

SEÑALIZACIÓN CELULAR

Mónica Giraldo, Enf. MSc, PhD¹, Sergio Parra, MD, MSc², Mauricio Rojas, Biol, MSc, Dr.Sci³

¹Grupo de Inmunodeficiencias Primarias - Corporación Biogénesis

²Departamento de Farmacología y Toxicología.

³Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética.
Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

Presentación

En este capítulo se pretende resaltar la importancia de los mecanismos de comunicación celular en el contexto de los organismos multicelulares, así como caracterizar el mecanismo de acción de algunos de ellos.

Elementos de la señalización celular

En los organismos multicelulares las células se organizan para formar tejidos, órganos y sistemas con funciones específicas que están coordinadas para garantizar el comportamiento armónico de todo el individuo. La comunicación celular es el proceso mediante el cual las células intercambian mensajes químicos que modulan el funcionamiento intracelular y dan lugar a respuestas específicas tendientes a promover la adaptación de la totalidad del organismo en un medio ambiente cambiante (figura 1).

Los mensajeros

La comunicación celular usualmente involucra señales químicas, no obstante, los estímulos eléctricos y ópticos también pueden activar vías de señalización celular. No todas las sustancias químicas que interactúan con una célula son moléculas de señalización, en esta categoría se considerarán únicamente aquellos mensajeros capaces de

modular una función celular: apertura de canales iónicos, exocitosis, fagocitosis, síntesis proteica, división celular y apoptosis, para citar algunos ejemplos. Con respecto a su acción, los mensajeros pueden ser agonistas o antagonistas. En el primer caso son sustancias químicas que promueven una función celular, mientras que en el segundo son sustancias inhibitorias. Cualquier mensajero podrá tener una acción total o parcial con respecto a la función que regula.

Los mensajeros químicos son **endógenos** cuando se sintetizan en el propio organismo, como por ejemplo hormonas, factores de crecimiento, citoquinas y neurotransmisores. Mientras que los mensajeros **exógenos** tiene origen externo al organismo como por ejemplo los xenobióticos o medicamentos, las toxinas y los venenos. Con base en su naturaleza química, los mensajeros pueden ser proteínas, péptidos, aminoácidos, nucleótidos, derivados de ácidos grasos, esteroides, vitaminas, retinoides y pequeñas moléculas inorgánicas como el óxido nítrico (NO).

Los receptores

Las moléculas de señalización celular interactúan con la célula blanco mediante de receptores específicos. Células de diferente tipo expuestas al mismo mensajero desplegarán respuestas distintas de acuerdo con los receptores

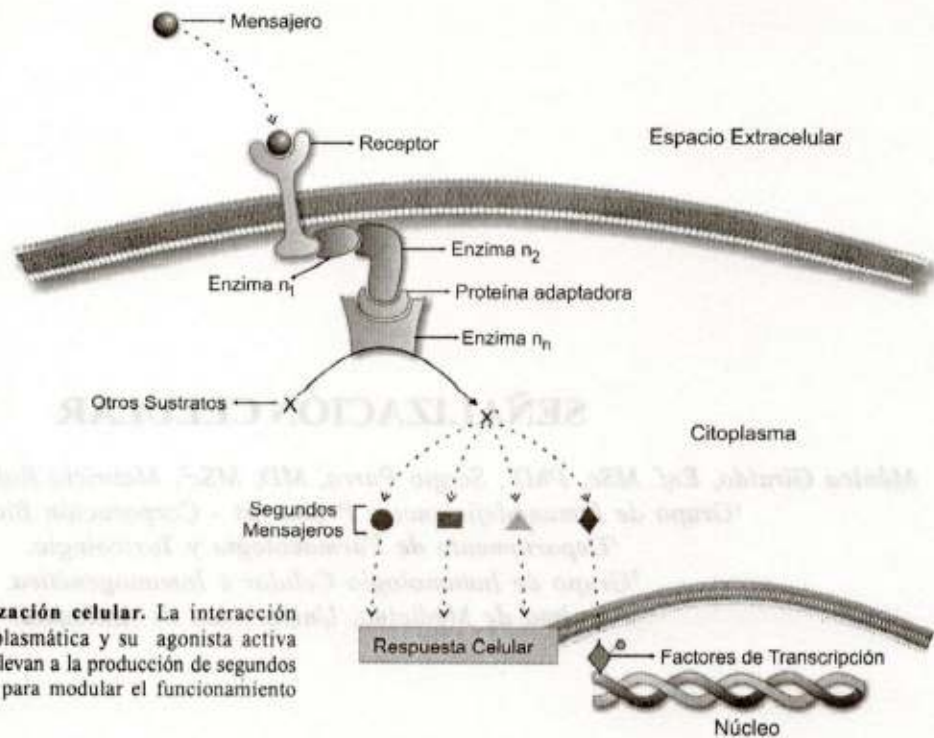


Figura 1. Elementos de la señalización celular. La interacción entre un receptor de la membrana plasmática y su agonista activa eventos enzimáticos secuenciales que llevan a la producción de segundos mensajeros químicos con capacidad para modular el funcionamiento celular.

que posean. De manera similar, una célula puede expresar diversas clases de receptores para un mismo mensajero produciéndose, en consecuencia, respuestas diferentes.

Un receptor es aquella macromolécula celular que cumple con funciones de reconocimiento y transducción de un estímulo; es decir que une selectivamente un mensajero y convierte esta información en una señal que la célula puede interpretar para generar un cambio de su estado previo, ya sea regulación de la transcripción del ADN, modulación de la acción de proteínas o cambio en la permeabilidad de sus membranas, entre otras respuestas. Por esta razón, las interacciones mensajero-receptor son indispensables para el inicio de diversos eventos bioquímicos intracelulares.

Con base en su ubicación, los receptores pueden ser **intracelulares**, localizados bien sea en el citosol o en el núcleo; en ambos casos los mensajeros químicos son de naturaleza lipofílica lo que permite su difusión libre a través de la membrana plasmática para alcanzar el receptor. Los receptores también pueden estar situados en la **membrana plasmática**, en este caso son proteínas integrales con un dominio extracelular de unión al mensajero, uno o varios dominios transmembranales y un dominio intracelular que se acopla a los subsiguientes elementos celulares involucrados en las cascadas de señalización celular. Los mensajeros químicos que se unen a este tipo de receptores usualmente son hidrofílicos aunque también

pueden ser lipofílicos. En términos funcionales, los receptores de membrana se clasifican dependiendo de la vía de señalización celular que despliegan, así: Receptores acoplados a proteínas G triméricas, receptores tipo canal iónico y receptores con actividad enzimática.

Las enzimas

Los eventos de transducción de señales intracelulares requieren la participación de una amplia variedad de enzimas, entre ellas quinasas es decir que adicionan grupos fosfato a sustratos proteicos, fosforilasas o sea que transfieren grupos fosfato a sustratos no proteicos, fosfatasa capaces de hidrolizar grupos fosfato presentes en sustratos proteicos, fosfodiesterasas que hidrolizan los grupos fosfato de moléculas no proteicas, GTPasas que hidrolizan GTP unido al sustrato, ciclasas que convierten moléculas lineales en estructuras cíclicas, entre otros ejemplos. Todas las enzimas participantes en vías de señalización modulan la acción de moléculas necesarias en etapas posteriores de la comunicación celular.

La actividad enzimática puede regularse por mecanismos tan diversos como:

La unión de moléculas efectoras en regiones específicas de la enzima induce cambios conformacionales, es decir que se originan variantes alostéricas que difieren en su afinidad y capacidad catalítica sobre el sustrato.

La unión reversible de moléculas activadoras o inhibitoras que promueven la disociación de subunidades proteicas, la fosforilación, la desfosforilación, la degradación o la síntesis de novo de la enzima.

