación río abajo de los receptores** (*down regulation*) que produce una adaptación lenta de la célula a grandes concentraciones del mediador. Además, según las necesidades, la célula puede aumentar, disminuir o bloquear la síntesis de nuevos receptores. Por ejemplo, la síntesis de receptores de las partículas LDL es bloqueada cuando hay demasiado colesterol en la célula; cuando aumenta la insulina en la circulación disminuye el número de sus receptores; cuando disminuye la insulina en la circulación o en el medio de cultivo aumenta el número de sus receptores y aumenta también la vida media del receptor.

Generalmente los receptores interiorizados son reciclados a la membrana plasmática, pero según las necesidades de la célula los receptores pueden ser degradados en los lisosomas y así controlado el número de receptores en la superficie celular. Por ejemplo, los receptores del factor de crecimiento epidérmico (R-EGF) unidos al EGF son rápidamente endocitados y degradados en los lisosomas.

Este proceso de desensibilización ocurre también en las levaduras durante la reproducción sexual. La ferohormona de apareamiento (*mating factor*) secretada por una levadura se une al receptor de otra levadura. La respuesta de la levadura a

la ferohormona se hace vía proteína Gs y activación de la PKA, cuya transducción es parar la proliferación celular para prepararse a la conjugación. La levadura que ya recibió el estímulo de la ferohormona, no responde a nuevas ferohormonas del medio donde se encuentra, porque disminuye el número de receptores en la membrana plasmática.

### 3.4.3. Inactivación rápida del receptor

Si el receptor se activa por la fosforilación, será inactivado luego de la transmisión del mensaje por la defosforilación o viceversa. La proporción entre el receptor activo e inactivo depende de la rata o velocidad de la inactivación luego de unirse al mediador. Por ejemplo, los receptores de los factores de crecimiento que activan a las ERK (*extracellular signal-regulated protein kinases*) que fosforilan otras proteínas quinasas, son rápidamente defosforilados e inactivados, pero el tiempo aún corto del estado activo del receptor es suficiente para desencadenar la respuesta de su señalización.

Al lado de la fosforilación y defosforilación de las proteínas que intervienen en el mecanismo de control de sus actividades se han descubierto otras modificaciones covalentes y reversible de los receptores: metilación-desmetilación, acetilación-desacetilación, uridilación-desuridilación, adenilación-desadenilación, y las interconversiones de SS/SH, entre otras.

La adaptación rápida de la célula diana involucra frecuentemente una fosforilación del receptor inducida por el mediador. El ejemplo mejor conocido de este mecanismo de adaptación es el de los receptores adrenérgicos  $\beta_2$  que activan la adenilato ciclasa vía la proteína Gs. Cuando la célula es expuesta a altas concentraciones de adrenalina, los receptores pueden desensibilizarse en minutos por su fosforilación a través de dos mecanismos diferentes: primero, la PKA activada por el aumento del AMPc fosforila el receptor que se vuelve incapaz de activar la proteína Gs; y segundo, el receptor activado se vuelve el blanco de una proteína quinasa específica (llamada quinasa  $\beta$ -adrenérgica) que fosforila el receptor en su dominio intracitoplásmico. Este dominio fosforilado se une a una proteína inhibidora, llamada  $\beta$  *arrestin*, que bloquea la habilidad del receptor para activar a la proteína Gs. Este tipo de mecanismo donde un mediador desensibiliza sus propios receptores en la célula diana se llama **desensibilización homóloga**.

Pero la desensibilización de los receptores  $\beta_2$  ocurre también cuando la concentración del AMPc aumenta por cualquier otro tipo de mediador que activa la adenilato ciclasa. Este tipo de desensibilización donde un mediador desensibiliza la célula a otro tipo de mediador se llama **desensibilización heteróloga**.

Existe un mecanismo similar de adaptación en los fotoreceptores cuando la intensidad de la luz es alta. La rodopsina, cuando recibe la energía del fotón, cam-

bia su conformación y activa la proteína Gt trimérica (transducina), lo que disminuye la concentración del GMPc. Para recibir una nueva señal de luz, la rodopsina tiene que volver a su conformación inicial. Cuando la energía del fotón disminuye y no puede mantener la rodopsina activada, entonces el fotoreceptor vuelve a su conformación inactiva. Cuando aumenta mucho la intensidad de la luz en un momento determinado, se saturan todos los receptores (son activados); si llega una nueva sobre carga de luz seguida de la primera, la célula no responderá, debido a que sus receptores se encuentran en un estado inactivo, o estado de desensibilización homóloga. Así se explica la reacción generalizada de cerrar los ojos después de un estímulo muy fuerte de luz (un *flash*) hasta que pase el efecto en los ojos, o sea hasta que los fotoreceptores se vuelven otra vez sensibles. Se explica también porque “queda” por unos instantes la imagen recibida del destello tan fuerte.

