

TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES:

DE LO MOLECULAR A LO FUNCIONAL

Raúl Sampieri Cabrera
Ernesto Calderón Martínez
Wilber Montejo López



Facultad de Medicina



dgapa

**TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES:
DE LO MOLECULAR A LO FUNCIONAL**

**TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES:
DE LO MOLECULAR A LO FUNCIONAL**

**Raúl Sampieri Cabrera
Ernesto Calderón Martínez
Wilber Montejo López**

Facultad de Medicina



**FACULTAD DE MEDICINA
2024**

Catalogación en la publicación UNAM. Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales de Información

Nombres: Sampieri Cabrera, Raúl, editor. | Calderón Martínez, Ernesto, editor. | Montejo López, Wilber, editor.

Título: Transducción de señales : de lo molecular a lo funcional / coordinadores: Raúl Sampieri Cabrera, Ernesto Calderón Martínez, Wilber Montejo López.

Descripción: Primera edición. | Ciudad de México : Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina, 2024.

Identificadores: LIBRUNAM 2229143 (libro electrónico) | ISBN 9786073090704 (libro electrónico).

Temas: Transducción de señales celulares.

Clasificación: LCC QP517.C45 (libro electrónico) | DDC 571.74—dc23

Transducción de señales: de lo molecular a lo funcional

Raúl Sampieri Cabrera, Ernesto Calderón Martínez y Wilbert Montejo López (coordinadores)

Primera edición: 12 de febrero de 2024

DR. © 2024 Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Medicina
Ciudad Universitaria, Alcaldía Coyoacán,
C.P. 04510, Ciudad de México

ISBN: 978-607-30-9070-4 (electrónico)

Investigación y edición realizada gracias al Proyecto PAPIME PE207322.

Esta publicación y sus características son propiedad de la Universidad Nacional Autónoma de México. Queda prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio sin la autorización escrita del titular de los derechos patrimoniales.

Hecho y editado en México

Diseño y formación: Yanira Rodríguez
Portada: Yanira Rodríguez
Trazado de dibujos: Yanira Rodríguez
Corrección: Érika Maya Vargas
Cuidado editorial: Érika Maya Vargas



Medicina | Ciencias de la Salud

Esta obra fue sometida a evaluación doble ciego por expertos en el tema, avalados por el Comité Editorial (CEDIT) de la Facultad de Medicina de la UNAM, por lo que cumple con la calidad y pertinencia académica y científica.

Supervisión editorial CEDIT: María de la Paz Romero Ramírez
<https://libros.facmed.unam.mx>

Índice

PRESENTACIÓN	13
CAPÍTULO 1: COMUNICACIÓN CELULAR	15
RAÚL SAMPIERI CABRERA, ERNESTO CALDERÓN MARTÍNEZ, WILBER MONTEJO LÓPEZ, ALINE RUÍZ LÓPEZ	
Contenido temático	15
• Objetivos	15
• Caso clínico	15
• Introducción	16
> La comunicación celular como base fundamental de procesos fisiológicos	16
• Tipos de comunicación celular: parácrina, endócrina y autócrina	17
• Transducción de señales	18
> Receptores acoplados a proteínas G (GPCR)	18
> Receptores tirosina cinasa (RTK)	20
• Canales iónicos	22
• Receptores nucleares	24
• Reflexión del capítulo	25
• Preguntas de integración	25
• Referencias	26
CAPÍTULO 2: PROTEÍNAS DEL HARDWARE DE SEÑALIZACIÓN	27
GUSTAVO LÓPEZ TOLEDO, GERARD LÓPEZ GARCÍA, CÉSAR MARTÍNEZ PEÑA	
Contenido temático	27
• Objetivo general	27
> Objetivos particulares	28
• Introducción	28
• Proteínas de andamio	28
> Aspectos generales	28
> AKAPs	30
> IRS	31
> Pseudocinasas y pseudofosfatasa	33

• Proteínas cinasas	35
> Estructura general y función	35
> Proteína cinasa A (PKA)	38
> Vía de las cinasas PI3K/AKT	40
> Fosfatidilinositol 3 cinasa (PI3K)	40
> Proteína cinasa B (AKT)	41
> Proteína cinasa C (PKC)	42
> Cinasa dependiente de calcio-calmodulina (CAM)	44
> Fosfatasas	44
• Preguntas de integración	46
• Referencias	47

CAPÍTULO 3: RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNAS G

JORGE LUIS CALDERÓN GARCÍA, DANAE CAMACHO RIVERO, ZARRA MICHELLE GARRIDO SANTOS,
PAMELA MARTÍNEZ ALMONACI, RAÚL SAMPIERI CABRERA

Contenido temático	53
• Objetivos	54
• Objetivos específicos	54
• Introducción	54
• Estructura de los GPCRs	54
• Clasificación de las familias de los GPCRs	55
> Grupo A (familia de Rodopsina)	55
> Grupo B (familia de la Secretina)	55
> Grupo C (familia del Glutamato)	56
> Grupo D (familia de Adhesión)	56
> Grupo E (Frizzled/ Sabor tipo 2)	56
• Mecanismos generales y cambios conformacionales de los GPCR	56
> Activación de los GPCR	56
> Desactivación de los GPCR	57
> Proteínas activadoras de GTPasa (GAP)	58
> Reguladores de la señalización de proteína G (RGS)	58
• Señalización	59
> Señalización dependiente de proteína G	60
> Activadores de la señalización de proteína G (AGS)	65
> Desensibilización de los GPCRs	66
• Ubiquitinación	68
• Preguntas de integración	68
• Referencias	69

CAPÍTULO 4. RECEPTORES PARA FACTORES DE CRECIMIENTO

RICARDO JESÚS MARTÍNEZ TAPIA

71

Contenido temático

71

- Objetivos 71
- Introducción 71
- Receptores de tirosina cinasa 73
- Receptores de citocinas 80
 - > Receptores de citocinas Clase I 82
 - > Receptores de citocinas Clase II 85
- Receptores serina/treonina cinasa 88
- Receptores de la familia de factor de necrosis tumoral 91
- Preguntas de integración 93
- Referencias 95

CAPÍTULO 5. CANALES IÓNICOS

ADRIANA ROBLES CABRERA

99

Contenido temático

99

- Objetivos 99
 - > Objetivo general 99
 - > Objetivos particulares 99
- Introducción 100
- Tipos de canales iónicos 103
 - > Canales regulados por ligandos 104
 - > Canales regulados por voltaje o voltaje-dependientes 106
 - > Otros tipos de canales iónicos 107
- Distribución de los canales iónicos 108
- Vías de señalización relacionadas a los canales iónicos 110
- Preguntas de integración 118
- Referencias 121

CAPÍTULO 6. GTPASAS DE BAJO PESO

MARÍA DEL CARMEN SILVA LUCERO, ANA ELVIRA ZACAPALA GÓMEZ,
MIGUEL ÁNGEL MENDOZA CATALÁN, OSCAR ALBERTO LÓPEZ CANALES

131

Contenido temático

131

- Objetivo 131
- Introducción 131
- Superfamilia Ras 132

> Estructura de las GTPasas de la superfamilia Ras	134
• Subfamilias	135
> Ras	135
> Rho	137
> Rab	137
> Arf	138
> Ran	139
• Regulación mediante GAPs, GEFs y GDIs	140
• Preguntas de integración	143
• Referencias	143

CAPÍTULO 7. RECEPTORES NUCLEARES

OSCAR ALBERTO LÓPEZ CANALES, MARÍA CRISTINA PAREDES CARBAJAL,
MARÍA DEL CARMEN SILVA LUCERO

	147
Contenido temático	147
• Objetivos	148
• Introducción	148
> Mecanismo de acción general de los receptores nucleares	148
> Clasificación	149
> Nomenclatura NC-IUPHAR	149
> Características generales de las subfamilias	152
• Estructura de los receptores nucleares	153
> Región A/B o dominio N-terminal (NTD)	154
> Dominio de unión al ADN (DBD)	155
> Dominio de bisagra	155
> Dominio de unión al ligando (LDB)	156
> Región F	156
• Relación estructura función	157
> Formación de monómeros, homodímeros y heterodímeros	157
> Formación de complejos receptor-correguladores	157
• Transducción de señales de los receptores nucleares	159
> Unión del ligando	160
> Activación de los receptores nucleares	161
> Transporte a través de los poros nucleares	162
> Unión a los elementos de respuesta	163

> Interacción con los correguladores	165
• Regulación	166
> Modificaciones postraduccionales	167
> Fosforilación	167
> Sumoilación	167
> Acetilación	168
> Ubiquitinación	168
> O-glucosaminilación	168
> Degradación	169
• Papel fisiológico	170
> Fibratos	170
> Tiazolidinedionas	171
> Corticoesteroides	173
> Moduladores selectivos de receptores de estrógenos	175
• Preguntas de integración	177
• Referencias	177

CAPÍTULO 8: ENTRECruzAMIENTO DE VÍAS DE SEÑALIZACIÓN

RICARDO ALBERTO SANTANA MARTÍNEZ, RAÚL SAMPIERI CABRERA, ALINE RUÍZ LÓPEZ 179

Contenido temático 179

• Objetivos	179
• Introducción	179
• Receptores acoplados a proteínas G y receptores tirosina cinasa (RTK)	180
> Activación de los RTK mediante la activación de los GPCR	180
> Activación de los receptores GPCR mediante la activación de los RTK	185
• Receptores acoplados a proteínas G y receptores tipo canales iónicos	188
• Receptores tirosina cinasa (RTK) y receptores iónicos	190
• Receptores nucleares y receptores de tirosina cinasa (RTK)	191
• Preguntas de integración	194
• Referencias	194

ACERCA DE LOS AUTORES 201

Presentación

En el vasto y fascinante mundo de la biología celular y la señalización molecular, existe un intricado lenguaje que las células utilizan para comunicarse entre sí y coordinar una variedad de procesos fisiológicos esenciales. Esta obra se adentra en los misterios de esta comunicación intracelular para proporcionar a los lectores una comprensión sólida de los fundamentos de la señalización molecular y transducción de señales.

El capítulo 1, titulado "Comunicación celular", marca el comienzo de nuestro viaje. Aquí, exploraremos la comunicación celular en su esencia, entendida como la base fundamental de numerosos procesos fisiológicos. Aprenderemos sobre los diferentes tipos de comunicación celular, desde la parácrina hasta la autócrina, y cómo se transmiten las señales a través de receptores específicos. Además, nos sumergiremos en los detalles de la transducción de señales, explorando los receptores acoplados a proteínas G (GPCR), los receptores tirosina cinasa (RTK), los canales iónicos y los receptores nucleares. Este capítulo establece los cimientos para el conocimiento que desarrollaremos en los capítulos posteriores.

El capítulo 2, titulado "Proteínas del hardware de señalización", se enfoca en las moléculas clave que facilitan la comunicación intracelular. Exploraremos las proteínas de andamio, las proteínas cinasas y sus diversas subfamilias, así como las fosfatasa. Comprenderemos que estas proteínas desempeñan un papel crucial en la transducción de señales y cómo su disfunción puede tener consecuencias significativas para la salud.

Posteriormente, en el capítulo 3, titulado "Receptores acoplados a proteínas G", la lectura nos sumergirá en un mundo intrigante de proteínas receptoras en la membrana celular. Descubriremos la estructura de los GPCRs y su clasificación en diversas familias. Además, exploraremos los mecanismos generales y los cambios conformacionales que permiten que estos receptores actúen como interruptores moleculares. A medida que avanzamos en este capítulo, será claro lo fundamental que son estas proteínas para la señalización celular y regulación de una multitud de procesos biológicos.

En el capítulo 4, "Receptores para factores de crecimiento", la lectura nos llevará a un nivel más profundo de señalización molecular al explorar los receptores de tirosina cinasa y los receptores de citocinas. Aprenderemos cómo estas proteínas receptoras desempeñan un papel crítico en el control del crecimiento celular y la diferenciación, mientras que su disfunción puede contribuir a enfermedades como el cáncer.

En el capítulo 5, "Canales iónicos", se explora el emocionante mundo de los canales iónicos, que son responsables de regular el flujo de iones a través de las membranas celulares. Descubriremos los diferentes tipos de canales iónicos y su distribución en el organismo, así como su relevancia en una variedad de procesos biológicos.

En el capítulo 6, "GTPasas de bajo peso", se explora la superfamilia Ras y las subfamilias de GTPasas que desempeñan un papel crucial en la señalización celular. Comprenderemos que estas proteínas regulan la actividad de otras moléculas clave y su influencia en el destino de la célula.

El capítulo 7, "Receptores nucleares", nos llevará a un nivel aún más profundo al explorar cómo los receptores nucleares controlan la expresión génica y participan en una amplia gama de procesos fisiológicos. Aprenderemos sobre su estructura, función y regulación, y su papel en la respuesta a diversas sustancias químicas y medicamentos.

Finalmente, el capítulo 8, "Entrecruzamiento de vías de señalización", nos mostrará cómo estas diferentes vías de señalización interactúan y se entrelazan en un intrincado sistema de comunicación celular. Descubriremos que los receptores acoplados a proteínas G pueden influir en los receptores tirosina cinasa, los canales iónicos y los receptores nucleares, y viceversa.