La fosforilación de enzimas por proteínas quinasas es una de las estrategias más ampliamente utilizadas por las células eucarióticas para activar o desactivar la actividad catalítica y consecuentemente la señalización celular. Los principales sitios de fosforilación son los residuos de tirosina, serina y treonina y ocasionalmente asparagina o histidina. Los grupos fosfato que se transfieren durante la fosforilación de aminoácidos altamente conservados permite la formación de una red de puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas entre regiones de la cadena polipeptídica, lo cual induce cambios conformacionales en la proteína que dejan sitios disponibles para la unión de alta afinidad otros sustratos celulares. La interacción del grupo fosfato con la tirosina, la serina y la treonina a temperatura ambiente y pH neutro es muy estable y la velocidad de hidrólisis espontánea es lenta, por lo tanto, se necesitan fosfatasas específicas para remover el grupo fosfato.

La maduración de proteínas por proteólisis es otro mecanismo que permite que la actividad enzimática sea regulada temporal y espacialmente. En las células de mamíferos existen dos vías principales de proteólisis, la primera es inespecífica y tienen lugar en los lisosomas, donde las enzimas degradan aquello que ingresa a la célula por vía endocítica, usualmente se trata de moléculas extrañas. El otro mecanismo de proteólisis es selectivo y tiene un papel importante en la digestión de proteínas desnaturaladas o defectuosas, degradación de receptores de membrana, enzimas y proteínas de señalización celular, en la reparación del ADN, en el procesamiento de antígenos y en el ensamblaje de los ribosomas. El mecanismo de proteólisis específica mejor caracterizado a la fecha acontece en el proteasoma, que es un complejo macromolecular conformado por las subunidades 19S y 20S, dispuestas en cuatro anillos con una cavidad central, en la que ocurre la acción catalítica sobre proteínas conjugadas con una o más moléculas de ubiquitina. La ubiquitina es una proteína evolutivamente conservada entre los eucariotes, puede estar libre o covalentemente unida a proteínas blanco, lo cual constituye un marcaje para su degradación en el proteasoma, en tanto que las moléculas de ubiquitina quedan disponibles para una nueva conjugación.

Las proteínas adaptadoras

Son moléculas proteicas encargadas de establecer puentes funcionales entre diferentes componentes de una vía de

señalización particular, facilitan la localización de sustratos enzimáticos y además promueven el reclutamiento de moléculas en compartimentos subcelulares específicos.

Los segundos mensajeros

La transmisión de las señales celulares requiere interacciones del tipo proteína-proteína como las que ocurren, por ejemplo, entre mensajeros proteicos y sus receptores, enzimas y sustratos, enzimas y proteínas adaptadoras; sin embargo, la conexión entre un mensajero y la respuesta celular que cambia su actividad metabólica o la expresión de un gen casi siempre la establecen una serie de compuestos conocidos como segundos mensajeros; sustancias de bajo peso molecular que se originan intracelularmente a partir de procesos enzimáticos y que poseen una función efectora sobre otras moléculas. Entre los segundos mensajeros más conocidos pueden señalarse el diacil glicerol (DAG), el fosfatidil inositol (PI), el calcio (Ca^{++}), el adenosín monofosfato cíclico (cAMP) y el guanosín monofosfato cíclico (cGMP), entre otros. La activación de los segundos mensajeros depende del tipo de receptor que participe y de las moléculas que se acoplen a la vía de señalización. No obstante, diferentes vías de señalización pueden conllevar la producción de segundos mensajeros similares.

La señalización celular ocurre en forma secuencial a manera de eventos en cascada, así es como un mensajero activa un receptor y este activa enzimas, que activan a otras enzimas o a proteínas adaptadoras, se promueve la formación de segundos mensajeros y se produce un cambio en el funcionamiento celular. Es decir que una primera molécula activa una segunda que a su vez es activadora de la siguiente y así sucesivamente hasta que se produzca una respuesta celular específica. Adicionalmente, la transducción de una señal implica su amplificación, es así como a partir de un mensajero inicial pueden producirse cientos de moléculas efectoras puesto que cada etapa de la cascada involucra más moléculas que la etapa precedente. El mecanismo de acción en cascada de las vías de señalización celular es válido tanto durante la activación como en la etapa de regulación de la respuesta.

Tipos de comunicación celular

La producción de los mensajeros químicos es una función celular específica, genéticamente determinada y temporalmente regulada. Una vez que se sintetizan, las moléculas de señalización se pueden almacenar por períodos de tiempo variables en vesículas desde donde se exportan, en respuesta a un estímulo, al espacio extracelular

por mecanismos de difusión o de exocitosis, aunque algunas pueden permanecer ancladas a la membrana celular. Posteriormente, el mensajero debe distribuirse en los tejidos para garantizar el contacto directo con la célula blanco, es así como para la comunicación entre células vecinas o adyacentes, la difusión en el espacio intersticial es un mecanismo apropiado para la distribución del mensajero, en tanto que resulta ineficiente para la distribución de moléculas que median la comunicación entre células ubicadas a más de 1 mm de distancia; en estos casos, los mensajeros viajan por la circulación sanguínea o linfática hasta la célula blanco. Con base en la distancia de acción del mensajero la comunicación celular puede clasificarse así:

Señalización endocrina: En este caso los mensajeros se denominan hormonas y se producen en glándulas especializadas, desde donde se liberan por exocitosis al medio extracelular. Las hormonas se distribuyen por el sistema sanguíneo o linfático hacia todos los tejidos del organismo, de tal forma que prácticamente todas las células se exponen a su acción, sin embargo, la respuesta solo ocurre en aquellas que expresen los receptores específicos (figura 2).

Señalización paracrina: Tiene lugar entre células vecinas. El mensajero se secreta desde la célula productora y se dispersa en el espacio intersticial hasta unirse a los receptores específicos presentes en la célula blanco. Algunas formas especiales de este tipo de comunicación son la **señalización sináptica**, típica entre las células del sistema nervioso y la **señalización yuxtacrina** que

ocurre cuando el mensajero permanece anclado a la membrana plasmática de la célula productora y de esta forma interactúa con los receptores ubicados en la membrana de la célula blanco adyacente. La **señalización intracitoplasmática** sucede por el paso de moléculas pequeñas, tales como iones y algunos segundos mensajeros a través de las uniones celulares en hendidura (*gap junction*), lo cual promueve el acoplamiento eléctrico y bioquímico de tales células (figura 3).

Señalización autocrina: Es la comunicación entre células del mismo tipo, es decir que el ligando que se libera afecta la función de las células del mismo tipo mediante la interacción con receptores presentes en ellas (figura 4).

Las células poseen diferentes vías de señalización, las cuales pueden ser complementarias, redundantes o incluso antagonicas. La activación de una cascada de señalización específica depende el mensajero, del receptor involucrado y del tipo de célula. Para efectos de orden práctico, a continuación se clasifican algunas de las vías de señalización con base en el tipo de receptor involucrado.