#### 3.4.4. Cambios en los mecanismos de transmisión después del receptor

Aunque los mecanismos de adaptación mejor conocidos involucran cambios en los receptores, la adaptación puede resultar, *a priori*, de un cambio en cualquiera de los componentes de la señalización: las proteínas G triméricas, las proteínas quinasas, etc. Un ejemplo es el control de las proteínas G triméricas por las proteínas G monoméricas, o por las proteínas asociadas a las proteínas G en general (3.3.2.3.2, Fig. 3.11). La célula diana adapta los cambios que sufren las proteínas G, activarlas o inactivarlas según las circunstancias en las que ella se encuentra cuando recibe la señal extracelular.

La adicción a la morfina es una desensibilización que involucra las PKA y la adenilato ciclasa. En estos casos, las neuronas dianas se vuelven menos sensibles a la morfina de tal manera que el adicto requiere cada vez más dosis para sentir el mismo efecto. La célula adaptada, sin embargo, tiene receptores generalmente en niveles normales y funcionales. Los receptores morfínicos activan la proteína Gi, que inhibe la adenilato ciclasa causando una disminución del nivel del AMPc. Éste a su vez disminuye la actividad de la PKA y la fosforilación de varias proteínas y de canales iónicos, y como resultante disminuye la excitabilidad de la neurona. Las células mantenidas, *in vitro*, durante un período largo en presencia de altas concentraciones de morfina aumentan la expresión de los genes de las PKA y de la adenilato ciclasa para mantener sus concentraciones normales, aunque los receptores de la morfina sigan activados. Este proceso de desensibilización de la célula a la morfina ocurre cuando la persona se vuelve adicta y requiere dosis cada vez más altas. Cuando se retira la morfina de una célula adaptada, desaparece la inhibición de la morfina y los niveles de la PKA y la adenilato ciclasa aumentan causando un aumento anormal de los niveles de AMPc y de la actividad de las PKA.

Todo esto aumenta la excitabilidad de la neurona provocando en los adictos el síndrome de abstinencia bien conocido y muy grave, con ansiedad, transpiración, temblor, alucinación, etc.

### **3.5. PATOLOGÍA DE LAS COMUNICACIONES INTERCELULARES**

Existen varias enfermedades en el ser humano que son inducidas por disfunciones en las comunicaciones entre las células. Muchas de ellas afectan la cantidad y/o la calidad de un mediador, pero en esta sección se consideran únicamente algunas patologías que afectan a los receptores.

Los efectos de mediadores pueden ser alterados por una ausencia del receptor, por la disminución del número de receptores, por la disminución de la constante de afinidad del receptor que puede ser compensada eventualmente por un aumento de la concentración del mediador, por anticuerpos dirigidos contra los receptores, y por una modificación de la estructura del receptor. Muchas sustancias externas al organismo alteran también las comunicaciones intercelulares de un organismo afectando el funcionamiento de sus receptores.

#### **3.5.1. Ausencia del receptor**

La enfermedad hipercolesterolemia familiar (autosómica dominante) se caracteriza por la ausencia de receptores para las lipoproteínas de baja densidad (LDL). En estos casos, las moléculas de LDL no entran en las células por endocitosis mediada por receptores, lo que induce una síntesis exagerada de colesterol y de LDL. Los enfermos tienen niveles muy altos de colesterol y partículas LDL en la circulación sanguínea que producen arterioesclerosis en edades relativamente jóvenes (Ver 4.6.4).

En el caso de pseudohipoaldosteronismo, faltan los receptores para la aldosterona.

#### **3.5.2. Disminución del número de receptores**

En otra variedad de la enfermedad hipercolesterolemia familiar existen los receptores pero su actividad varía entre el 2% y el 25% de lo normal, según los casos, debido generalmente a una disminución del número de receptores sin modificación de su afinidad individual para las moléculas de LDL.