A lo largo de este libro, los lectores encontrarán objetivos específicos, casos clínicos, preguntas de integración y referencias que enriquecerán su comprensión y les permitirán aplicar los conceptos aprendidos en situaciones prácticas. Estoy seguro de que este libro será una guía valiosa para estudiantes y profesores de biología celular y fisiología celular, que los inspirará a profundizar en los misterios de la comunicación celular en busca de respuestas a preguntas aún no resueltas en el campo de las ciencias biomédicas. ¡Disfruten de este emocionante viaje de descubrimiento!

Dr. Raúl Sampieri Cabrera
Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina, UNAM



Capítulo 1

Comunicación celular

*Raúl Sampieri Cabrera, Ernesto Calderón Martínez,
Wilber Montejo López, Aline Ruíz López*

Contenido temático

- Objetivos
- Caso clínico
- Introducción
 - > La comunicación celular como base fundamental de procesos fisiológicos
- Tipos de comunicación celular: parácrina, endócrina y autócrina
- Transducción de señales
 - > Receptores acoplados a proteínas G (GPCR)
 - > Receptores tirosina cinasa (RTK)
- Canales iónicos
- Receptores nucleares
- Reflexión del capítulo
- Preguntas de integración
- Referencias

Objetivos

Explicar los mecanismos y características generales de la comunicación celular, la transmisión y transducción de señales, así como sus implicaciones fisiológicas.

Caso clínico

Paciente femenina de 50 años que acude a consulta general por fuertes palpitaciones en el pecho reporta no tener antecedentes de enfermedades cardiovasculares y diabetes, sin embargo, es fumadora activa y consume de 4 a 5 tazas de café al día, se encuentra sometida a fuertes periodos de estrés laboral.

Introducción

La comunicación celular como base fundamental de procesos fisiológicos

El estudio de la comunicación celular se centra en cómo una célula emite y recibe mensajes con su entorno y consigo misma. Debemos pensar que las células no viven aisladas, sino que se encuentran recibiendo y procesando información del medio externo; esta referencia se puede relacionar con los nutrientes, cambios de temperatura, variaciones de luz, pH del medio, entre otros.

Las células se pueden comunicar entre sí, y realizar cambios en sus mecanismos internos, por medio de una variedad de señales químicas y mecánicas. Si analizamos la respuesta de una célula a un estímulo, como, por ejemplo, la contracción de una célula cardíaca tras un estímulo eléctrico, debemos preguntarnos ¿qué mecanismos internos se están activando?, ¿cuál es la señalización interna que participa? y ¿qué implicaciones genéticas tiene la activación de la señalización?

La señalización celular generalmente comienza en la membrana celular e involucra proteínas en forma de receptores que captan la señal del medio y desencadenan mecanismos químicos y físicos dentro de la célula. Las señales que se detectan en la membrana también pueden favorecer la entrada de iones a través de canales iónicos, que permiten su paso directo entre los compartimentos externos e internos de la célula.

La comunicación desde un punto de vista literal es una acción consciente, en la cual se intercambia información entre los participantes, a fin de transmitirla o recibirla. Los pasos básicos de la comunicación son la necesidad de comunicar, composición del mensaje, codificación del mensaje, transmisión de la señal, recepción de la señal, decodificación del mensaje, interpretación del mensaje y generación de una respuesta.

Las células al comunicarse realizan estas acciones hacia sí mismas (comunicación autócrina), células cercanas (parácrina) y células con ubicaciones distantes (endócrina). Para poder comunicarse, las células han desarrollado una variedad de mecanismos de señalización y, con ello, logran la transmisión de información biológica importante. Algunos ejemplos son los receptores que permiten que las corrientes iónicas fluyan en respuesta a los fotones, los cuales traducen la luz en mensajeros químicos dentro del cono y las células de varilla (bastones) de la retina. Factores de crecimiento que interactúan con la membrana celular pueden modular la expresión génica; y metabolitos en la sangre que al activar receptores celulares causan la liberación de hormonas necesarias para la regulación de la glucosa; y receptores regulados por el desarrollo que pueden guiar estrictamente el camino de una célula migratoria, controlando, finalmente, la forma en que todo un organismo está conectado entre sí.

La comunicación celular es la base fundamental de los procesos fisiológicos, pero aún hay una pregunta que no se ha respondido de forma completa: ¿cómo se procesa la señal dentro de la célula?

Para poder responderla, se han seguido dos enfoques: uno reduccionista, en el que las células se aíslan y se cultivan *in vitro* para que las señales específicas puedan analizarse a detalle y, con ello, medir las respuestas celulares a estímulos en entornos controlados. El otro enfoque es holístico y consiste en medir la señalización celular en un organismo intacto (*in vivo*), aplicando agonistas y/o antagonistas de los receptores y luego midiendo la respuesta fisiológica que se genera. Para ambos enfoques, la medición de la respuesta es de vital importancia, y la medición de la dinámica de las pequeñas entidades celulares (proteínas, RNAm, microRNAs, entre otras) aún es un desafío.

La comprensión de los mecanismos que subyacen tras la activación de un receptor es estudiada por un área sumamente especializada de la comunicación celular y es lo que se conoce como *transducción de señales*, en donde su comprensión global, jerarquías internas y naturaleza altamente integrada y extremadamente dinámica siguen siendo en gran medida misteriosas.

Un avance potencial del campo de la transducción de señales es la homología que existe entre ella y los circuitos electrónicos, ya que ambos implican jerarquías, conmutadores, modularidad, redundancia y la existencia de mecanismos de retroalimentación. Este enfoque ha generado un campo emergente de biología computacional aplicado a la señalización celular; el abordaje multidisciplinario de los fenómenos biológicos requiere la contribución de ingenieros y biofísicos, que puedan crear algoritmos computacionales para modelar la estructura de una red de señalización basada en mediciones biológicas. Estos modelos puedan usarse para predecir el resultado de condiciones experimentales.

La regulación de los procesos funcionales en los sistemas biológicos se centra en orquestrar los mecanismos altamente dinámicos, que son modulados por la comunicación celular. Comprender los mecanismos en su totalidad requiere de herramientas que integren los resultados de enfoques reduccionistas y holísticos, y sean capaces de predecir con un alto nivel de confianza los resultados, tras la activación o supresión de una vía de señalización.

Tipos de comunicación celular: parácrina, endócrina y autócrina

Desde el punto de vista de la fisiología de sistemas, podemos clasificar a los mecanismos de comunicación celular en tres tipos: endócrina, parácrina y autócrina.

Parácrina

En la comunicación parácrina, una célula produce una señal para inducir cambios en las células cercanas, modulando su comportamiento. Las moléculas de señalización son conocidas como *factores parácrinos* y difunden en una distancia relativamente corta (acción local); en el medio extracelular inmediato y el resultado producido en la célula receptora depende del gradiente del factor, el tiempo contacto, la sensibilidad del receptor celular y

los mecanismos de regulación intrínsecos de la célula receptora. Aunque se sabe que este tipo de comunicación es local, aún no se conoce cuál es la distancia exacta que pueden recorrer los factores parácrinos.

Este tipo de comunicación puede contribuir a mecanismos de regulación implicados en el acondicionamiento celular, en el cual las células que reciben un insulto pueden comunicarlo a las células vecinas y estas inducir una respuesta de protección acondicionante o una respuesta previa al evento.

Endócrina

Por otro lado, los factores endócrinos (generalmente hormonas) viajan distancias considerablemente más largas desde el punto de liberación hasta el receptor y lo hacen a través del sistema circulatorio.

Este tipo de comunicación celular modula eventos fisiológicos complejos como la glucemia y el parto. Los factores endócrinos pueden tener receptores en la membrana celular o en los núcleos de las células receptoras.

Si la comparamos con los sistemas de comunicación cotidianos, podríamos decir que las hormonas son como la señal de wifi que se produce en un router y viaja a través del aire de una habitación (ambiente, en las hormonas, la sangre) a un televisor en la misma habitación (como un receptor de membrana) o hasta una computadora en otra habitación cerrada (como en un receptor nuclear). Sin embargo, la organización de los procesos fisiológicos en los seres vivos es mucho más compleja que el ejemplo anterior, por la existencia de asas de realimentación que modulan la comunicación celular.

Autócrina

Es la comunicación que establece la célula consigo misma, para ello libera factores al medio extracelular e induce la activación de receptores expresados en su membrana celular. Un ejemplo clásico de este tipo de comunicación es la liberación de factores de crecimiento por el embrión, los cuales favorecen la división celular y el crecimiento controlado y regulado del producto. Otro ejemplo parecido, pero no igual, es el que regula el crecimiento tumoral de las células cancerígenas, donde el crecimiento no está controlado ni regulado.

Transducción de señales

Tomando como base el ejemplo de la señal de wifi, la comunicación se establece desde un módulo de liberación de la señal (router) hasta un aparato receptor (televisor o computadora). Hasta ese momento tenemos los elementos básicos de una comunicación, un emisor (router), mensaje (señal de wifi) y receptor (computadora o televisor), pero ¿qué sucede después?, ¿cómo se transforma esa señal de wifi en otra de distinta naturaleza?, ¿qué mecanismos internos se modulan tras la señal?

Para poder responder esas preguntas, es importante definir qué es *transducción de señales*. Esta es entendida como la transformación de un tipo de señal o energía en otra de distinta naturaleza, es decir, un flujo de fotones es capaz de activar un canal iónico y la célula transduce esta señal en otra que sea entendida por sus mecanismos de codificación para eventualmente generar una respuesta.

Los mecanismos de codificación de la señal los podemos entender como las vías de señalización, que son evocadas tras la activación de un receptor y que pueden ser moduladas por fenómenos de fosforilación y desfosforilación (son los más conocidos, aunque existen otros); además, una vía de señalización puede modular otras vías, lo que se conoce como *entrecruzamiento de vías*.

Los elementos básicos que participan en la transducción de señales son una señal (ligando), receptor, mecanismo de señalización y respuesta.

La activación de un receptor específico por un ligando específico desencadena una vía de señalización que produce una respuesta (mecánica, génica, eléctrica, entre otras). La naturaleza de la respuesta dependerá del tipo de receptor que esté participando, la sensibilidad del receptor por el ligando, el número de receptores expresados, la cantidad de ligando, el tiempo de unión ligando-receptor y los mecanismos de regulación internos.

La regulación a la baja por mecanismos internos tras la activación prolongada de un receptor es la internalización de este y su reciclaje a la membrana o su degradación.

Desde el punto de vista intracelular, la capacidad de las células de establecer una armonía entre las señales que recibe y las respuestas que evocan se puede llevar a cabo mediante los receptores, los cuales son modulados, regulados y controlados por mecanismos altamente especializados y dinámicos.

Debido a esta característica de los receptores celulares, se han establecido diferentes clasificaciones que, por su gran nivel de especialización, no se incluyen en el texto, pero se resaltan los receptores y vías más utilizadas en el estudio de la fisiología.

Receptores acoplados a proteínas G (GPCR)

Por su característica molecular, también son conocidos como *receptores de siete pasos transmembranales* y constituyen una gran familia de receptores de membrana. Aún no se conoce el tamaño exacto de esta familia de receptores, pero se estima que aproximadamente el 4% del genoma codifica para ellos.

Las señales que pueden activarlos incluyen compuestos sensibles a la luz, odorantes, hormonas y neurotransmisores.

Las principales vías de transducción de señales que son evocadas tras la activación de un GPCR son la vía de adenosín monofosfato cíclico (cAMP) y la de fosfatidilinositol.

Los GPCR se llaman así porque se encuentran acoplados a proteínas G, específicamente a proteínas G heterotriméricas, es decir, formadas por tres subunidades proteicas diferentes: α , β y γ . Además, existen diferentes tipos de subunidades α , típicamente se conocen como G_α y los más comunes son $G_{\alpha s}$, $G_{\alpha i}$, $G_{\alpha q}$ y $G_{\alpha 12/13}$. Cuando un ligando se une a su GPCR diana induce un cambio conformacional en él y activa a la proteína G asociada (en su estado inactivo se encuentra unida a GDP y en su estado activo a GTP). Una vez activa, la proteína G se disocia en G_α y $G_{\beta\gamma}$, las cuales inician vías de señalización específicas, que dependen del tipo de subunidad α a la que se encuentre acoplado el GPCR, las subunidades β y γ permanecen unidas como un dímero ($G_{\beta\gamma}$), que es capaz de señalar de forma independiente de G_α (Figura 1.1).