Receptores acoplados a proteínas G triméricas

A la fecha se han descrito más de mil receptores de este tipo, que interactúan con una amplia variedad de mensajeros, entre ellos glicoproteínas, aminas, alcaloides, luz y olores. Estructuralmente poseen un dominio extracelular

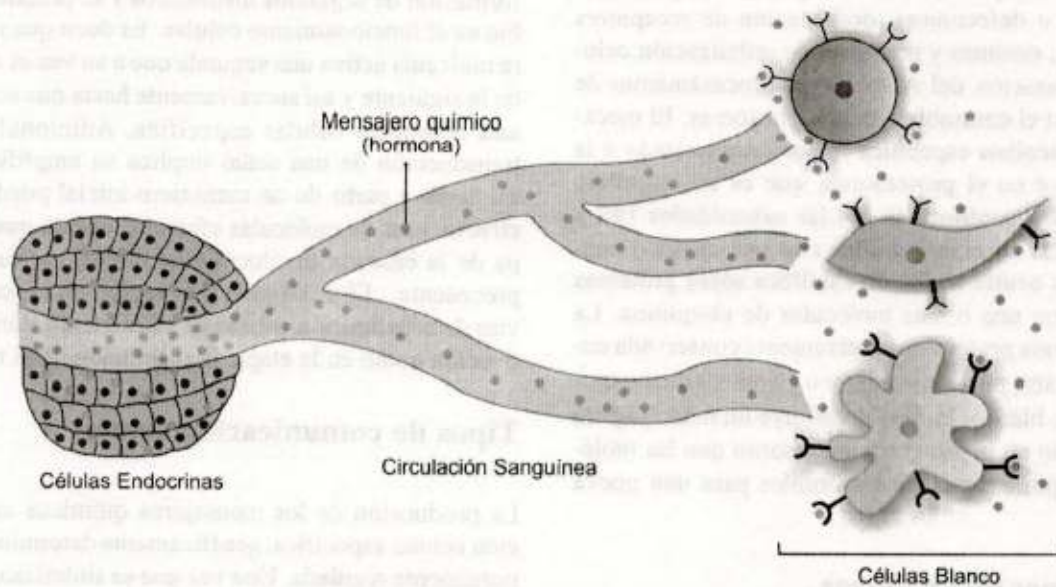
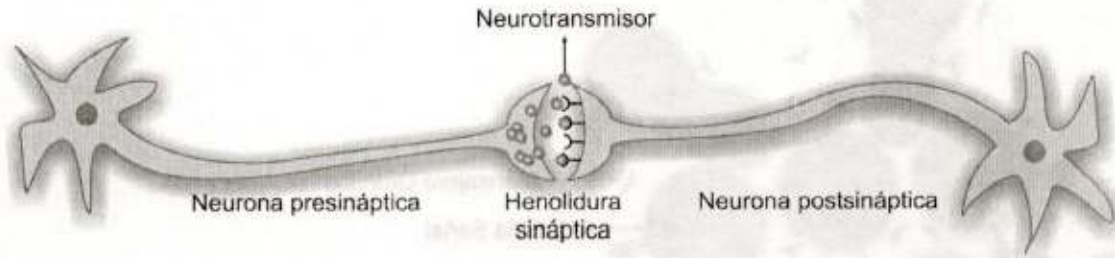
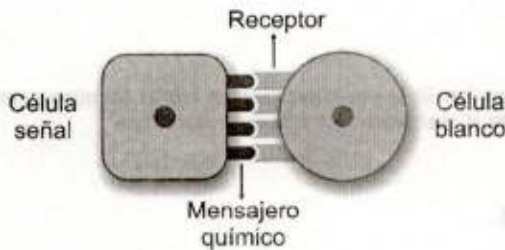


Figura 2. **Señalización endocrina.** También se denomina señalización hormonal. Los mensajeros químicos se sintetizan en células endocrinas y desde allí se exocitan hacia la circulación sanguínea por la que se distribuyen hasta las células blanco en las que se expresen los receptores específicos.

A) Sináptica o neuronal



B) Yuxtacrina



C) Intracitoplasmática

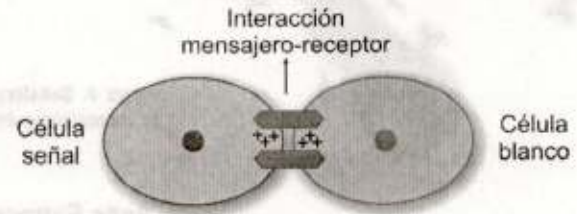


Figura 3. **Señalización paracrina.** Es el tipo de comunicación que ocurre entre células vecinas sin que el mensajero se distribuya por el torrente sanguíneo y se pueden hacer algunas diferenciaciones. **A.** La comunicación sináptica es la comunicación propia de las células del sistema nervioso. **B.** La comunicación yuxtacrina es la comunicación que tiene lugar entre células adyacentes pero el mensajero permanece unido a la membrana plasmática de la célula productora. **C.** La comunicación intracitoplasmática tiene lugar entre células adyacentes a través de uniones intercelulares por las cuales se transfiere el mensajero desde la célula productora hacia el citoplasma de la célula blanco.

amino terminal de reconocimiento del mensajero, un dominio transmembranal con siete hélices alfa de aminoácidos hidrofóbicos, tres asas intracelulares, tres asas extracelulares y un extremo carboxilo terminal intracelular que se asocia funcionalmente con un complejo molecular conocido como proteína G (figura 5).

Las proteínas G, deben su nombre a la capacidad de unir nucleótidos de guanina, de tal manera que forman enlaces estables con su sustrato, el GTP, y con su producto, el GDP. Actúan como interruptores moleculares en la transducción de señales provenientes de la membrana celular hacia proteínas intracelulares para promover una respuesta biológica determinada. Estas proteínas están constituidas por tres cadenas proteicas diferentes o subunidades (α , β , γ), de ahí su carácter heterotrimérico. Cada una de las subunidades es el producto de un gen diferente; hasta el momento se han caracterizado 20 cadenas α , 6 cadenas β y 12 cadenas γ . Teóricamente existen miles de combinaciones posibles entre ellas y por consiguiente de proteínas G; sin embargo, la clasificación funcional vigente para estas proteínas se basa en la subunidad α así: G_s (α_s, α_{olf}), G_i ($\alpha_i, \alpha_o, \alpha_{B, z, \alpha_i}$), G_q (α_q, α_{11}) y G_{12} (α_{12}, α_{13}). Algunos tipos de proteínas G son específicos de tejidos en tanto que otras tienen una distribución ubicua en el organismo.

Los heterotrimeros de la proteína G se asocian a la cara citosólica de la membrana plasmática por medio de residuos lipídicos. En condiciones de reposo, la subunidad α tiene GDP acoplado; cuando el mensajero se une al receptor, este sufre cambios conformacionales que probablemente afectan las hélices transmembranales y se ponen al descubierto sitios para la interacción física entre el dominio citoplasmático del receptor y la proteína G asociada, permitiendo que la subunidad α intercambie el GDP por GTP ampliamente disponible en el citosol. Una vez activa, la proteína G se separa del receptor y se produce la disociación entre la subunidad α y el dímero $\beta\gamma$. Las subunidades independientes difunden, adheridas a la superficie interna de la membrana plasmática, hasta acoplarse con la proteína efectora, la cual desencadena diversas funciones de transmisión de la información a una serie de mensajeros que a su vez pasan la señal a moléculas efectoras finales (figura 6).

Existen varios mecanismos para regular la actividad de las proteínas G, entre los que se encuentra la función enzimática intrínseca tipo GTPasa de la subunidad α , de tal forma que luego de transcurridos algunos segundos, el GTP unido a la cadena α se hidroliza a GDP y esto permite la reasociación del heterotrímico y deja el sistema disponible para una nueva estimulación.

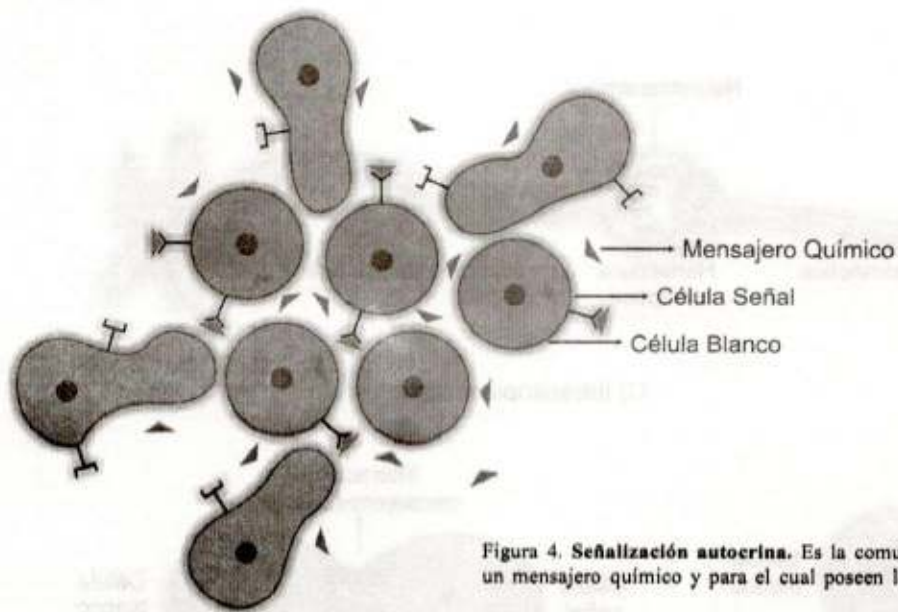


Figura 4. **Señalización autocrina.** Es la comunicación entre células del mismo que producen un mensajero químico y para el cual poseen los receptores específicos.