Otro ejemplo de disminución del número de receptores es la resistencia a la insulina en la obesidad. Las personas obesas con resistencia a la insulina no son diabéticas, sus glucemias al desayuno y posprandial son normales pero la insulinemia es 3 a 5 veces más alta que lo normal. Esta hiperinsulinemia se debe a

una reducción en el número de receptores para la insulina. La mayoría de diabéticos no insulino dependientes son obesos. En ellos también se constata una disminución en el número de receptores para la insulina. En estos dos últimos casos, una dieta hipocalórica de varias semanas aumenta el número de receptores para la insulina. La disminución de receptores a la insulina se encuentra también en casos de acantosis nigricans de tipo A.

### **3.5.3. Disminución de afinidad de los receptores**

En casos de resistencia a la insulina en la obesidad y la diabetes no insulino dependientes, además de una disminución del número de receptores se constata también una reducción de la afinidad de éstos para la insulina.

En algunos casos de hipercolesterolemia familiar se constata también una reducción en la afinidad de los receptores además de la disminución de su número.

Una disminución en la afinidad de los receptores se observan también en el caso del síndrome de Morris (testículos feminizantes) donde los receptores tienen una insensibilidad total a los andrógenos y en el caso de la ginecomastia en los varones (síndrome de Ravenstein) donde existe una insensibilidad parcial de los receptores a los andrógenos.

### **3.5.4. Anticuerpos antireceptores**

Una serie de anomalías en el funcionamiento de los receptores hacen parte de algunas enfermedades autoinmunes, es decir, enfermedades en las cuales el organismo desarrolla anticuerpos que se dirigen contra uno o más de sus propios constituyentes.

Las enfermedades autoinmunes por producción de anticuerpos dirigidos contra los receptores mejor conocidas son la resistencia a la insulina asociada a la acantosis nigricans de tipo B y a la ataxia telangiectasia, la diabetes juvenil, la miastenia grave y la enfermedad de Graves.

#### **3.5.4.1. Acantosis nigricans de tipo B**

La acantosis nigricans de tipo B es una enfermedad muy poco frecuente que se caracteriza por una resistencia a la insulina con hiperinsulinemia y con síntomas de una diabetes no controlada (poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida importante de peso). En muchos casos, pero no en todos, existen lesiones hiperqueratósicas e hiperpigmentadas de pliegues de la piel, llamada acantosis nigricans. En la sangre de estos pacientes existen anticuerpos (IgG) que se unen a los receptores de insulina y así impiden la unión de la insulina a sus receptores.

### **3.5.4.2. Ataxia telangiectasia**

Esta enfermedad se caracteriza por una ataxia progresiva, telangiectasias, diversas anomalías inmunitarias debidas a una disgenesia tímica, una hipersensibilidad a los tumores y una diabetes resistente a la insulina. La resistencia a la insulina se debe a los anticuerpos de tipo IgM dirigidos contra los receptores de insulina.

### **3.5.4.3. Diabetes juvenil insulino dependiente (Diabetes tipo 1)**

Este tipo de diabetes se debe a una lesión autoinmunitaria que afecta a las células que secretan la insulina, las células  $\beta$  del islote de Langherhans. Se observa, en algunos casos, la presencia de anticuerpos dirigidos contra los receptores de la insulina al inicio de la enfermedad.

### **3.5.4.4. Miastenia grave**

La miastenia grave es una enfermedad autoinmunitaria caracterizada por una debilidad y una fatigabilidad anormal de los músculos voluntarios. La anomalía está localizada en la unión neuromuscular. Aunque los receptores de la acetilcolina sean normales funcionalmente, su número es reducido en un 70% a 90% de lo normal. Anticuerpos (IgG) dirigidos contra los receptores de la acetilcolina se detectan en 90% de los pacientes de miastenia grave, y en 100% de los que tienen un timoma e hiperplasia tímica. Estos anticuerpos determinan una degradación más rápida de los receptores, disminuyendo fuertemente su número en la membrana plasmática de las células musculares en las uniones neuromusculares.

La transferencia pasiva de estos anticuerpos se observa en los recién nacidos de madres miasténicas. Alrededor de 1/6 de bebés recién nacidos presentan los síntomas de miastenia grave, por el traspaso de los anticuerpos de la madre al feto por medio de la placenta. En estos casos, la enfermedad persiste durante las primeras 3 a 6 semanas del nacimiento, lo que corresponde al período de eliminación de los anticuerpos maternos.

### **3.5.4.5. Enfermedad de Graves (o de Basedow)**

El suero de la mayoría de los pacientes que tienen la enfermedad de Graves contiene anticuerpos (IgG) dirigidos contra los receptores de la TSH de la membrana de las células tiroideas. Esos anticuerpos se unen a los receptores de la TSH y estimulan la producción de hormonas tiroideas de manera autónoma, provocando un hipertiroidismo. Como en el caso de la miastenia grave, se observa el traspaso transplacentario de los autoanticuerpos, determinando una tireotoxicosis neonatal.