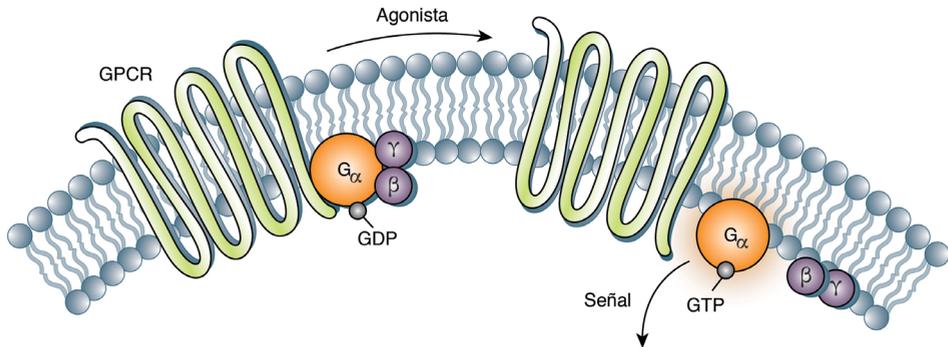


Figura 1.1. Mecanismos de activación de un GPCR.

Tras la activación del GPCR, la proteína G inactiva (unida a GDP) se activa (se une a GTP) y se le libera G_α y $G_{\beta\gamma}$ para iniciar la señalización celular. (Li, J. *et al.*, 2002).

El efector de las vías $G_{\alpha s}$ y $G_{\alpha i}$ es la enzima adenilato ciclasa (AC), la cual cataliza la conversión de adenosina trifosfato (ATP) a cAMP. La subunidad $G_{\alpha s}$ estimula directamente a la AC y con ello la formación de cAMP. Mientras que la subunidad $G_{\alpha i}$ impide que la AC genere cAMP. Por lo tanto, un GPCR acoplado a $G_{\alpha s}$ contrarresta las acciones de un GPCR acoplado a $G_{\alpha i}$, y viceversa.

Por otro lado, la subunidad $G_{\alpha q}$ es responsable de activar a la fosfolipasa $C\beta$ (PLC β), la cual es capaz de catalizar lípidos de membrana como el fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP2), obteniendo como productos los segundos mensajeros inositol (1,4,5) trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). El IP3 actúa sobre los receptores de IP3 que se encuentran en la membrana del retículo

endoplásmico y provocan la liberación de Ca^{2+} de este, mientras que el DAG activa a la proteína cinasa C (PKC). El Ca^{2+} que es liberado por el IP3 puede activar un tipo de proteínas denominadas *calmodulinas*, que, a su vez, continúan uniéndose y activando alostéricamente enzimas como las cinasas, dependientes de la calmodulina (Ca^{2+} /CAMK).

La activación de la subunidad $\text{Ga}_{12/13}$ induce la activación de la proteína Rho, responsable de la regulación del citoesqueleto. La mayoría de los GPCR que se acoplan a $\text{Ga}_{12/13}$ también se acoplan a otras subclases, como Ga_q . Esta vía de señalización está muy descrita en enfermedades como el cáncer.

El dímero $\text{G}\beta\gamma$ induce la activación de vías importantes, particularmente en el caso de GPCR acoplados a *Gas/i*. En este caso, los principales efectores de $\text{G}\beta\gamma$ son distintos canales iónicos, como los canales de K^+ rectificadores de entrada, los canales de Ca^{2+} regulados por voltaje de tipo P/Q y N, así como algunas isoformas de AC y PLC.

Los GPCR regulan una gran cantidad de procesos fisiológicos, por ejemplo: en el sentido visual, las opsinas utilizan una reacción de fotoisomerización para traducir la radiación electromagnética en señales celulares. En el gusto regulan la liberación de gustducina en respuesta a sustancias de sabor amargo, umami y dulce. En el olfato responden a señales como odorantes (receptores olfativos) y feromonas (receptores vomeronasales). En la regulación del comportamiento y del estado de ánimo, siendo receptores de varios neurotransmisores diferentes, que incluyen serotonina, dopamina, GABA y glutamato. En la transmisión del sistema nervioso autónomo, tanto el sistema nervioso simpático como el parasimpático están regulados por las vías de señalización a través de los GPCR y son responsables del control de muchas funciones automáticas del cuerpo, como la presión arterial, la frecuencia cardíaca y los procesos digestivos. En el sistema endócrino son receptores de hormonas derivadas de péptidos y aminoácidos para activar vías del cAMP, que a su vez activa a varias cinasas, capaces de inducir la transcripción génica.

Receptores tirosina cinasa (RTK)

Son receptores ubicados en la membrana celular con alta afinidad para factores de crecimiento, citocinas y hormonas. La mayoría de los RTK en su forma inactiva se encuentran como monómeros, pero en algunos casos se encuentran como dímeros, por ejemplo, el receptor de insulina.

En la región extracelular, los RTK presentan sitios de reconocimiento a ligando y en la región intracelular presenta un alto nivel de conservación y comprende los dominios catalíticos responsables de la actividad cinasa de estos receptores, que cataliza la fosforilación del receptor en los residuos de tirosina.

La unión del ligando estabiliza la dimerización del receptor y permite la transfosforilación de los receptores. La fosforilación de residuos de tirosina en la porción intracelular del receptor activado es susceptible de reconocimiento por proteínas que tienen dominios de la homología 2 de Src (SH2) y el

dominio de unión a fosfotirosina (PTB). Las proteínas específicas que contienen estos dominios incluyen Src y fosfolipasa C γ . La fosforilación y activación de estas dos proteínas en la unión del receptor conducen al inicio de las vías de transducción de señales. Además, existen otras proteínas que interactúan con el receptor activado y actúan como proteínas adaptadoras. Estas proteínas adaptadoras vinculan la activación de RTK con otras vías de transducción de señales, como la cascada de señalización de las MAP cinasas. Como los receptores RTK fosforilan muchos residuos de tirosina, pueden activar múltiples vías de transducción de señales.

Los mecanismos de regulación de los RTK involucran a proteínas tirosina fosfatasas (PTP), las cuales son enzimas que poseen un dominio catalítico con actividad de fosfohidrolasa específica de fosfotirosina. Las PTP pueden desfosforilar los residuos de tirosina fosforilados activados en los RTK, lo que conduce a la inactivación del receptor. Además, se ha descrito que el receptor activado puede ser endocitado y llevado a degradación intracelular.

Canales iónicos

Desde el punto de vista bioquímico, los canales iónicos contribuyen a mantener el medio intracelular y extracelular en condiciones estables para la célula.

Sin embargo, su participación en los procesos de comunicación celular involucra la capacidad inherente de las células excitables de utilizar a los canales iónicos como receptores para convertir mensajes químicos o mecánicos en señales eléctricas (es decir, transducir una señal).

Existen diferentes tipos de células excitables —como las neuronas, células musculares y células del tacto—, todas ellas tienen en común su capacidad para generar un gradiente de concentración iónica en la membrana plasmática (potencial eléctrico), cuando las condiciones son las adecuadas, los canales especializados en la membrana plasmática se abren y permiten el movimiento rápido de iones dentro o fuera de la célula, y este movimiento crea una señal eléctrica.

Los canales iónicos en su mayoría son proteínas multiméricas organizadas de manera que forman un poro que comunica el espacio intracelular con el extracelular. Los poros pueden abrirse y cerrarse en respuesta a señales químicas o mecánicas. Cuando el canal está abierto, los iones se pueden mover hacia adentro o fuera de la célula. Los canales iónicos tienen propiedades que les permiten discriminar entre diferentes iones, volviéndolos específicos, lo que significa que generalmente permiten que un solo tipo de ion pase a través de ellos. La especificidad está dada por los aminoácidos que recubren el poro como el ancho físico de este. En la mayoría de los canales iónicos, la apertura de un canal es un evento fugaz. Dentro de unos pocos milisegundos de apertura, la mayoría de los canales iónicos se cierran y entran en un estado de reposo, donde no responden a las señales por un corto periodo de tiempo (Figura 1.2).

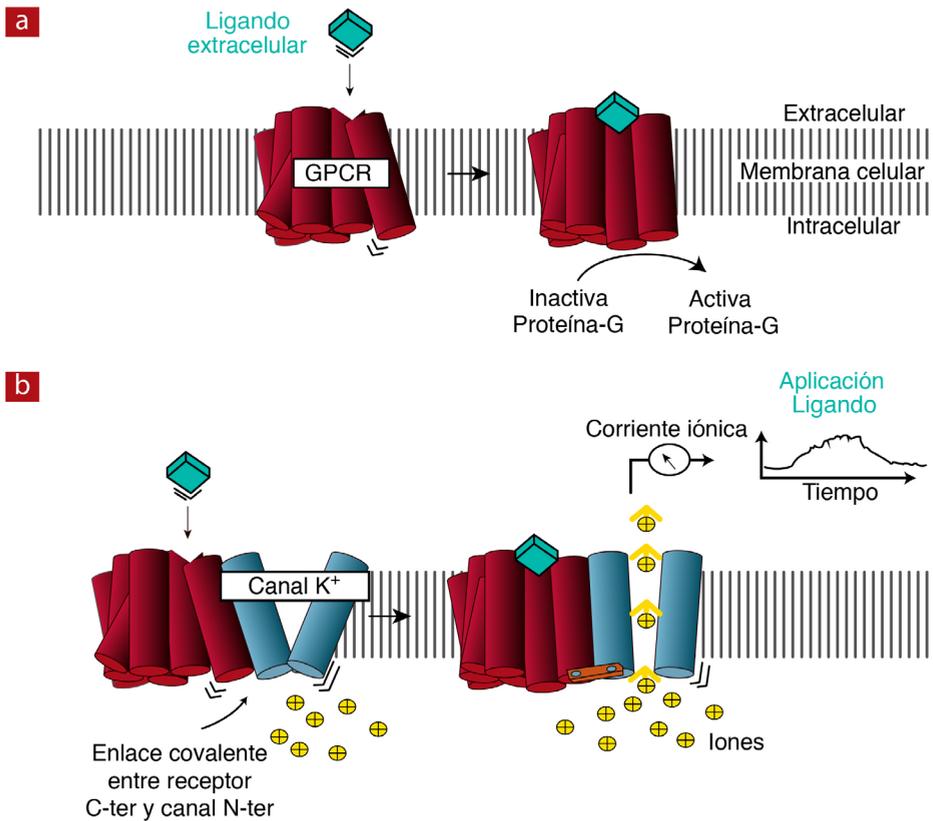


Figura 1.2. Comparación de la activación de un receptor de tipo canal iónico con la de un receptor acoplado a proteína G.

La activación de la proteína G (α) puede llevar a múltiples eventos intracelulares a través de una variedad de proteínas intracelulares. Esta señalización puede tomar de segundos a minutos. En los receptores de tipo canales iónicos esta activación del receptor provoca una respuesta en el orden de milisegundos (Moreau *et al.*, 2008).

La apertura de los canales iónicos modifica el gradiente electroquímico, que es una combinación de un gradiente químico y un gradiente de carga. La apertura de los canales iónicos permite que los iones a ambos lados de la membrana plasmática fluyan hacia abajo en este gradiente dual. La dirección del flujo varía según el tipo de ion y depende de la diferencia de concentración y de la diferencia de voltaje para cada ion. Este flujo de iones da como resultado una señal eléctrica. El número de iones necesarios para modificar el voltaje a través de la membrana es muy pequeño, esto es debido a que durante el momento que un canal está abierto (milisegundos), la

concentración del ion en el citoplasma no cambia significativamente, solo la concentración en las inmediaciones del canal. La señal eléctrica iniciada por la actividad del receptor del canal iónico viaja rápidamente sobre la superficie de la célula debido a la activación de otros canales iónicos.

Como es natural, las señales eléctricas viajan mucho más rápidamente que las señales químicas (ya que dependen de procesos de difusión molecular). Esta propiedad hace que las células excitables respondan mucho más rápido que las células que solo dependen de señales químicas.

Algunos ejemplos clásicos de células excitables son las neuronas, células musculares y células receptoras táctiles. De estas, las neuronas son quizá las más familiares. Las señales eléctricas pueden producir la liberación de mensajeros químicos (neurotransmisores). Si el neurotransmisor se une a un receptor de tipo canal iónico u otra célula adyacente, el canal iónico se abre y una señal eléctrica se propaga a lo largo de la célula objetivo.

Las neuronas tienen receptores de canales iónicos específicos para muchos tipos de neurotransmisores. Algunos de estos neurotransmisores actúan en una capacidad excitadora (glutamato), acercando cada vez más a sus células diana a la propagación de la señal. Otros neurotransmisores ejercen un efecto inhibitorio (GABA), contrarrestando cualquier entrada excitadora y disminuyendo la posibilidad de que la célula objetivo se dispare.

Las células musculares esqueléticas también dependen de señales químicas para generar señales eléctricas. Estas células tienen sinapsis que están llenas de receptores para la acetilcolina, que es el neurotransmisor primario liberado por las neuronas motoras. Cuando la acetilcolina se une a los receptores en una célula del músculo esquelético, los canales iónicos de esa célula se abren, y esto inicia una secuencia de eventos que resultan en la contracción de la célula.

Por otro lado, existen células que responden a estímulos mecánicos en lugar de a señales químicas. Un ejemplo son las células ciliadas del oído interno de los mamíferos y las células receptoras del tacto.

Este tipo de regulación de la comunicación celular se le conoce ampliamente como *comunicación ionotrópica*, y a la regulada por receptores acoplados a proteínas G como *metabotrópica*. Aunque la clasificación es correcta, el enfoque de este capítulo se centra en redescubrir el conocimiento sin generar vicios de aprendizaje.