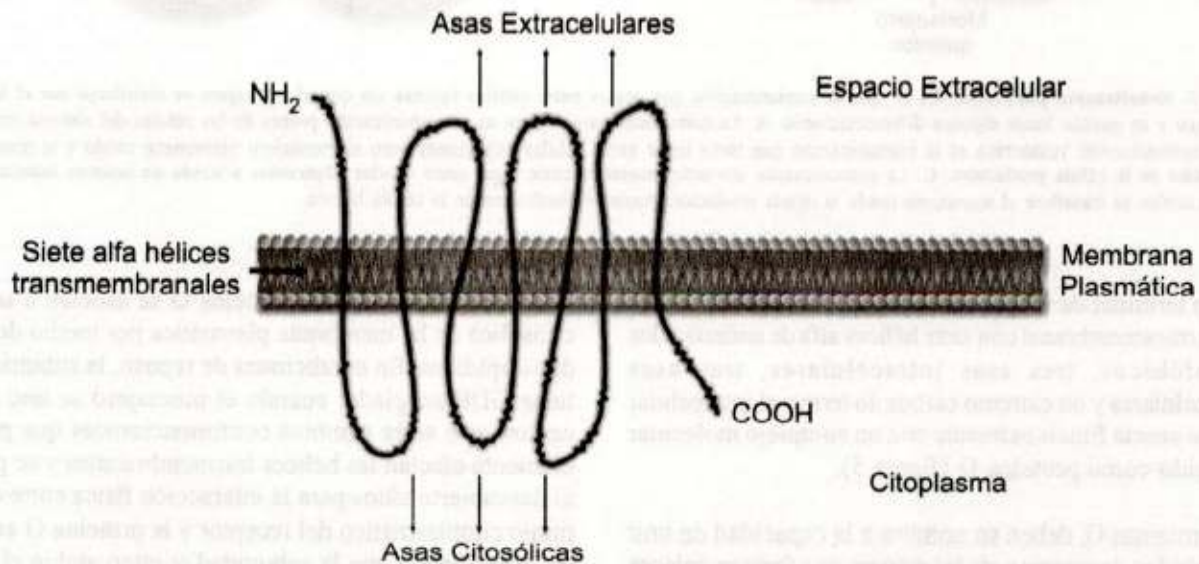


Figura 5. **Representación esquemática de un receptor acoplado a proteínas G heterotriméricas.** Es receptores se ubican en la membrana plasmática, poseen siete dominios transmembrana con aminoácidos hidrofóbicos altamente conservados. Las asas extracelulares sirven para la unión con el mensajero en tanto que las citosólicas contribuyen a la interacción con las proteínas G heterotriméricas.

Tipos de proteínas G heterotriméricas

Receptores acoplados a proteína G_s

La subunidad α de las proteínas G_s cuando se disocia del dímero $\beta\gamma$ se aproxima a la enzima adenilato ciclasa, una proteína de la membrana plasmática con un dominio catalítico citosólico que convierte ATP en cAMP. El cAMP tiene múltiples blancos moleculares. Uno de ellos es la proteína quinasa dependiente de cAMP (PKA). Esta enzima es un tetrámero con dos subunidades inhibitoras y

dos subunidades catalíticas que se activan una vez se disocian las inhibitoras en respuesta a la unión del cAMP a la proteína. La PKA tiene acción quinasa y fosforilasa. La actividad quinasa puede ocurrir incluso sobre otras moléculas de PKA, contribuyendo de esta manera a la amplificación de la señal. Aunque la mayor parte de las moléculas de PKA activa permanecen en el citoplasma, algunas pueden translocarse hasta el núcleo donde fosforilan a sustratos específicos, como por ejemplo la proteína de unión del elemento de respuesta al cAMP (CREB). Una vez CREB está fosforilado puede acoplarse a CBP300 y

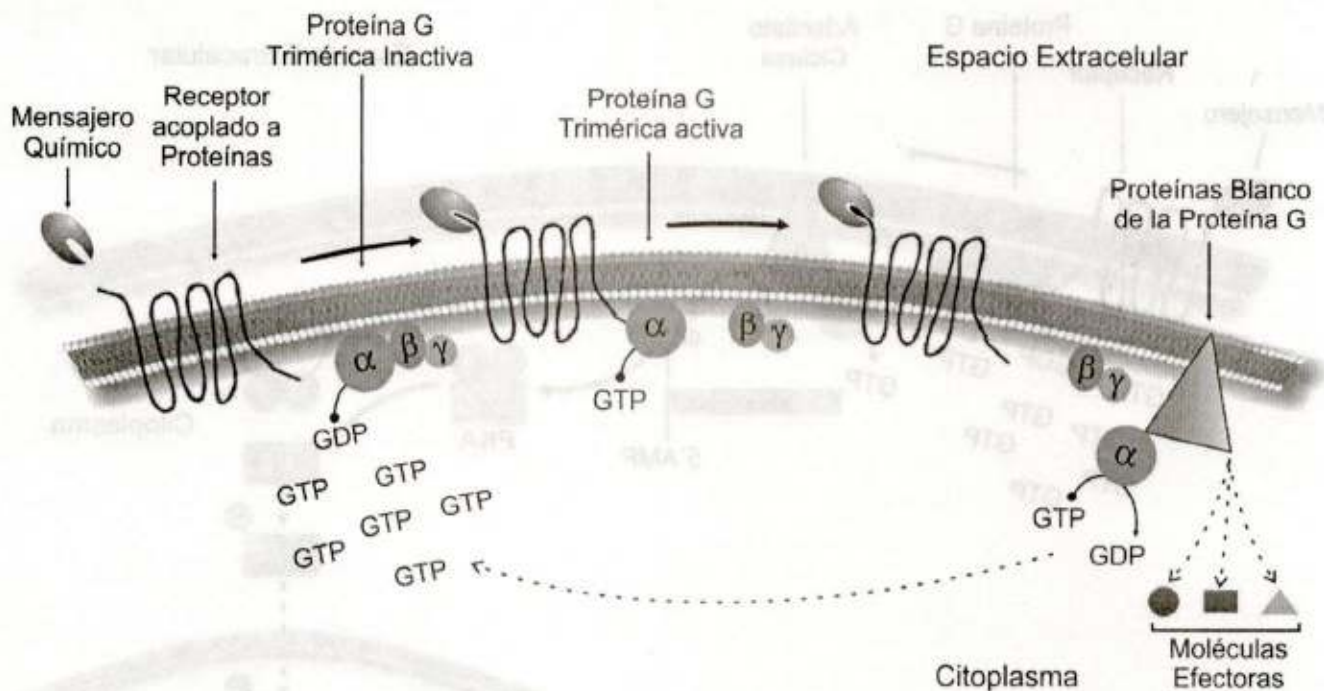


Figura 6. Representación esquemática de la activación de una proteína G heterotrimérica. Una vez el mensajero se acopla al receptor específico se activan proteínas G, de tal forma que en la subunidad α se intercambia el GDP unido por el GTP disponible en el citosol, lo que promueve la disociación del heterotrímero y permite la acción sobre otros sustratos celulares.

unir en el ADN elementos de respuesta al cAMP (CRE), que son secuencias de nucleótidos caracterizadas por una configuración mínima de TGACGTCA. La CBP300 media la acetilación de las histonas, haciendo más accesibles las secuencias promotoras de los genes blanco de esta vía de señalización y facilitando la transcripción del mRNA (figura 7).