### 3.5.5. Modificación de la estructura de los receptores

La secuencia de aminoácidos del receptor del EGF es muy similar a la del producto del oncogen *erb-B* del virus de la eritroblastosis aviaria. La proteína *erb-B* es una forma truncada del receptor del EGF: contiene solamente la parte transmembranosa y la parte TK intracelular, pero no la parte extracelular que se une al EGF. Se postuló que la proteína *erb-B* puede ser activa, de manera autónoma, sin estimulación del EGF.

En algunos casos de tumores en el ser humano se constata una producción alta de los receptores para EGF. Queda por verificar en qué medida la producción modificada o amplificada de receptores para el EGF interviene en el proceso de transformación celular.

### 3.5.6. Sustancias externas al organismo que afectan los receptores

Muchas moléculas que no existen normalmente en un organismo se unen a los receptores celulares cuando entran en él y estimulan o inhiben la actividad de esos receptores.

Los efectos de muchos medicamentos (sustancias existentes en la naturaleza o fabricadas artificialmente), de muchas drogas (morfina, nicotina, cocaína, etc), y de muchos tóxicos (toxinas de microbios, venenos, gases de combate) se deben a sus uniones a los receptores de las células. Cuando una sustancia externa al organismo estimula el receptor de un mediador químico se le denomina **agonista** de este mediador y cuando inhibe el receptor se le denomina **antagonista** del mediador.

En el caso de la presencia del vibrión del cólera en el intestino, el microbio no entra en las células pero secreta una toxina que se une a un receptor y mantiene activa de manera prolongada la adenilato ciclasa estimulando así la producción no regulada del AMPc intracelular, lo que provoca una secreción muy abundante de líquido a la luz intestinal que se manifiesta como una diarrea.

El curare se une a los receptores de acetilcolina en las uniones neuromusculares y produce una parálisis *flaccida* (no deja actuar la acetilcolina), mientras que la  $\alpha$ -bungarotoxina (veneno de serpiente) se une a los mismos receptores y los hiperestimula produciendo una parálisis *espástica*.

En muchos casos, los efectos de sustancias externas al organismo se conocían empíricamente desde hace mucho tiempo, como es el caso de la morfina, y apenas en las últimas décadas se descubrieron sus receptores y sobre todo sus mediadores químicos dentro del organismo. De esta manera, se descubrieron varios

neuropéptidos que se unen a los mismos receptores que la morfina y se denominaron en consecuencia endorfinas como si fueran morfina endógenas.

El conocimiento de los mecanismos de comunicaciones intercelulares, de los receptores, de los mediadores químicos, y la fabricación de sustancias agonistas y antagonistas produjeron una revolución no solamente en la comprensión de los mecanismos moleculares de procesos biológicos y de fisiopatología de las enfermedades, sino también una revolución en la farmacología.

### 3.6. BIBLIOGRAFÍA

- Barres, B.A., L.L. Chun & D.P. Corey. *Ion channels in vertebrate glia*. Annu. Rev. Neurosci., 13: 441 -474, 1990.
- Brake, A.J. & D. Julius. *Signaling by extracellular nucleotides*. Annu. Rev. Cell Biol., 12: 519 - 541, 1996.
- Brown, M. & J. Goldstein. *Les récepteurs des LDL, le cholesterol et l'athérosclérose*. Pour la Science, (1): 62 - 71, 1985.
- Bourne, H.R., D.A. Sanders & F. McCormick. *The GTPase superfamily: conserve structure and molecular mechanism*. Nature, 349: 177 - 126, 1996.
- Carmichael, W.W. *The toxins of cyanobacteria*. Sci.Ame., Enero, 70 - 86, 1994.
- Changeux, J-P. *Chemical signaling in the brain*. Sci. Ame., Noviembre: 58 - 62, 1993.
- Cobb, M.H. & E.J. Goldsmith. *How MAP kinases are regulated*. J. Biol. Chem., 270: 14843-14846, 1995.
- Dudai, Y. *The neurobiology of memory*. Ed. Oxford University Press, New York, 1989.
- Fantl W.J., D.E. Johnson & L.T. Williams. *Signalling by receptor tyrosine kinases*. Annu. Rev. Biochem., 62: 453-481, 1993.
- Fischer, E.H., H. Charbonneau & N.K. Tonks. *Protein tyrosine phosphatases: A diverse family of intracellular and transmembrane enzymes*. Science, 25: 401 - 406, 1991.
- Goldstein, J.L. & M. Brown. *Familial hypercholesterolemia*. In: *The metabolic basis of inherited disease*. Eds: Wyngaarden J.B., J.B. Frederickson, J.L. Goldstein & M.S. Brown. McGraw-Hill, New York, 1983.
- Greenwald, I. & G.M. Rubin. *Making a difference: the role of cell-cell interactions in establishing separate identities for equivalent cells*. Cell, 68: 271-281, 1992.
- Grey, H.M., A. Sette & S. Buus. *How T cells see antigen*. Sci. Ame., Noviembre: 38 - 46, 1989.
- Hanks, S.K., A.M. Quinn & T. Hunter. *The protein kinase family: conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains*. Science, 241: 42 - 52, 1988.
- Hao Lo, S. & L. Bo Chen. *Focal adhesion as a signal transduction organelle*. Cancer Metastasis Rev., 13: 9 - 24, 1994.
- Inagaki, N., M. Ito, T. Nakano & M. Inagaki. *Spatiotemporal distribution of protein kinase and phosphatase activities*. TIBS. Special Issue, 19: 122 - 127, 1994.