Receptores nucleares

Este tipo de receptores son activados por ligandos liposolubles (como algunas hormonas), ya que es necesario atravesar la membrana celular para poder activarlos. Una vez activados, la mayoría funciona como factores de transcripción para regular la expresión de genes en numerosos procesos biológicos, incluidos la proliferación celular, el metabolismo y la reproducción.

Los receptores nucleares comparten una estructura común, que comprende un dominio altamente variable en el amino terminal, un dominio de unión al ADN conservado que incluye dos dedos de zinc (el dominio C), una región corta responsable de la localización nuclear (el dominio D) y un gran dominio de unión a ligando en el carboxilo terminal que se encuentra bien conservado y que también contribuye a las interacciones del subconjunto de receptores nucleares que forman heterodímeros.

Los receptores pueden existir como monómeros, homodímeros o heterodímeros y reconocen secuencias de ADN denominadas *elementos de respuesta hormonal*. Se pueden agrupar en cuatro subtipos según su modo de acción, aunque para fines prácticos nos centraremos en dos tipos. Los receptores tipo I, como el receptor de andrógenos, el receptor de estrógenos y el receptor de progesterona están anclados en el citoplasma por proteínas chaperonas. La unión del ligando libera al receptor de la chaperona, lo que permite la homodimerización, la exposición de la secuencia de localización nuclear y la entrada en el núcleo. Una vez en el núcleo, el complejo ligando-receptor se asocia con coactivadores transcripcionales que facilitan la unión y la activación de los genes diana. Los receptores tipo II, como el receptor de la hormona tiroidea y el receptor del ácido retinoico, por el contrario, residen en el núcleo unido a sus elementos específicos de respuesta al ADN, incluso en ausencia de ligando.

Reflexión del capítulo

Los mecanismos de comunicación celular establecen la dinámica de la fisiología, modulan los procesos de regulación funcional y mantienen las condiciones adecuadas para la vida.

Estudiarlos no solo implica conocerlos, se debe analizar y entender que aún faltan piezas clave que se siguen descubriendo, por lo que no deben memorizarse.

Los mecanismos de transducción de señales y las vías de señalización celular forman redes entramadas de codificación de señales, y para ser integradas se requiere un abordaje holístico de la fisiología.

Preguntas de integración

Basándote en los síntomas que la paciente explica:

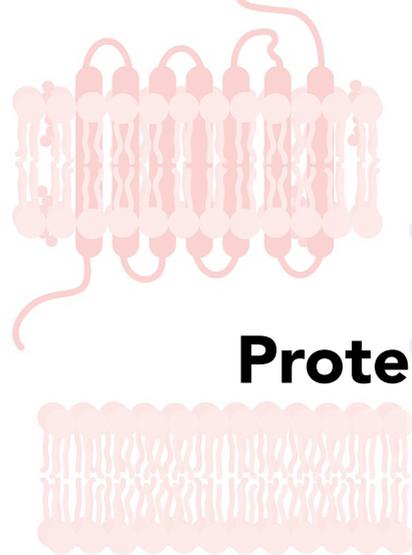
1. ¿Cuál es el mecanismo de señalización celular que produce las palpitaciones?
 - a. *Respuesta:* El mecanismo regulado por proteínas Gas a través de la vía del AMP/PKA capaz de activar los canales de calcio tipo L en los cardiomiocitos que se traduce en un incremento de la frecuencia cardíaca.

2. ¿Qué tipo de receptor modula la respuesta excitatoria de la paciente al estrés laboral?
 - a. *Respuesta:* Un receptor de tipo canal iónico (ionotrópico) que facilita la liberación del glutamato, un neurotransmisor excitatorio.

3. ¿Qué mecanismos de regulación negativa puede experimentar el receptor implicado en la respuesta cardíaca?
 - a. *Respuesta:* Al ser un GPCR, el mecanismo de regulación clásico es la internalización del receptor.

Referencias

- Moreau, C. J., Dupuis, J. P., Revilloud, J., Arumugam, K., & Vivaudou, M. (2008). Coupling ion channels to receptors for biomolecule sensing. *Nature nanotechnology*, 3(10), 620–625. <https://doi.org/10.1038/nnano.2008.242>
- Anonymous (2018). Truncation analysis. GPCRdb 2018. Recuperado el 30 de mayo de 2023, de <http://gpcrdb.org/construct/analysis#truncations>
- Peng, Y., McCorvy, J. D., Harpsøe, K., Lansu, K., Yuan, S., Popov, P., Qu, L., Pu, M., Che, T., Nikolajsen, L. F., Huang, X. P., Wu, Y., Shen, L., Bjørn-Yoshimoto, W. E., Ding, K., Wacker, D., Han, G. W., Cheng, J., Katritch, V., Jensen, A. A., ... Liu, Z. J. (2018). 5-HT_{2C} Receptor Structures Reveal the Structural Basis of GPCR Polypharmacology. *Cell*, 172(4), 719–730.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.01.001>
- Sever, R., & Glass, C. K. (2013). Signaling by nuclear receptors. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(3), a016709. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016709>
- Flock, T., Hauser, A. S., Lund, N., Gloriam, D. E., Balaji, S., & Madan Babu, M. (2017). Selectivity determinants of GPCR–G-protein binding. *Nature*, 545, 317–322.



Capítulo 2

Proteínas del hardware de señalización

Gustavo López Toledo, Gerard López García, César Martínez Peña

Contenido temático

- Objetivo general
 - > Objetivos particulares
- Introducción
- Proteínas de andamio
 - > Aspectos generales
 - > AKAPs
 - > IRS
 - > Pseudocinasas y pseudofosfatasa
- Proteínas cinasas
 - > Estructura general y función
 - > Proteína cinasa A (PKA)
 - > Vía de las cinasas PI3K/AKT
 - > Fosfatidilinositol 3 cinasa (PI3K)
 - > Proteína cinasa B (AKT)
 - > Proteína cinasa C (PKC)
 - > Cinasa dependiente de calcio-calmodulina (CAM)
 - > Fosfatasa
- Preguntas de integración
- Referencias

Objetivo general

Describir la participación funcional de las proteínas del hardware de señalización (proteínas andamio, cinasas y fosfatasa) en los mecanismos de transducción de señales.

Objetivos particulares

- Explicar las características estructurales y funcionales de las proteínas de andamio en la transducción de señales.
- Describir el mecanismo de control y refinamiento de la transducción de señales mediado por las proteínas de andamio a través de procesos fisiológicos celulares.
- Explicar la estructura general de las cinasas y su mecanismo en la amplificación y transducción de señales.
- Describir el proceso funcional de la transducción mediado por las cinasas y fosfatasa.
- Integrar la transducción mediada por las cinasas y fosfatasa y su correlación con eventos celulares.

Introducción

Las células suelen recibir señales en forma física, química o eléctrica, transmitiendo la señal a un receptor en su superficie, esto desencadena una serie de eventos que no solo llevan la señal al interior de la célula, sino que también la amplifica. Los principales elementos para la transducción de señales comprenden a los receptores, a las enzimas de señalización, a los segundos mensajeros y a las proteínas de andamiaje (adaptadoras). Pocas vías de señalización son lineales, por lo que la mayoría se ramifica y se entrecruza, lo que permite que las células integren información de múltiples receptores y controlen múltiples sistemas efectores simultáneamente, por lo cual las células requieren de proteínas que permitan transmitir, amplificar, especificar y refinar señales, como las proteínas de andamio que organizan la transducción de manera espacial y temporal, así como de cinasas y fosfatasa que amplifiquen y finalicen la transducción. En este capítulo describiremos a este grupo de proteínas basados en aspectos como la estructura, función, clasificación y su participación en la transducción de señales a través de ciertos procesos fisiológicos y patológicos.

Proteínas de andamio

Aspectos generales

Las proteínas de andamio son elementos organizativos no catalíticos con sitios de unión a enzimas que participan en la transducción y terminación de señales, permitiendo un control preciso sobre múltiples procesos celulares (Mugabo y Lim, 2018). Debido a su interacción con diversos componentes de las vías de señalización, las proteínas de andamio pueden:

- a. Dirigir proteínas a una localización subcelular particular;
- b. Permitir el control temporal de la señalización;
- c. Mantener en su lugar a los miembros de una cascada de señalización, enfocando la actividad enzimática en un determinado sitio; y

- d. Modular alostéricamente la actividad de las enzimas a las que se unen, convirtiéndose en blancos de regulación (Figura 2.1) (Langeberg y Scott, 2015; Rusnak y Fu, 2017).

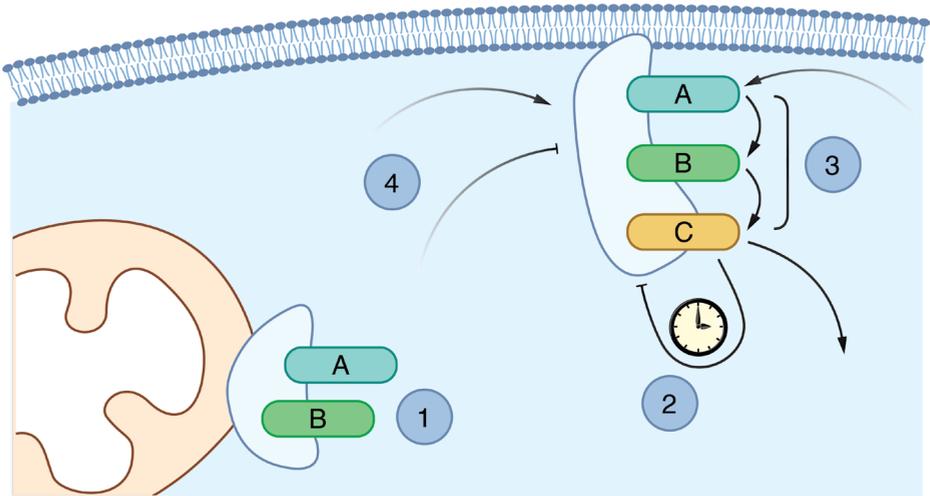


Figura 2.1. Las proteínas de andamio organizan el flujo de información celular.

- 1) Las proteínas de andamio pueden restringir o dirigir a las enzimas a una localización subcelular particular (organización espacial).
- 2) Las proteínas de andamio son dianas de retroalimentación positiva o negativa: la latencia y duración de esta retroalimentación las convierte en organizadores temporales de la señalización.
- 3) Las proteínas de andamio mantienen en sitio a los miembros de una cascada de señalización, aumentando la eficacia de la señal.
- 4) Las proteínas de andamio son un blanco de regulación desde otras vías, debido a su papel como moduladores alostéricos de las enzimas a las que se unen.

Desde el punto de vista estructural, las proteínas de andamio son diversas y se componen de múltiples dominios de interacción modular (Good *et al.*, 2011). Los dominios modulares confieren funciones específicas a las proteínas de andamio, como la capacidad de ensamblarse en complejos multiproteícos dinámicos y dirigirse a una localización subcelular particular; por ejemplo, el dominio de homología a pleckstrina (PH), que se une a fosfoinosítidos con alta afinidad, recluta a las proteínas de andamio al lado interno de la membrana para el ensamblaje de complejos de señalización. Así como el dominio de homología Sarc 2 (SH2) o el dominio de unión a fosfotirosina (PTB) de ciertas proteínas de andamio, las cuales se ensamblan a un residuo de tirosina fosforilado del extremo N-terminal de los receptores tirosina cinasa, ocasionando la fosforilación de la proteína adaptadora y permitiendo que las proteínas efectoras se acoplen a la proteína de andamio y se realice la transmisión de la señal (Mayer, 2015).

En esta sección, se examinan las propiedades y funciones de las proteínas de andamio mediante algunos ejemplos prototípicos, así como su relevancia en la transducción de señales.

AKAPs

Las proteínas de anclaje de cinasa A (AKAP, por sus siglas en inglés) son un grupo de alrededor de 50 proteínas de andamio cuya función común es unirse a la proteína cinasa A (PKA) y secuestrarla dentro de dominios subcelulares específicos (Dema *et al.*, 2015). Aunque son estructuralmente diversas, las AKAP tienen como motivo distintivo una hélice anfipática que se acopla a los dominios de dimerización/acoplamiento (dominios D/D) en el extremo N-terminal de las subunidades reguladoras tipo I (RI) y tipo II (RII) de la PKA (Figura 2.2) (Sarma *et al.*, 2010). La PKA es una serina/treonina (Ser/Thr) cinasa ubicua con cientos de sustratos y funciones, como la regulación transcripcional, el metabolismo energético, la activación de canales iónicos, el reordenamiento del citoesqueleto, entre otras (Omar y Scott, 2020). Algunos de estos procesos se ejecutan de manera simultánea en una misma célula, por lo que la organización espacio-temporal que permiten las AKAPs es fundamental para asegurar la especificidad de la señalización y minimizar la interferencia entre las vías de señalización conocida como *diafonía* (*cross-talk*) (Taylor *et al.*, 2012).