Un tipo especial de proteínas G_i son los involucrados en la percepción de los olores, que tienen subunidad α_{olf} . Se encuentran en el epitelio olfatorio y responden a los estímulos olorosos con la activación de la adenilato ciclasa y el consecuente aumento del cAMP, que en este caso, produce la apertura de canales de sodio, seguida de la despolarización de la membrana neuronal que precede a la conducción del impulso nervioso hasta el bulbo olfatorio.

Varios mecanismos intervienen en la regulación de esta vía de señalización que involucra G_i , entre ellos pueden señalarse que la adenilato ciclasa activa promueve la función GTPasa intrínseca de la subunidad α de la proteína G y de esta forma se favorece la reasociación del heterotrímero $\alpha\beta\gamma$. Por su parte, el cAMP tiene una vida media muy breve debido a la acción de enzimas tipo fosfodiesterasas que lo convierten a cinco adenosín monofosfato (5' AMP). Así mismo, la actividad de las proteínas fosforiladas retorna al estado basal por la acción de fosfatasa específicas presentes en la célula.

Receptores acoplados a proteína G_i

Las proteínas G_i poseen una subunidad inhibidora de la función sobre la adenilato ciclasa; de tal manera que la subunidad α de la proteína G_i disminuye la concentración intracelular de cAMP; mientras que el dímero $\beta\gamma$ regula la apertura de canales de potasio prolongando la salida del ión hacia el líquido extracelular con la consecuente hiperpolarización de la membrana plasmática e inhibición de la despolarización celular, lo cual es importante en el contexto de la transmisión de los impulsos nerviosos.

La recepción de los estímulos ópticos en los bastones de la retina de los vertebrados ocurre por los receptores de rodopsina, que después de la absorción del fotón se isomerizan para acoplarse a la subunidad α , o transducina de la proteína G_t , esto activa a la fosfodiesterasa de cGMP, que convierte el cGMP en GMP, este último bloquea la apertura de algunos canales de sodio del bastón, lo cual favorece la hiperpolarización celular necesaria para la transmisión del estímulo lumínico.

Receptores acoplados a proteína G_q

Cuando un receptor activa a la proteína G_q se desencadenan eventos similares a aquellos descritos para las proteínas G_i y G_s , sin embargo, las moléculas participantes de este proceso son otras. La subunidad α_q estimula la

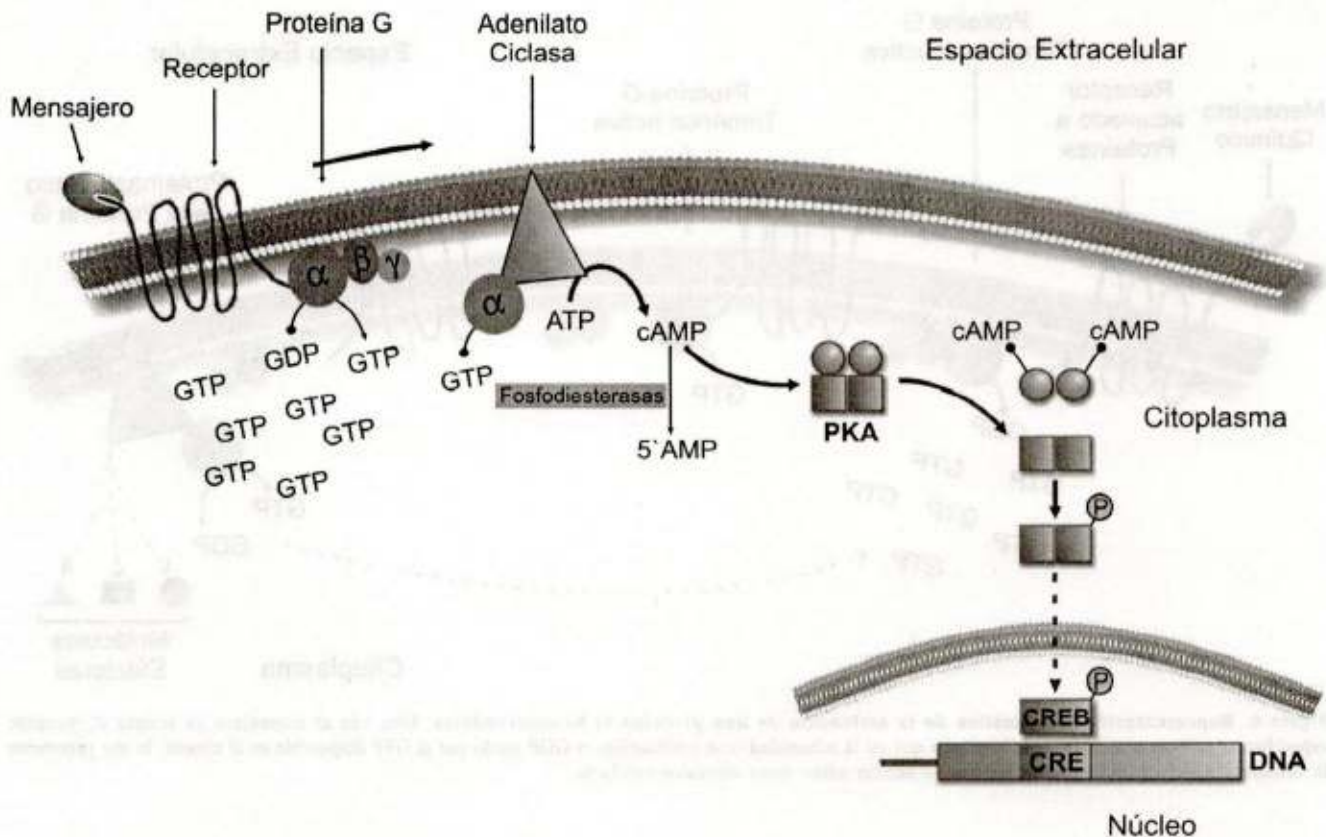


Figura 7. Vía de señalización acoplada a proteínas G. La subunidad α -GTP se une a la adenilato ciclasa para producir el segundo mensajero cAMP que posee diversos blancos celulares, entre ellos la PKA, que a su vez fosforila a CREB, un factor de transcripción que se une a secuencias CRE en el ADN que codifican para genes asociados con la respuesta celular al mensajero inicial.

fosfolipasa C- β (PLC- β), que fragmenta el fosfatidil inositol bifosfato (PIP₂) de la cara citosólica de la membrana plasmática en diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP₃), segundos mensajeros que promueven eventos bioquímicos particulares (Figura 8). El DAG permanece anclado a la membrana y puede convertirse en ácido araquidónico que es el precursor para la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos que a su vez actúan como mensajeros químicos que se unen a receptores acoplados a proteína G expresados en otras células. De manera alterna, el DAG puede activar isozimas de la proteína quinasa dependiente de calcio (PKC), que fosforila proteínas blanco en residuos de treonina o serina. Entre las isoformas más conocidas de PKC se encuentran β , θ , γ que comparten algunos rasgos estructurales así como el requerimiento de Ca²⁺ y DAG para su activación, pero difieren en el tipo de receptor que las estimula. Por ejemplo, la PLC- γ depende de receptores acoplados a proteínas G triméricas, mientras que la PLC- β y la PLC- θ están en la vía de señalización de receptores tirosina quinasa.

Por su parte, el IP₃ es una molécula hidrosoluble que difunde en el citoplasma hasta los canales de calcio localizados en la membrana del retículo endoplásmico que se

activan por la unión de este segundo mensajero, de tal manera que ocurre el aumento súbito en la concentración intracelular de calcio. La regulación del IP₃ está dada por inositol fosfatasas.