- Islam, M.N., R. Briones-Urbina, G. Bako & N.R. Farid. *Both TSH and Thyroid-stimulating antibody of Grave's disease bind to an Mr 197.000 holoreceptor*. *Endocrinology*, 113: 436 - 438, 1983.
- Jaffrey, S.A. & S.H. Snyder. *Nitric oxide: a neural messenger*. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 11: 417 - 440, 1995.
- Jan L.Y. & Y.N. Jan. *Receptor-regulated ion channels*. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 9: 155 - 160, 1997.
- Jones, D.T. & R.R. Reed. *Golf: an olfactory neuron specific-G protein involved in odorant signal transduction*. *Science*, 244:790 - 791, 1989.
- Juliano, R.L. & S. Haskill. *Signal transduction from the extracellular matrix*. *J. Cell Biol.* 120 (3): 577 - 585, 1993.
- Kimble, J. & P. Simpson. *The lin-12/Notch signaling pathway and its regulation*. *Annu. Rev. Cell Bio.*, 13: 333 - 361, 1997.
- Koelle, M.R. *A new family of G-protein regulators -the RGS proteins*. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 9: 143 - 147, 1997.
- Lacal, J.C. *Comunicación intercelular. Proteína G*. *Inv. Ciencia.*, abril: 35 - 36, 1995.
- Lanzavecchia, A. *Identifying strategies for immune intervention*. *Science*, 260: 937 - 943, 1993.
- Lowy, D.R. & B.M. Willumsen. *Function and regulation of ras*. *Annu. Rev. Biochem.*, 62: 851 - 891, 1994.
- Marshall, Ch.J. *Ras effectors*. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 8: 197 - 204, 1996
- Mayor, F. & C. Giménez. *Receptorpatías*. *Inv. Ciencia*, 126: 10 - 19, 1987.
- Neel, B.G. & N.K. Tonks. *Protein tyrosine phosphatases in signal transduction*. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 9: 193 -204, 1997.
- Nishizuka, Y. *The family of protein kinase C for signal transduction*. *JAMA*, 262 (6) 1826 - 1833, 1989.
- Rasmussen, H. *The cycling of calcium as an intracellular messenger*. *Sci. Ame.*, Octubre, 44 - 51, 1989.
- Robinson, M.J. & M.H. Cobb. *Mitogen-activated protein kinase pathways*. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 9: 180-186, 1997.
- Scharenberg, A.M. & J-P. Kinet. *The emerging field of receptor-mediated inhibitory signaling: SHP or SHIP*. *Cell*, 87:961 - 964, 1996.
- Streuli, M. *Protein tyrosine phosphatases in signaling*. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 8: 182 - 188, 1996.
- Thomas, S.A. & J.S. Brugge. *Cellular functions regulated by SRC family kinases*. *Annu. Cell Dev. Biol.*, 13: 513 - 609, 1997.
- Toker, A. *The synthesis and cellular roles of phosphatidylinositol 4,5-biphosphate*. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 10:254 -261, 1998.
- Yildiz, I. *Proliferation des cellules corticosurrenaliennes in vivo et in vitro*. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de Licencié en Sciences Médicales,.Universidad Católica de Lovaina, Bruselas, 1986.
- Yuan, L. *Transducing signals of life and death*. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 9: 247 -251, 1997.