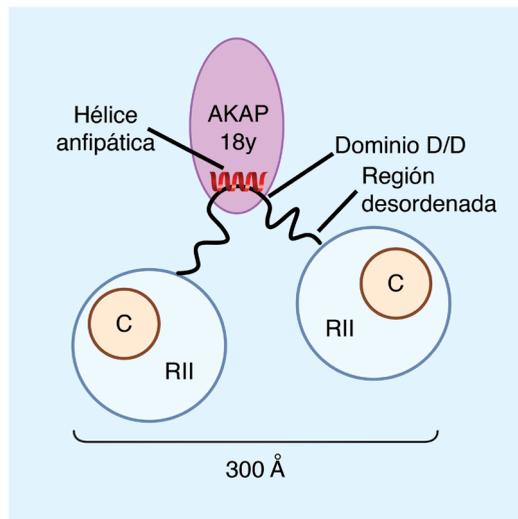


Figura 2.2 Proteínas de anclaje de cinasa A (AKAP).

Modelo estructural de una enzima PKA unida a AKAP18 mostrando un ensamblaje heteropentamérico; una subunidad AKAP18, un dímero de subunidades reguladoras de tipo II (RII) y dos subunidades catalíticas (C) de PKA.

Por otra parte, las diferentes conformaciones de los complejos AKAP diversifican las funciones de la PKA y aproximan los componentes de una vía de transducción, aumentando la eficacia de la señalización (Torres-Quesada *et al.*, 2017). Un ejemplo de esto es AKAP1, que forma complejos adyacentes a la membrana externa mitocondrial en cardiomiocitos, facilitando la fosforilación de sustratos críticos de la respiración mitocondrial, como el citocromo C oxidasa (Marin, 2020). Se ha demostrado que la delección del gen AKAP1 empeora la respuesta cardíaca a la isquemia miocárdica y acelera la progresión a insuficiencia cardíaca, probablemente debido a su papel en la regulación de la función mitocondrial; sus efectos cardioprotectores la convierten en una diana terapéutica potencial para la prevención y el tratamiento del infarto agudo al miocardio y la hipertrofia cardíaca patológica (Schiattarella *et al.*, 2016, 2018).

En resumen, las AKAP ilustran la capacidad de las proteínas de andamio de formar complejos multiproteicos y de dirigir a los componentes de una cascada de señalización hacia microdominios subcelulares puntuales, confiriendo especificidad a la actividad enzimática y aislando la señal de perturbaciones.

IRS

Los sustratos del receptor de insulina (IRS, por sus siglas en inglés) son la clase mejor descrita de andamios del receptor de insulina (IR). Aunque existen 6 isoformas, de las cuales las isoformas IRS1 y 2 median la gran mayoría de los efectos metabólicos de la activación del IR (Eckstein *et al.*, 2017). Los IRS están caracterizados por un dominio PH en su segmento N-terminal, un dominio de unión a fosfotirosina adyacente y una cola C-terminal con numerosos sitios de fosforilación de tirosina y serina/treonina (Figura 2.3A) (Petersen y Shulman, 2018).

Luego de la unión de la insulina a su receptor, se produce un cambio conformacional en las subunidades β del IR que permite la autofosforilación de residuos de tirosina, lo cual sirve como sitio de reconocimiento y unión del IRS a través de su dominio PTB, mientras que el dominio PH permite su anclaje a la membrana; después, la fosforilación de IRS por el IR β resulta en el reclutamiento de moléculas que contienen dominios de homología Src-2 (SH2) y la activación de vías de señalización específicas, como la cascada PI3K-AKT, regulando la síntesis de glucógeno y proteínas de crecimiento, diferenciación y proliferación celular (Eckstein *et al.*, 2017). Aunque las IRS no poseen actividad catalítica, la ausencia de las isoformas 1 y 2 produce muerte embrionaria en modelos murinos, mientras que la deficiencia aislada de IRS2 conduce a diabetes debido al desarrollo de resistencia a la insulina (Peng y He, 2018).

Los IRS demuestran el papel de las proteínas de andamio como sitio de regulación fina de la señalización. La fosforilación de los residuos de Ser/Thr del IRS por retroalimentación de cinasas estimuladas por insulina regula a su vez el grado de fosforilación de los residuos de tirosina del IRS, lo cual modula la interacción con el receptor de insulina (Eckstein *et al.*, 2017).

En esta retroalimentación compleja, que puede ser positiva o negativa, participan múltiples cinasas y al menos 50 sitios de fosforilación Ser/Thr de IRS, y su importancia se pone de manifiesto en la diabetes, pues esta patología exhibe patrones alterados de fosforilación de los IRS (Copps y White, 2012). Un ejemplo de esta retroalimentación es la activación de Akt (proteína cinasa B) inducida por insulina-IRS, lo que conduce a la activación indirecta del complejo de rapamicina 1 (mTORC1), el cual a su vez fosforila a la proteína ribosómica S6 cinasa 1 (S6K1); finalmente, mTORC1 y S6K1 fosforilan al IRS1 en residuos serina (Figura 2.3B), conduciendo a la terminación de la señalización debida a la disociación del IRS1 del receptor de insulina y su posterior degradación dependiente de proteasoma (Yoon, 2017).

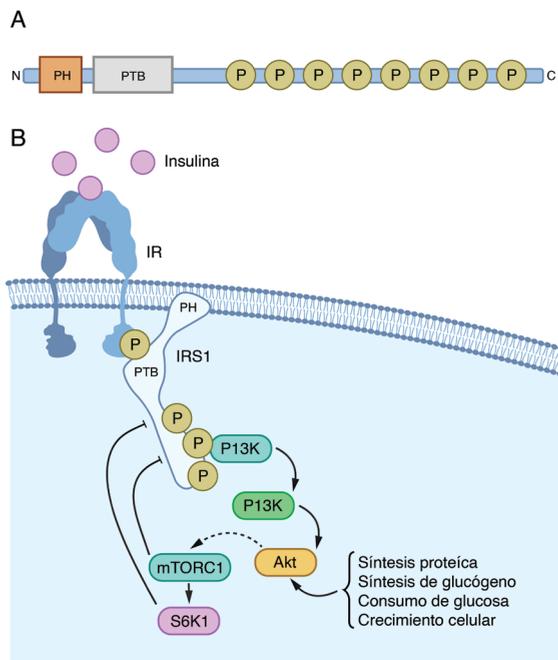


Figura 2.3. Estructura y función de IRS1.

A. La estructura del IRS1 es modular, conformada por un dominio PH N-terminal de unión a la membrana, un dominio PTB que le permite asociarse al receptor de la insulina y una cola C-terminal con numerosos sitios de fosforilación. B. Se ilustra la cascada de señalización de la insulina mediada por IRS1, mismo que se convierte en un sitio de regulación por retroalimentación por el complejo mTORC1 y la cinasa S6K1. Akt, proteína cinasa B; IR, receptor de insulina; IRS1; sustrato del receptor de insulina 1; mTORC1, complejo de rapamicina 1; P, grupos fosfatos; PDK1, proteína cinasa 1 dependiente de 3-fosfoinositido; PH, dominio de homología a pleckstrina; PI3K, fosfoinositol 3-cinasa; PTB, dominio de unión a fosfotirosina; S6K1, proteína ribosómica S6 cinasa 1.

Además de la fosforilación como mecanismo de modificación postraduccional, los IRS pueden regularse por ubiquitinación. La proteína Mitsugumin 53 específica de músculo (MG53) actúa como una ligasa de ubiquitina dirigida al IR y al IRS para su degradación, siendo un mecanismo central de regulación de la fuerza de la señalización de insulina (Song *et al.*, 2013). En este sentido, aunque la regulación de las proteínas de andamio es un campo complejo y actualmente en desarrollo, abre la posibilidad de estrategias terapéuticas novedosas. Por ejemplo, un disruptor de MG53 ha sido probado con éxito en modelos murinos en el tratamiento de la resistencia a la insulina (Park *et al.*, 2018).

La naturaleza transitoria de estas y otras modificaciones postraduccionales, así como la atenuación o amplificación con el tiempo debido a retroalimentación, les confiere a los IRS y otras proteínas de andamio su papel en el control temporal de la señalización. Por otra parte, el reclutamiento de moléculas que participan en funciones celulares distintas convierte a las proteínas de andamio en nodos de ramificación de las vías de señalización.

Pseudocinasas y pseudofosfatasa

Alrededor de 8-10% de las proteínas cinasas y fosfatasa humanas carecen de los restos clave para la actividad catalítica, por lo cual se han denominado *pseudocinasas* y *pseudofosfatasa*, respectivamente (Langeberg y Scott, 2015). Estas pseudoenzimas, también llamadas *enzimas muertas*, son proteínas con un dominio de unión a sustrato funcional, pero sin un nivel detectable de actividad catalítica, con motivos dirigidos a orgánulos y dominios de interacción proteína-proteína (Aggarwal-Howarth y Scott, 2017).

Las pseudocinasas funcionan como moduladores alostéricos, interruptores moleculares, formadores de complejos e inhibidores competitivos en vías de señalización, usando el sitio catalítico inactivo de la pseudocinasa como módulo de interacción proteína-proteína (Mace y Murphy, 2021). Debido a que las cinasas se caracterizan por su capacidad para unir ATP y Mg^{2+} , y catalizar la transferencia de fosforilo, las pseudocinasas se clasifican de acuerdo con si son incapaces de unir nucleótidos y cationes (clase I), solo son capaces de unir nucleótidos (clase II) o cationes (clase III), o unen nucleótidos y cationes, pero aun así no pueden transferir el fosforilo (clase IV) (Murphy *et al.*, 2014).

Un ejemplo de pseudocinasa es la cinasa supresora de Ras (KSR), un andamio que une a tres miembros sucesivos de la cascada ERK, la cual impulsa la proliferación y diferenciación celular (Figura 2.4A) (Langeberg y Scott, 2015). El KSR es un promotor e inhibidor de la señalización de Ras, pues a un nivel óptimo promueve la fosforilación de la proteína cinasa activada por mitógenos (MEK) a través de la Ser/Thr cinasa Raf, ocasionando una mayor activación de la proteína cinasa regulada por señales extracelulares (ERK) mediado por el aumento de la fosforilación de MEK; sin embargo, a niveles superiores de KSR, esta misma función de andamiaje secuestra los com-

ponentes individuales de la cascada MAPK (Raf, MEK y ERK) interrumpiéndola (Frodyma *et al.*, 2017). Por otro lado, el oncogén Ras se encuentra mutado en 25% de los cánceres, por lo cual la interrupción de esta vía adquiere especial importancia clínica (Frodyma *et al.*, 2017). El hallazgo en ratones transgénicos carentes del gen *KSR1* los cuales son fenotípicamente normales, pero resistentes a la tumorigénesis inducida por Ras, convirtiendo a KSR en una diana terapéutica atractiva contra el cáncer (Neilsen *et al.*, 2017).

Un arquetipo de pseudofosfatasa es la proteína que interactúa con serina/treonina/tirosina (STYX), que compite con la fosfatasa de especificidad dual 4 (DUSP4) por la unión a la cinasa ERK-1/2 en el núcleo (Figura 2.4B) (Langeberg y Scott, 2015). De este modo, la proteína STYX funciona como una trampa de sustrato, afectando el transporte nucleocitoplasmático de ERK. En conjunto, STYX representa dos propiedades de las pseudoenzimas: la competencia con la enzima activa y la capacidad de anclaje en dominios subcelulares definidos; esto último, aunado a una mayor temporalidad de la unión al sustrato en comparación con las enzimas activas, convierte a STYX en un coordinador espacio temporal de la señalización (Reiterer *et al.*, 2017).

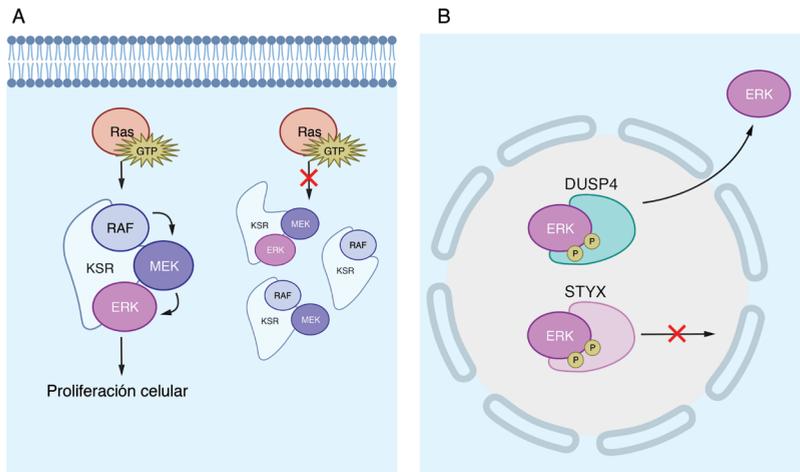


Figura 2.4. Pseudocinasas y pseudofosfatasa como proteínas de andamio.