Receptores tipo canal iónico:

El transporte de electrolitos a través la membrana celular es fundamental para la regulación del volumen celular, la presión osmótica y el potencial de membrana. Como se vió en el capítulo sobre transporte el flujo de electrolitos ocurre mediante procesos de transporte activo o pasivo, dependiendo de si el ión en cuestión se desplaza en contra o a favor del gradiente electroquímico, respectivamente. El transporte activo a su vez, puede ser primario o secundario de acuerdo con las características funcionales de la proteína transportadora. El transporte pasivo de electrolitos usualmente ocurre por medio de canales iónicos.

Las proteínas tipo canal estructuralmente son complejos poliméricos, generalmente de cinco subunidades que se anclan a la membrana (Ver capítulo sobre transporte a través de la membrana). La actividad de los canales iónicos puede regularse por estímulos eléctricos o químicos. En

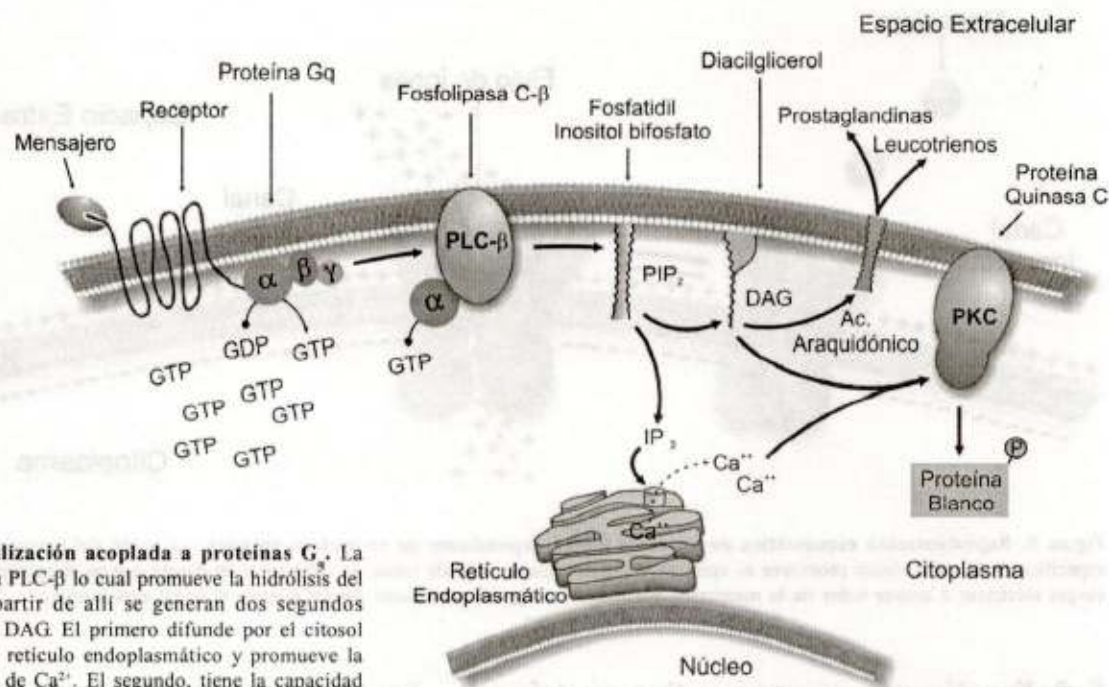


Figura 8. Vía de señalización acoplada a proteínas G. La subunidad α activa a la PLC- β lo cual promueve la hidrólisis del fosfolípido PIP_2 y a partir de allí se generan dos segundos mensajeros: el IP_3 y el DAG. El primero difunde por el citosol hasta la membrana del retículo endoplasmático y promueve la apertura de los canales de Ca^{2+} . El segundo, tiene la capacidad para activar quinasas dependientes de calcio (PKC)

el primer caso, son canales dependientes de voltaje que contribuyen al potencial de membrana, en el segundo caso, requieren de la unión de mensajeros químicos específicos, denominados neurotransmisores y son fundamentales en la conducción de los impulsos nerviosos.

Los canales dependientes de voltaje como los de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , generalmente están conformados por varias subunidades que se asocian para formar una especie de poro por donde pasa el ión, los dominios extracelulares habitualmente están glicosilados mientras que las regiones intracelulares poseen sitios reguladores de la fosforilación. La activación del canal conlleva cambios conformacionales que permiten el paso selectivo del ión (figura 9).

Los canales activados por mensajero son especialmente importantes en el contexto de la comunicación neuronal. La interacción del mensajero con el canal estimula su apertura y el flujo iónico subsiguiente. Existen algunas diferencias en la interacción mensajero-canal, así: Cuando el **canal iónico está acoplado a proteínas G triméricas**, el mensajero se une al receptor asociado a la proteína G y es el dímero $\beta\gamma$ quien se une al canal y regula su apertura (por ejemplo el receptor muscarínico de acetilcolina). Cuando el **canal iónico posee sitios de unión específica para segundos mensajeros** producidos en otras vías de señalización, éstos son los que regulan el flujo iónico, por ejemplo los canales de Ca^{2+} activados por IP_3 . Cuando el **canal iónico posee un sitio de unión específico para el men-**

sajero, ésta puede directamente regular la apertura del canal como en el caso del receptor nicotínico de acetilcolina. La acción de los neurotransmisores está circunscrita casi exclusivamente a este último tipo de canales.

Los estímulos en la neurona presináptica inducen la exocitosis del neurotransmisor, almacenado en vesículas, hacia la hendidura sináptica desde donde difunde para unirse a los receptores específicos de canales iónicos ubicados en la neurona postsináptica, lo que consecuentemente promueve el flujo de iones que, según su carga eléctrica y la dirección del movimiento, afecta la polaridad de la membrana plasmática y puede dar lugar a respuestas nerviosas estimuladoras o inhibitoras.

Receptores con actividad enzimática

Estos receptores son diversos, están ampliamente distribuidos en el organismo y participan en la regulación de la proliferación, el crecimiento y la diferenciación celular. Estructuralmente son proteínas integrales de membrana, unipaso, de alto peso molecular, con un dominio extracelular amino terminal donde está el sitio de unión estereoespecífica con el mensajero, un dominio transmembranal hidrofóbico, y un dominio intracelular carboxilo terminal con actividad enzimática que puede ser de tipo quinasa, fosfatasa o ciclasa. En algunos casos el receptor no posee actividad catalítica intrínseca pero se asocia a enzimas que inician los cambios bioquímicos necesarios para la señalización.

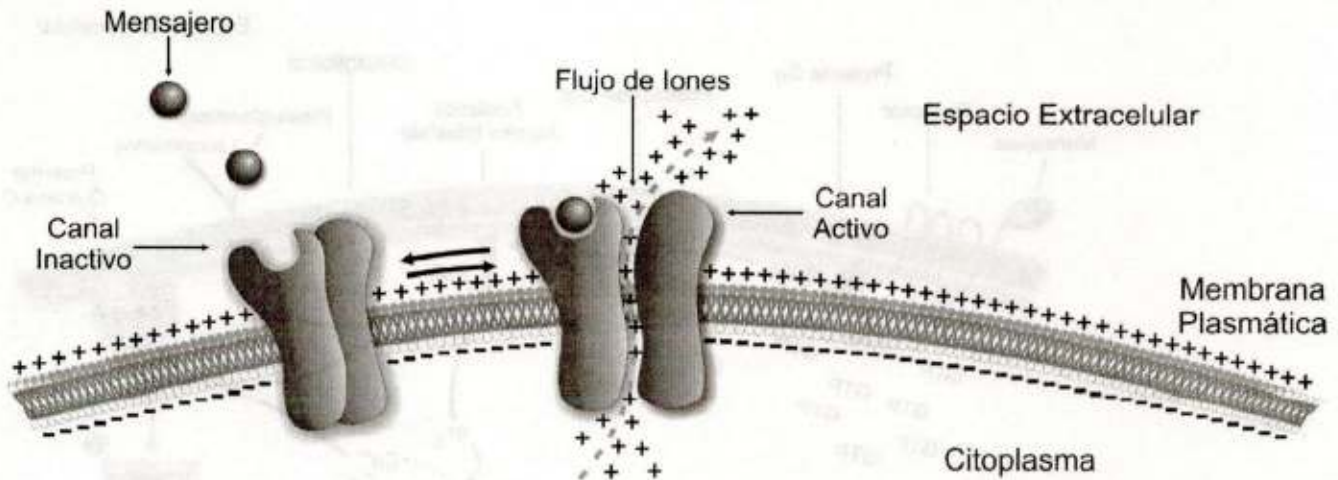


Figura 9. Representación esquemática de un canal iónico dependiente de mensajero químico. La unión del mensajero químico al dominio específico en el canal iónico promueve su apertura y el subsiguiente flujo de iones. Se debe tener en cuenta que en el esquema a mano el número de cargas eléctricas a ambos lados de la membrana plasmática es significativamente menor cuando el canal está inactivo.