A. La pseudocinasa KSR es una proteína de unión para miembros sucesivos de la cascada RAF-MEK-ERK. Cuando aumenta su concentración relativa, secuestra estos componentes e interrumpe la señalización. B. La pseudofosfatasa STYX compite con las fosfatasa DUSP por la unión de ERK en el núcleo. La unión de DUSP a ERK produce la desfosforilación del segundo y translocación hacia el citoplasma, mientras que la unión de STYX secuestra a ERK en el núcleo. La DUSP4, fosfatasa de especificidad dual 4; ERK, proteína cinasa regulada por señales extracelulares; GTP, guanosina trifosfato; KSR, cinasa supresora de Ras; MEK, proteína cinasa activada por mitógenos; RAF, cinasa de fibrosarcoma rápidamente acelerada; STYX, proteína que interactúa con serina/treonina/tirosina.

En resumen, las proteínas de andamio cumplen un rol fundamental en la señalización intracelular. Por lo que resulta apremiante desentrañar su participación como coordinadores de señales, pues los hallazgos en el campo de estas proteínas responden muchas de las preguntas que no quedaban satisfechas con los modelos lineales de señalización centrados en elementos catalíticos. Ahora sabemos que algunos elementos considerados inertes, como las llamadas *enzimas muertas*, adquieren propiedades emergentes en la organización y regulación de la señalización. La alta heterogeneidad estructural de los andamios asegura la especificidad de la señal, pues su composición modular hace posible una amplia variedad de arreglos que, por otra parte, diversifican las funciones de las enzimas, como en el caso de las AKAP. Su estructura compleja permite, a su vez, la existencia de múltiples sitios de regulación por modificación postraducciona desde otras vías y desde la misma vía, formando bucles de retroalimentación que confieren robustez a la señalización, ejemplificado en los IRS. Finalmente, la latencia de estas modificaciones postraduccionales y la capacidad de las proteínas de andamio de dirigir a los elementos de una cascada de señalización hacia un dominio subcelular específico convierten a los andamios en elementos esenciales de la organización temporal y espacial de la señalización.

Proteínas cinasas

Estructura general y función

Las proteínas cinasas (PK, por sus siglas en inglés) presentan un papel importante en la homeostasis celular como mediadoras y efectoras de la transducción de señales, controlando procesos como la transcripción de genes, de rutas metabólicas, de apoptosis, entre otros y repercutiendo en los diversos sistemas del cuerpo humano (Manning *et al.*, 2002). Desde su descubrimiento en la década de los cincuenta, los subtipos de proteínas cinasas han ido aumentando. En la actualidad podemos clasificarlas en 10 subtipos (Tabla 1) entre los que encontramos a las proteínas serina/treonina (Ser/Thr) cinasa y a las tirosina (Tyr) cinasas (Cheek *et al.*, 2005).

Tabla 1. Clasificación de las proteínas cinasas

Subtipos de proteínas cinasas	Ejemplos
Grupo 1: Proteína serina/treonina cinasa	-PK dependiente de calcio/ calmodulina. -PI3 cinasa
Grupo 2: Tipo Rossmann secuencia 17071	-Glucocinasa

Grupo 3: Cinasa plegable de tipo ferredoxina secuencia 10973	-Nucleósido difosfato cinasa -Arginina cinasa
Grupo 4: Tipo ribonucleasa H secuencia 2768	-Hexocinasa
Grupo 5: Cinasa TIM barril β/α secuencia 1119	-Piruvato cinasa
Grupo 6: Cinasa GHMP secuencia 885	-Galactocinasa
Grupo 7: Tipo sintetasa AIR secuencia 1843	-Tiamina fosfato cinasa
Grupo 8: Riboflavina cinasa secuencia 565	-Rivoflavina cinasa
Grupo 9: Dihidroxiacetona cinasa secuencia 197	-Glicerina cinasa
Grupo 10: Glicerato cinasa secuencia 148	-Glicerato cinasa

La estructura general de las PKs en las células eucariotas está constituida por un lóbulo C-terminal y un lóbulo N-terminal de menor tamaño, unidos mediante una unión bisagra y organizados alrededor de una hélice αF , conformando dos estructuras denominadas *espiga catalítica* y *espiga reguladora* (Figura 2.5) (Meharena *et al.*, 2013). La función principal de las PKs es llevar a cabo la transferencia de fosfato del ATP a un residuo de Thr/Ser/Tyr de un sustrato, evento que depende de la interacción de los motivos particulares de cada lóbulo (Patel y Doerksen, 2010).

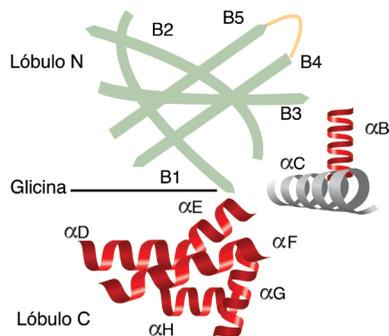


Figura 2.5. Estructura general de conformación bilobular de las proteínas cinasas.

El lóbulo N-terminal conformado mayoritariamente por láminas β antiparalelas y las hélices αB y αC . El lóbulo C-terminal se encuentra conformado por hélices α en su mayoría.

Para la unión de la molécula de ATP y su posterior fosforilación del sustrato cada lóbulo posee motivos con características particulares. El lóbulo-N está conformado por cinco láminas- β asociadas en forma de cadena: $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$ y $\beta 5$. En este lóbulo podemos encontrar el sitio de anclaje de la molécula de ATP en el motivo rico en glicina entre $\beta 1$ y $\beta 2$ (Taylor *et al.*, 2012), mientras que entre las láminas $\beta 3$ y $\beta 4$ encontramos a la hélice αC , la cual contiene un grupo glutamato que al entrar en contacto con la porción rica en lisina de $\beta 3$ se convierte en el sitio de anclaje del grupo fosfato- γ del ATP siendo esta interacción un marcador de activación de la cinasa (Figura 2.6) (Taylor y Kornev, 2011), denominado bucle de iniciación.

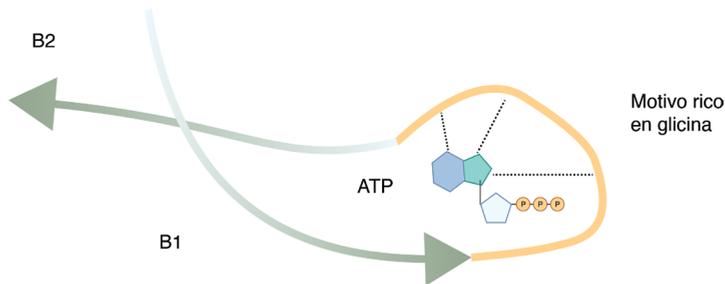


Figura 2.6. El fosfato del ATP es posicionado entre las láminas $\beta 1$ y $\beta 2$ a través del motivo rico en glicina 3.

El lóbulo-C se encuentra constituido por las hélices αD , αE , αF , αG , αH (Figura 2.5) y 4 láminas- β : $\beta 6$, $\beta 7$, $\beta 8$ y $\beta 9$ (Meharena *et al.*, 2013). Así como en el lóbulo-N, el lóbulo-C se encuentra dividido en motivos para la catálisis y la fosforilación de sustratos, entre las láminas $\beta 6$ y $\beta 7$ encontramos el bucle catalítico (Hys-Arg-Asp) y entre $\beta 8$ y $\beta 9$ el motivo de activación (Asp-Phe-Gly) (Taylor y Kornev, 2011). El ATP anclado a la cinasa presenta dos moléculas de Mg^{2+} (Meharena *et al.*, 2013), las cuales son reconocidas y ancladas al lóbulo-C en su bucle de posicionamiento de Mg^{2+} , entre las láminas $\beta 8$ y $\beta 9$ (Taylor *et al.*, 2012).

La activación de la cinasa ocasiona que dos aminoácidos de leucina de la lámina $\beta 4$ del lóbulo-N entren en contacto con los aminoácidos fenilalanina y tirosina del lóbulo C, formando la espiga reguladora y a su vez permitiendo que el aspartato del motivo de activación interactúe con las moléculas de magnesio (Taylor y Kornev, 2011). El acoplamiento y la formación de la espiga reguladora es un regulador de la actividad de las cinasas (Taylor *et al.*, 2012; Taylor y Kornev, 2011). A diferencia de la espiga reguladora, la espiga catalítica se encuentra completa con el anillo de adenina del ATP anclando directamente a los residuos del lóbulo-N (valina de $\beta 2$ y alanina de $\beta 3$) y el residuo del lóbulo-C (leucina de $\beta 7$), contribuyendo con el posicionamiento del ATP (Figura 2.7) (Taylor y Kornev, 2011).

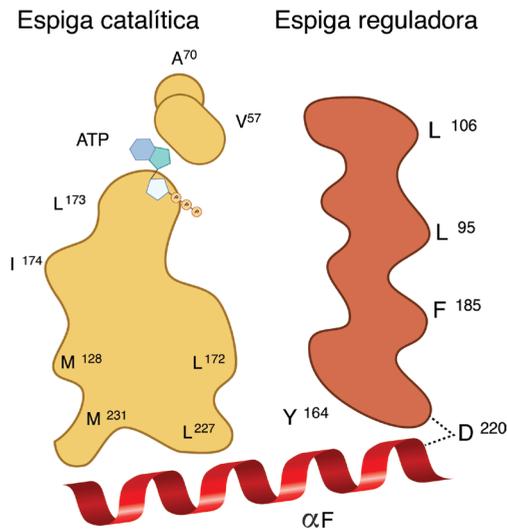


Figura 2.7. Representación gráfica de los componentes involucrados en la formación de las espigas regulada y catalítica.

La espiga reguladora presenta 4 residuos de subdominios cinasa, anclado a la hélice α F por aspartato 220. La estructura de la espiga catalítica es completada por la molécula de ATP.

La función catalítica común de las proteínas cinasas específicas de Ser/Thr y Tyr es la fosforilación covalente de las proteínas del sustrato mediante la transferencia del fosfato- γ del ATP al grupo hidroxilo de los residuos de serina, treonina o tirosina, requiriéndose aminoácidos ácidos de la región catalítica para estabilizar el estado de transición, la presencia de un grupo OH⁻ activado dado por el sustrato para el ataque de electrones sobre el grupo fosfato del ATP, la presencia de los iones magnesios ya mencionados para estabilizar el posicionamiento de la molécula de ATP, así como de aminoácidos básicos para estabilizar las cargas negativas del estado de transición y el grupo saliente de ADP (Wang y Cole, 2014).

Proteína cinasa A (PKA)

La proteína cinasa A (PKA) es un tipo de serina/treonina cinasa dependiente de AMP cíclico (AMPc). En su forma inactiva existe como holoenzima tetramérica, conformada por dos subunidades catalíticas dada por 3 isoformas (C α , C β o C γ) y dos subunidades reguladoras de tipo RI (RI α o RI β) o RII (RII α o RII β) (Turnham y Scott, 2016). La clasificación de la PKA está dada por el tipo de subunidad presente en su estructura (Tabla 2), así como por su ubicación, siendo las PKA I de predominio citosólico y la PKA II de membrana celular (Diviani *et al.*, 2019).

Tabla 2. Isoformas de la PKA dado el tipo de subunidad que la conforma

Región catalítica	Región reguladora
α	R1 α
β	R11 β
γ	R1 β /R11 α

El acoplamiento de 2 moléculas de AMPc por cada subunidad reguladora permite la disociación de las subunidades catalíticas y su respectiva activación, permitiendo la fosforilación de una serina o treonina (Figura 2.8) (Diviani *et al.*, 2019).

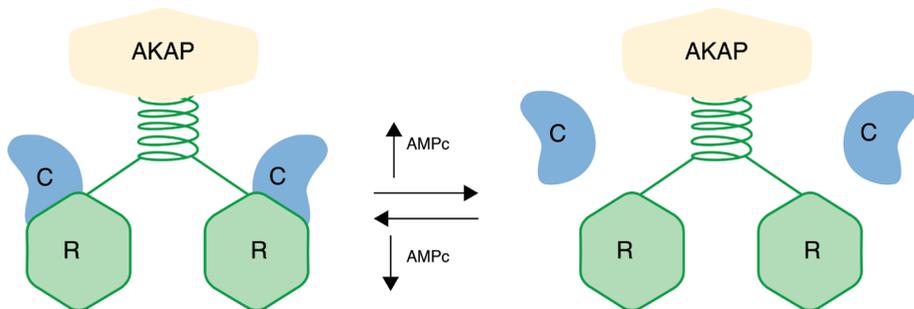


Figura 2.8. Componentes de una PKA.

En azul las subunidades catalíticas y en verde las subunidades reguladoras en contacto con una enzima de andamio AKAP (amarillo). El segundo mensajero AMPc (negro) se une a la subunidad reguladora liberando la subunidad catalítica.

En un ejemplo fisiológico, la actividad de la PKA juega un papel en la regulación de la glucemia. La presencia de incretinas inicia una cascada de señalización que comienza con la unión de GLP-1 a los receptores acoplados a proteína Gs, con la consiguiente activación de la adenilato ciclasa y el aumento de AMPc, ocasionando la activación de la PKA y la subsecuente fosforilación de CREB que como factor transcripcional aumenta la transcripción de IRS-2 y de insulina, así mismo PKA media la fosforilación del canal Cav 1.2, favoreciendo el flujo intracelular de calcio y la fosforilación de la proteína asociada a vesículas secretoras Snapin, dando como resultado un aumento en la liberación de la insulina (Yang y Yang, 2016).