Señalización por receptores tipo proteína quinasa

Los receptores con actividad quinasa actúan en forma de dímeros, que pueden coexistir en ausencia del estímulo o se forman a partir de monómeros por el estímulo del mensajero. La interacción mensajero-receptor induce la autofosforilación de un monómero y la transfosforilación del otro, lo cual genera sitios de unión para la unión específica y transitoria de otras moléculas de señalización.

Las proteínas tirosina quinasa son las mejor caracterizadas de este grupo, como su nombre lo indica fosforilan proteínas en residuos de tirosina creando dominios de unión a otras proteínas, los cuales pueden ser: **dominio SH1** con actividad tirosina quinasa; **dominio SH2** que acopla proteínas con residuos de fosfotirosina y **dominio SH3**, unidor de regiones ricas en prolina. Cuando una proteína está fosforilada en residuos de tirosina surgen uno o varios dominios SH que favorecen la unión de alta afinidad de otros sustratos. La especificidad en estas interacciones depende de las secuencias de aminoácidos que rodean a la fosfotirosina. Los dominios SH amplifican la señal porque desencadenan múltiples vías de señalización intracelular cuyos mecanismos efectores pueden ser complementarios, redundantes o incluso antagonicos.

Algunas moléculas que reconocen los dominios SH2 y SH3 de receptores con actividad quinasa son proteínas adaptadoras que favorecen la unión de proteínas liberadoras de nucleótidos de guanina (GNRP), que a su vez estimulan a la proteína Ras, una de las más ubicuas en la señalización celular.

Ras es una proteína G monomérica (homóloga a la subunidad α de las proteínas G triméricas) que en estado inactivo tiene GDP unido que se intercambia con el GTP disponible en el citosol cuando la proteína se activa. A diferencia de las proteínas G triméricas que tienen una actividad GTPasa intrínseca a expensas de la subunidad α , Ras permanece activa un tiempo al menos 100 veces mayor debido a la reducida capacidad para hidrolizar el GTP; no obstante, la actividad GTPasa de Ras puede estimularse con proteínas activadoras de GTPasa (GAP), que favorecen el restablecimiento del estado inactivo de Ras.

La proteína Ras activa puede unirse a la proteína quinasa – quinasa activada por mitógenos (MAP-KKK, también denominada Raf), que fosforila a MAP-KK, conocida también como MEK, que es una serina – treonina quinasa, que a su vez fosforila a una MAP-K. La proteína MAP-K transfiere grupos fosfato a múltiples sustratos, entre ellos a otras quinasa y factores de transcripción. Uno de los factores de transcripción que depende de esta vía es el componente nuclear AP-1, un heterodímero conformado por las proteínas c-fos y c-Jun, cuya expresión es altamente dependiente de la estimulación de MAPK (figura 10).

Los receptores tirosina quinasa también pueden activar a la PLC- β que hidroliza PIP_2 en DAG e IP_3 . El primero puede seguir la vía del ácido araquidónico o estimular a la PKC. Mientras que el IP_3 promueve el aumento del Ca^{2+} intracelular a partir de las reservas del retículo endoplasmático.

El incremento en la concentración intracelular de Ca^{2+} afecta los eventos dependientes de calmodulina, incluso

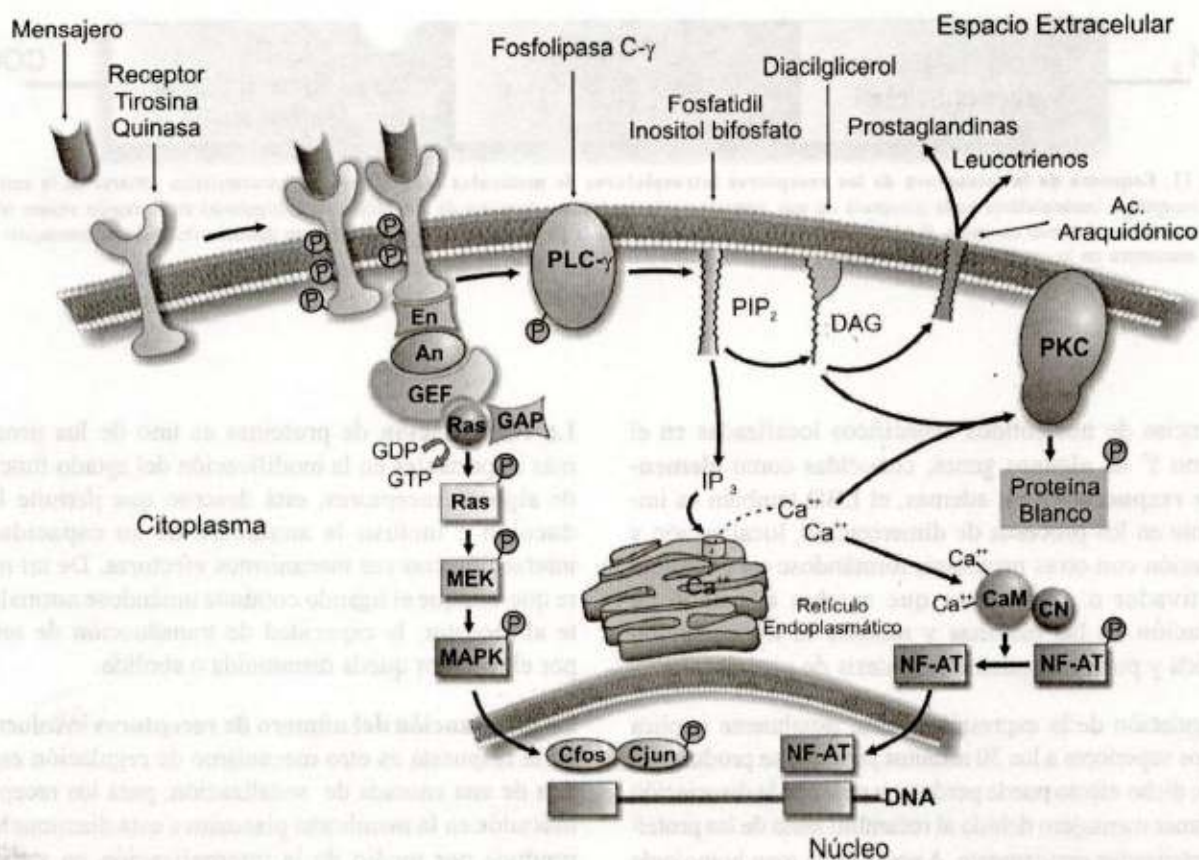


Figura 10. Representación esquemática de vías de señalización activadas por receptores tirosina quinasa. La unión del mensajero al receptor tirosina quinasa induce la autofosforilación que a su vez produce cambios conformacionales que dejan al descubierto varios dominios SH a los cuales se acoplan múltiples sustratos celulares, entre ellos proteínas adaptadoras y enzimas que a su vez actúan sobre otras enzimas y finalmente activan la acción o expresión de factores de transcripción.

la activación de calcineurina y la quinasa de calmodulina dependiente de Ca^{2+} . De otro lado, la presencia del Ca^{2+} modula la formación del complejo calmodulina - calcineurina, que tiene actividad fosfatasa sobre residuos de serina y treonina. Cuando la calcineurina se activa por la presencia del Ca^{2+} puede inducirse la defosforilación de una proteína conocida como factor nuclear de las células de T activadas (NF-AT), lo que probablemente revela un sitio del NF-AT que media su localización nuclear y por tanto permite su unión a las secuencias promotoras de los genes específicos. Así, la amplificación de ramas de la señalización celular dependiente de receptores tirosina quinasa activa múltiples factores de transcripción que coordinadamente regulan la expresión génica.