Vía de las cinasas PI3K/AKT

La vía de señalización PI3K/AKT es esencial en la supervivencia celular, pues media acciones de proliferación, adhesión, metabolismo y crecimiento celular; por lo que alteraciones en su regulación son causa del crecimiento y mantenimiento de células cancerígenas (Porta *et al.*, 2014).

Fosfatidilinositol 3 cinasa (PI3K)

PI3K pertenece a un grupo de cinasas lipídicas capaces de fosforilar el anillo inositol. Se constituye por una subunidad reguladora encargada de mediar la interacción de los receptores tirosina cinasa con la subunidad catalítica. Las cinasas se dividen en tres clases de acuerdo con el sustrato de activación (Goncalves *et al.*, 2018). La clase I, activadas por insulina; se subclasifica en IA, ligadas a proteínas tirosina cinasa, y IB, activadas por receptor acoplado a proteína G (Porta *et al.*, 2014). La clase II carece de subunidad reguladora e influye indirectamente en la señalización celular al regular el tráfico de membrana. La clase III regula procesos de autofagia, pinocitosis y fagocitosis; VPS34 es el único ejemplar en humanos (Bilanges *et al.*, 2019).

La molécula de fosfatidilinositol es un lípido constituido por una molécula de diacilglicerol y una cabeza inositol, cuya carga puede ser alterada mediante la fosforilación a través de PI3K, generando los segundos mensajeros fosfatidilinositol 3-fosfato (PI3P), fosfatidilinositol 3,4-bifosfato (PI-3,4P2) y fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP₃) (Figura 2.9) (Goncalves *et al.*, 2018).

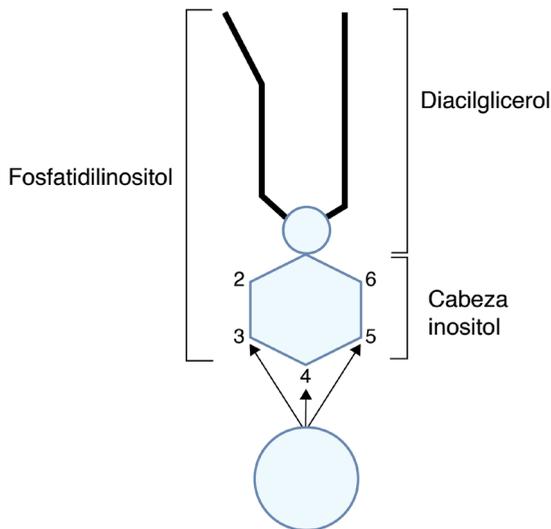


Figura 2.9. Estructura del fosfatidilinositol y sus sitios de fosforilación.

La membrana celular es el sitio de inicio de la vía de señalización a través de receptores de membrana; una vez formado, PIP_3 funciona como sitio de anclaje para dos cinasas PDK1 y PDK2 (mTORC2), las cuales fosforilan y activan la serina/treonina cinasa AKT.

La vía PI3K/AKT regula acciones pro-inflamatorias y activa acciones anti-inflamatorias al ser partícipe de la polarización de los macrófagos (diferentes respuestas funcionales en respuesta al ambiente). Al recibir estimulación por IL-10, TGF- β o por TLR4, la cinasa PI3K inicia una cascada de regulación a la baja en la producción de citocinas, iniciando con la formación de PIP_3 a partir de PIP_2 , seguido de la activación de AKT por mTORC2, una vez activa AKT esta activa mTORC1, la cual induce la polaridad de tipo M2 en macrófagos, disminuyendo la respuesta a lipopolisacáridos y la síntesis de óxido nítrico (Vergadi *et al.*, 2017).

Otro ejemplo mediado por la cinasa PI3K es la regulación a la baja de PTEN, la sobreexpresión del receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y la regulación al alta de RAS, culminando en la estimulación excesiva de angiogénesis por secreción aumentada del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y síntesis aumentada de proteínas del factor inducible por hipoxia (HIF, por sus siglas en inglés). El entorno hipóxico es característico de cánceres como el glioblastoma, ocasionando el aumento en la concentración de las proteínas HIF (Karar y Maity, 2011).

Proteína cinasa B (AKT)

La cinasa AKT media reacciones antiapoptóticas, es capaz de generar una respuesta de supervivencia, inducir la síntesis de glucógeno, la angiogénesis, el crecimiento celular y la glucólisis (Zhang *et al.*, 2011).

El efector de la señalización de PI3K es la proteína cinasa AKT. A nivel estructural, esta proteína se conforma por un dominio de pleckstrina (PH) en el extremo amino, un dominio cinasa típico y un dominio regulador en el carboxilo terminal. La activación de AKT está mediada por diferentes mecanismos como: la unión al segundo mensajero PI3P al dominio PH, producto de la reacción de la PI3K, la fosforilación del aminoácido Thr308 en el bucle de activación del dominio cinasa mediado por la proteína cinasa 1 dependiente de fosfoinosítidos (PDK1), así como por la fosforilación dependiente de estímulo y contexto de la Ser473 del dominio regulador dado por las cinasas relacionadas a PI3K como mTORC2, y por la desfosforilación de la fosfo-Ser473 por la proteína fosfatasa 2A (PP2A) (Xu *et al.*, 2020).

La vía canónica de señalización implica el reclutamiento de AKT en la membrana para su posterior fosforilación en la Thr308 por PDK1, la cual contiene un dominio con alta afinidad a PI3P, para la completa activación de AKT se requiere la fosforilación adicional en la Ser473 por reguladores de PKB como mTORC2. La focalización de AKT en la membrana y la doble fosforilación permiten la fosforilación de sustratos posteriores.

Proteína cinasa C (PKC)

La familia PKC comprende un grupo de serina/treonina cinasas activadas por receptor, distribuidas en diversos tejidos dentro del cuerpo humano. Las cuales regulan actividades como el crecimiento, la proliferación y diferenciación celular, por lo que alteraciones en la regulación de la señalización de PKC están relacionadas con patologías autoinmunes, metabólicas y cancerígenas (Isakov, 2018).

Desde su descubrimiento en 1982 como factor de promoción tumoral, la familia PKC ha ido aumentando hasta estar compuesta por 13 miembros, clasificadas en tres grupos: clásica, nueva y atípica, basado en el requerimiento para su activación, ya sean dependientes de calcio, diacilglicerol (DAG) o ésteres de forbol (Tabla 3) (Dobrikov *et al.*, 2018).

Tabla 3. Clasificación de las subfamilias de PKC de acuerdo con su dominio regulador y a su cofactor como requisito

Subfamilia	Isoenzimas	Activación dependiente de
PKC clásica	α , β I, β II, γ	Ca^{2+} y DAG
PKC nueva	δ , ϵ , η , θ	DAG
PKC atípica	λ , ζ	Calcio independiente Interacción proteína-proteína

La estructura general de este grupo de proteínas está compuesta por 2 dominios (regulador y cinasa), cada uno de estos dominios con dos regiones conservadas (región C). El dominio regulador contiene la región C1, rica en cisteína y el sitio de unión a DAG, y la región C2, sitio de unión del ion calcio; mientras la región catalítica o de cinasa contiene la región C3, sitio de unión para ATP, y la región C4, sitio de unión al sustrato (Figura 2.10) (Singh *et al.*, 2017). Si bien las tres clases de PKC presentan la misma estructura de dominios, hay ciertas diferencias con respecto a la región C2 que condicionan su activación: la clase nueva no presenta un sitio de unión para calcio en la región C2, pero sí es dependiente de DAG, mientras que las isoformas atípicas carecen de la región C2, porque no dependen de calcio (Mochly-Rosen *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2017).

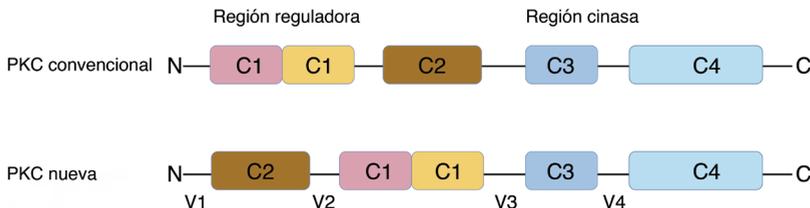


Figura 2.10. Dominios estructurales de las isoenzimas de la proteína cinasa C.

Todas las PKC tienen una región de pseudosustrato en la región C1 en donde los residuos Ser o Thr son reemplazados por una alanina, manteniendo el estado inactivo en ausencia de señal, previo a la activación, la PKC primero debe someterse a fosforilación por la cinasa PDK1 en el bucle de activación, después es fosforilada en la región C-terminal por la cinasa mTORC2 en dos de sus residuos Ser/Thr. lo cual evita la degradación de la cinasa (Newton, 2018). La activación de la clase clásica se lleva a cabo mediante dos pasos, la exposición de C2 a calcio y PIP_2 permiten la separación de la unión bisagra entre los motivos regulador y catalítico, seguido de la unión de DAG a la región C1 (Trexler y Taraska, 2017).

La presencia de los cofactores es necesaria para el acceso a sustrato, la asociación de membrana y la activación de los subtipos de PKC. El calcio y el diacilglicerol son segundos mensajeros derivados de diferentes rutas de señalización, siendo un componente principal de las vías de estos segundos mensajeros la fosfolipasa C (PLC), que tras su activación mediador por los receptores tirosina cinasa o los receptores acoplados a proteína G, produce las sustancias inositol 3,4,5-trifosfato (IP_3), Ca^{2+} y DAG, evento que continua con la activación de PKC y la consecuente fosforilación de sustratos (Figura 2.11).

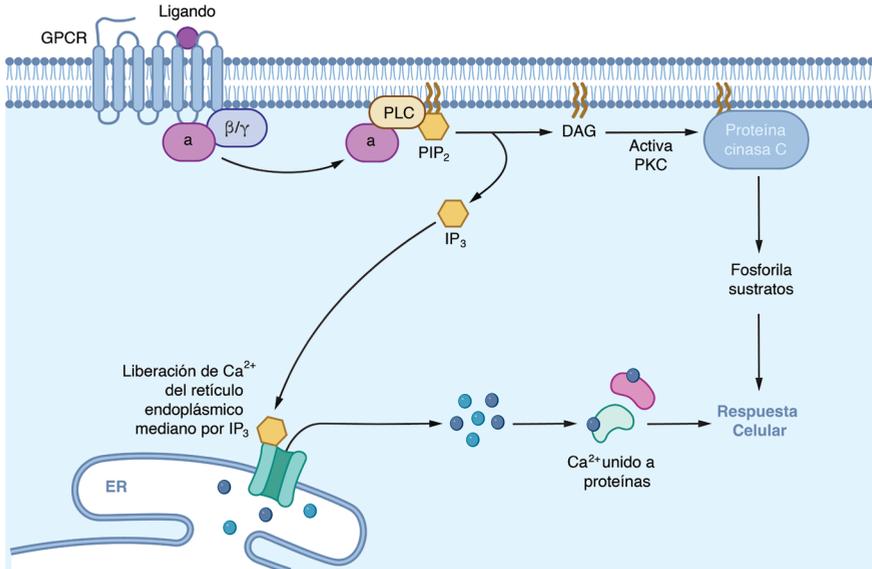


Figura 2.11. Proceso de activación de la enzima PKC.

Unión de un ligando a un GPCR $G\alpha_q$ con la consecuente activación de PLC ocasionando la generación inositol 3,4,5-trifosfato (IP_3) y la apertura de canales de calcio dependientes de IP_3 del retículo endoplásmico y DAG como cofactor para la PKC.

Un ejemplo más claro sobre la regulación de PKC puede observarse al analizar la respuesta celular durante el síndrome de dificultad respiratoria aguda caracterizada por lesión de tejido pulmonar mediado por neutrófilos. La inhibición de PKC α resulta en una terminación de señal para los receptores Toll que se activan al interactuar con el peptidoglucano de la bacteria, mientras que la inhibición de PKC δ disminuye la señalización por lipopolisacáridos con la consiguiente disminución en la síntesis de TNF- α , IL-6 y óxido nítrico (Liverani *et al.*, 2020; Mondrinos *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2018). Así mismo, terapias dirigidas contra la regulación de PKC mejoran aspectos clínicos de enfermedades reumáticas a través de un aumento de la maduración de células T reguladoras (Zanin-Zhorov *et al.*, 2011).

Cinasa dependiente de calcio-calmodulina (CAM)

La señalización mediada por calcio se encuentra presente en diversos órganos como el cerebro, el páncreas, el hígado, el músculo esquelético, el corazón, entre otros y funge como mediador en la señalización de hormonas, proteínas inflamatorias y neurotransmisores (Marcelo *et al.*, 2016).

La proteína calmodulina es una ubiquitina cuya función es anclar calcio y de esta forma interactuar con proteínas cinasas, entre las cuales encontramos las cinasas dependientes de calcio/calmodulina (cinasas CAM), las cuales son una familia de serina/treonina cinasas (Wayman *et al.*, 2011).