Señalización por receptores intracelulares

Existe una serie de moléculas que son lo suficientemente liposolubles para atravesar la membrana plasmática por difusión simple y lograr la unión con los respectivos receptores intracelulares. Las hormonas tiroideas, los estrógenos, los progestágenos, los andrógenos, los

glucocorticoides, la vitamina D, los derivados de retinoides y otras sustancias liposolubles regulan genes específicos, por esta razón pertenecen a la familia de factores de transcripción.

Los receptores intracelulares pueden ser citoplasmáticos o nucleares, no obstante la forma como producen la respuesta biológica, modulando la transcripción, es común a todos ellos, su diferencia radica en que los receptores ubicados en el citoplasma deben atravesar la envoltura nuclear para lograr la interacción con sus respectivos genes.

En términos generales, los receptores intracelulares estructuralmente están compuestos de tres dominios principales: El **dominio de activación transcripcional** en la región amino terminal, el **dominio de unión al ADN (DBD)** que está ubicado hacia la parte media de la proteína y el **dominio de unión al mensajero (LBD)** ubicado en la región carboxilo terminal (figura 11). Después de la interacción con el mensajero, el LBD sufre cambios conformacionales que lo capacitan para unirse al ADN por medio de una estructura con motivos en dedos de zinc presente en el DBD. Estos dominios se acoplan a

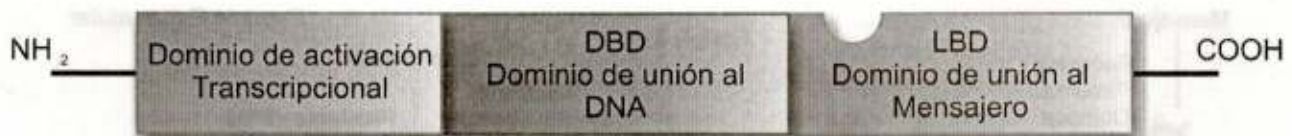


Figura 11. Esquema de la estructura de los receptores intracelulares de moléculas mensajeras. La característica general de la estructura de los receptores intracelulares es la presencia de tres dominios principales: un dominio de activación transcripcional en la región amino terminal de la proteína, un dominio de unión al ADN (DBD) que está ubicado hacia la parte media de la molécula y un dominio de unión al mensajero (LBD) que se encuentra en la región carboxilo terminal.

secuencias de nucleótidos específicos localizadas en el extremo 5' de algunos genes, conocidas como **elementos de respuesta (RE)**; además, el LBD también es importante en los procesos de dimerización, localización y asociación con otras proteínas, formándose un complejo co-activador o co-represor que cambia el estado de acetilación de las histonas y modula la transcripción genética y por consiguiente la síntesis de proteínas.

La regulación de la expresión génica, usualmente implica tiempos superiores a los 30 minutos para que se produzca el efecto; dicho efecto puede perdurar a pesar de la disociación del primer mensajero debido al recambio lento de las proteínas sintetizadas previamente. A pesar de la gran homología entre los receptores intracelulares, estos se unen a RE de diferentes genes y se pueden regular por fosforilación, asociación con otras proteínas o por la unión a metabolitos celulares, y de esta manera se genera una respuesta específica para cada mensajero según el tipo celular.

Regulación de las vías de señalización

Cuando ocurre una interacción mensajero-receptor, la célula despliega una cascada de eventos bioquímicos para adecuar sus funciones a las demandas del medio circundante, no obstante, una vez satisfechas, la célula debe retornar a su condición previa. En este proceso es necesario tener en cuenta varias consideraciones:

La desaparición del mensajero: implica que no se produzca la interacción con el receptor y los cambios que de ello se derivan.

La regulación de los receptores bien sea en términos cualitativos o cuantitativos y que pueden operar en forma homóloga o heteróloga. En el primer caso, el cambio en el patrón de respuesta celular afecta exclusivamente el proceso de señalización proveniente del receptor que está interactuando con el mensajero. En la regulación heteróloga se produce un cambio que afecta la respuesta celular que modulan otros receptores pero que poseen vías de señalización comunes.

La fosforilación de proteínas es uno de los procesos más importantes en la modificación del estado funcional de algunos receptores, está descrito que permite la reducción e incluso la anulación de su capacidad de interacción con sus mecanismos efectores. De tal manera que aunque el ligando continúe uniéndose normalmente al receptor, la capacidad de transducción de señales por el receptor queda disminuida o abolida.

La disminución del número de receptores involucrados en la respuesta es otro mecanismo de regulación específica de una cascada de señalización; para los receptores ubicados en la membrana plasmática esta disminución se produce por medio de la internalización en vesículas endocíticas, en las cuales los receptores pueden almacenarse para su reutilización posterior en un nuevo ciclo de señalización o pueden ser blanco de la digestión proteolítica en el lisosoma. Otros procesos como la **disminución de la síntesis** o el **aumento en la degradación de RNAm del receptor**, también pueden ocasionar la disminución del número de receptores que se expresan, este mecanismo ocurre tanto para receptores de membrana como para intracelulares.

El aumento del número de receptores, a diferencia de los procesos de fosforilación y disminución del número de receptores, que se producen generalmente con moléculas agonistas, se presenta cuando hay interacción con mensajeros que tienen la capacidad de unirse a los receptores pero que no desencadenan sus mecanismos de transducción (antagonistas); las células responden ante esta situación de inhibición de los estímulos con el aumento en la densidad de receptores, fundamentalmente mediante el incremento en la síntesis del RNAm de los receptores que han sido bloqueados.

En este contexto es importante señalar que la célula posee receptores de reserva que no están ocupados por el mensajero durante una respuesta máxima, estos receptores tienen relevancia cuando se producen variaciones en el número de receptores celulares por procesos de regulación. La reducción en el número de receptores de reserva, disminuye la sensibilidad de la célula al mensajero,

esto quiere decir, que se requiere una mayor concentración del mensajero para alcanzar la misma respuesta biológica. La disminución en el número de receptores cuando no hay receptores de reserva, disminuye la eficacia de los mensajeros, y por ende los mecanismos efectores son de menor magnitud, incluso en presencia de concentraciones crecientes del mensajero.

La continua **interacción de enzimas activadoras e inhibidoras** de las cascadas de señalización garantiza que la mayoría de las moléculas participantes tengan una vida media corta, lo cual protege a las células de una estimulación excesiva y es un mecanismo adicional para la regulación y adaptación de las células a un medio ambiente en constante cambio.

Por último, la **presencia de metabolitos efectores** es uno de los mecanismos también contribuye a la retroalimentación negativa de las casadas de señalización puesto que son la expresión de la respuesta frente al estímulo específico inicial.

Conclusión

El estudio de la comunicación entre las células así como de los mecanismos bioquímicos intracelulares que permiten **ajustar temporalmente** las funciones celulares a las demandas de un medio ambiente cambiante, constituye un elemento fundamental para comprender la fisiopatología de diversas enfermedades, así como para el diseño racional de medicamentos.