La cinasa CAM II (CAMK2) es codificada por 4 genes (CAMK2A, 2B, 2G, 2D), su estructura general consiste en una región reguladora, un sitio de anclaje al complejo Ca²⁺/calmodulina, una región cinasa N-terminal para la unión de ATP, y una región C-terminal para la formación de holoenzimas (Takemoto-Kimura *et al.*, 2017). El inicio de la cascada de señalización requiere un aumento transitorio en la concentración de calcio intracelular, suficiente para formar el complejo Ca²⁺/calmodulina que permite el anclaje del sustrato a la cinasa, sin embargo, pueden existir mecanismos de memoria molecular que mantienen activa la cinasa mediante procesos de fosforilación en la posición Thr286 o el anclaje a un receptor como el NMDA, permitiendo que la actividad de la cinasa CAM pueda ser independiente del calcio (Bayer y Schulman, 2019). Las isoformas A y B de la cinasa CAM abundan en las neuronas postsinápticas del hipocampo, y sus propiedades autonómicas son un elemento importante en la formación de memoria (Takemoto-Kimura *et al.*, 2017).

Fosfatasas

El balance en el estado fosforilado de las proteínas resulta de la acción de cinasas, encargadas de transferir fosfato a una serina o treonina, y fosfatasas que median la hidrólisis y remoción de dicho fosfato. La desfosforilación de proteínas mediante fosfatasas sirve como un mecanismo regulador de la actividad celular mediante la terminación de la cascada de señalización (Moura y Conde, 2019).

Las fosfatasa pueden ser clasificadas en 3 superfamilias, de proteína tiro-sina fosfatasa (PTP), de fosfoproteína fosfatasa (PPP) y de fosfatasa dependientes de metal (PPM), estas pueden encontrarse en diversos tejidos y regular cinasas diversas (Yadav *et al.*, 2017). La PTEN, primera fosfatasa descubierta, con localización nuclear y en citoplasma se encarga de terminar la señalización en la vía PI3K/AKT y PKC mediante la desfosforilación de PIP₃, convirtiéndolo a PIP₂ (Chen *et al.*, 2018).

Son 6 las fosfatasa que conforman la familia PPP siendo PP1, PP2A y PP3 (antes PP2B) las más estudiadas y con mayor presencia en la regulación celular (Ruvolo, 2019). Dentro de su estructura, las proteínas PPP contienen una región catalítica activadora con dos iones metálicos, Mn²⁺ e Fe²⁺, blanco para las proteínas inhibidoras de PPP tales como Inhibitor-1, Inhibitor-2 y DARPP-32 (Peti *et al.*, 2013; Ruvolo, 2019). La fosforilación de DARPP-32 en la posición Thr34, por aumento de cAMP o inducida por dopamina, lleva a su activación; tanto DARPP-32 como la proteína “Inhibidor-2” inhiben a la proteína PPP mediante dos subunidades: anclaje e inhibidora, las cuales interaccionan con la región activadora de la enzima (Leslie y Nairn, 2019).

La proteína fosfatasa 1 en las células musculares se encuentra en su mayoría anclada a partículas de glucógeno, al retículo sarcoplásmico y a las fibras de miosina, donde permite la relajación de músculo liso (Karar y Maity, 2011); a su vez, tiene un papel en el mantenimiento del microambiente tumoral, dada su inactivación por la proteína de ataque nuclear de PP1 (PNUTS), evitando la reparación de DNA (Ruvolo, 2019).

La PP2A es la fosfatasa más relacionada con los procesos celulares de apoptosis, transcripción y traducción de proteínas, así como la progresión del ciclo celular, tal es su importancia que la pérdida de actividad de PP2A es fundamental para la progresión de la leucemia mieloide crónica. Conformada por una subunidad catalítica, un andamio A y una región B reguladora (Figura 2.12), la PP2A es una enzima heterotrimérica con presencia en tejido cerebral, cardíaco y músculo esquelético. Al ser un supresor tumoral es un blanco de restauración en la terapia antineoplásica (Clark y Ohlmeyer, 2019; Perrotti y Neviani, 2013; Ruvolo, 2019).

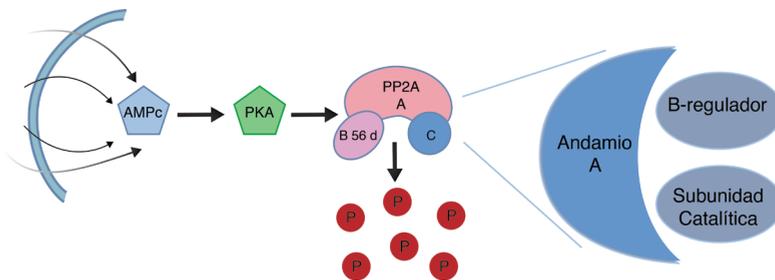


Figura 2.12. Estructura de PP2A y activación por AMPc.

PKA fosforila la subunidad reguladora 56d con la consiguiente activación y aumento de actividad de la enzima.

Un ejemplo de regulación dado por las PPP involucra la vía de WNT en la activación del ciclo celular: ante una carencia de señalización de WNT las proteínas CK1 y GSK3 β fosforilan a la β -catenina, fomentando su ubiquitinación y degradación, pero ante un estímulo por WNT aumenta la transcripción de ciclina D1 a través de β -catenina debido a que las fosfatasas PP1 y PP2A permiten la desfosforilación de β -catenina, permitiendo su concentración a nivel nuclear y su transcripción génica (Wlodarchak y Xing, 2016).

La PP3/2B (calcineurina) es una holoenzima heterodimérica, encargada de regular procesos inmunológicos, metabólicos, de memoria, impulsos cardíacos y neurotransmisión (Hell, 2016). Su estructura consiste en una unidad catalítica A y una unidad reguladora B; su actividad es regulada por las concentraciones de calcio y la presencia de calmodulina que al unirse a la subunidad A permite la separación de la hélice autoinhibitoria, activando a la fosfatasa (Nygren y Scott, 2016). La diferencia en la sensibilidad por calcio y calmodulina, así como su posición, son algunas de las hipótesis del porqué su actividad puede llevarse a cabo después de la actividad de las cinasas dependientes de calcio y evitar su traslape (Nygren y Scott, 2016; Tu *et al.*, 2014). Su activación es un blanco terapéutico en la supresión inmune y su relación en la señalización de insulina y conducción cardíaca lo hacen una opción para diversas patologías degenerativas.

La transducción de señales en las células eucariotas precisa de modificaciones postraduccionales como mecanismo de regulación de los procesos biológicos; entre estos procesos reguladores se encuentran la acción de las cinasas y fosfatasas como los representantes de la regulación enzimática al tener una amplia presencia en los sistemas del cuerpo humano. Su actividad antagónica es comparable a la de un interruptor, mediante sus mecanismos moleculares permiten generar cambios conformacionales en diferentes proteínas con la consiguiente modificación en la posición y actividad. El mantenimiento armónico entre la activación y desactivación por grupos fosfato permiten la homeostasis de cada sistema; la desregulación de los eventos de fosforilación y desfosforilación es la génesis en diversas enfermedades. La Tercera Ley de Newton establece que toda acción tiene una reacción de la misma magnitud en dirección opuesta, por lo que un entendimiento a detalle en la actividad de las cinasas y fosfatasas permitirán desarrollar acciones terapéuticas de forma efectiva en diversas patologías.

Preguntas de integración

1. ¿Cuál es el papel principal de las proteínas de andamio?
2. ¿Cuáles son algunos de los mecanismos por los que se regula a las proteínas de andamio?
3. Menciona un proceso fisiológico que puede estar regulado por proteínas de andamio.

4. Ejemplifica una patología asociada a alteraciones en las proteínas de andamio.
5. ¿Cuál es el papel principal de las cinasas y fosfatasa?
6. ¿Cuál es la estructura general de una cinasa?
7. Ejemplifique una cascada de señalización mediada por cinasas del grupo Ser/Thr y asócielo a un proceso fisiológico.
8. Explique qué pasaría con la señalización de una cascada de transducción dependiente de fosforilación tras la ausencia de fosfatasa.

Referencias

- Aggarwal-Howarth, S., & Scott, J. D. (2017). Pseudoscaffolds and anchoring proteins: the difference is in the details. *Biochem Soc Trans*, 45(2), 371-379. doi:10.1042/bst20160329.
- Bayer, K. U., & Schulman, H. (2019). CaM Kinase: Still Inspiring at 40. *Neuron*, 103(3), 380-394. doi:10.1016/j.neuron.2019.05.033.
- Bertolotti, A. (2018). The split protein phosphatase system. *Biochem J*, 475(23), 3707-3723. doi:10.1042/BCJ20170726.
- Bilanges, B., Posor, Y., & Vanhaesebroeck, B. (2019). PI3K isoforms in cell signalling and vesicle trafficking. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 20(9), 515-534. doi:10.1038/s41580-019-0129-z.
- Cheek, S., Ginalski, K., Zhang, H., & Grishin, N. V. (2005). A comprehensive update of the sequence and structure classification of kinases. *BMC Struct Biol*, 5, 6. doi:10.1186/1472-6807-5-6.
- Chen, C. Y., Chen, J., He, L., & Stiles, B. L. (2018). PTEN: Tumor Suppressor and Metabolic Regulator. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9, 338. doi:10.3389/fendo.2018.00338.
- Clark, A. R., & Ohlmeyer, M. (2019). Protein phosphatase 2A as a therapeutic target in inflammation and neurodegeneration. *Pharmacol Ther*, 201, 181-201. doi:10.1016/j.pharmthera.2019.05.016.
- Copps, K. D., & White, M. F. (2012). Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. *Diabetologia*, 55(10), 2565-2582. doi:10.1007/s00125-012-2644-8.
- Dema, A., Perets, E., Schulz, M. S., Deak, V. A., & Klussmann, E. (2015). Pharmacological targeting of AKAP-directed compartmentalized cAMP signalling. *Cell Signal*, 27(12), 2474-2487. doi:10.1016/j.cellsig.2015.09.008.
- Diviani, D., Osman, H., Delaunay, M., & Kaiser, S. (2019). The role of A-kinase anchoring proteins in cardiac oxidative stress. *Biochem Soc Trans*, 47(5), 1341-1353. doi:10.1042/BST20190228.

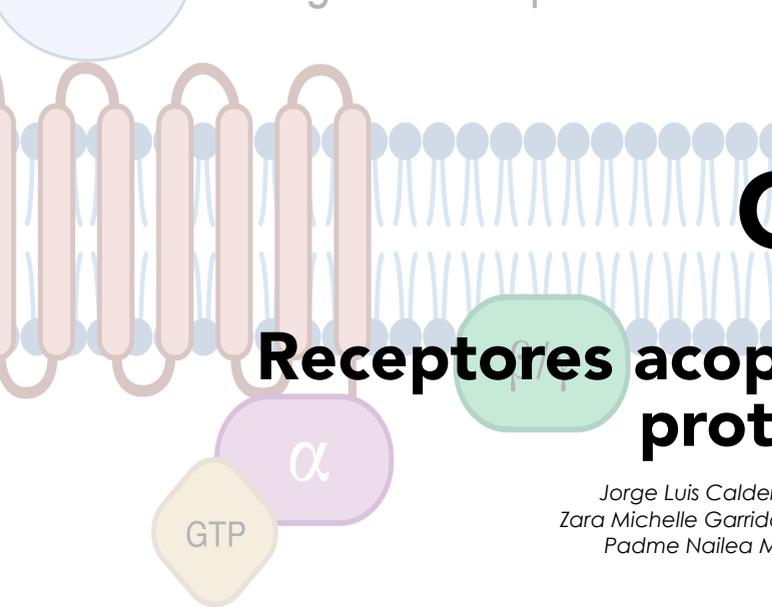
- Dobrikov, M. I., Dobrikova, E. Y., & Gromeier, M. (2018). Ribosomal RACK1: Protein Kinase C β II Modulates Intramolecular Interactions between Unstructured Regions of Eukaryotic Initiation Factor 4G (eIF4G) That Control eIF4E and eIF3 Binding. *Mol Cell Biol*, 38(19). doi:10.1128/mcb.00306-18.
- Eckstein, S. S., Weigert, C., & Lehmann, R. (2017). Divergent Roles of IRS (Insulin Receptor Substrate) 1 and 2 in Liver and Skeletal Muscle. *Curr Med Chem*, 24(17), 1827-1852. doi:10.2174/0929867324666170426142826.
- Frodyma, D., Neilsen, B., Costanzo-Garvey, D., Fisher, K., & Lewis, R. (2017). Coordinating ERK signaling via the molecular scaffold Kinase Suppressor of Ras. *F1000Res*, 6, 1621. doi:10.12688/f1000research.11895.1.
- Goncalves, M. D., Hopkins, B. D., & Cantley, L. C. (2018). Phosphatidylinositol 3-Kinase, Growth Disorders, and Cancer. *N Engl J Med*, 379(21), 2052-2062. doi:10.1056/NEJMra1704560.
- Good, M. C., Zalatan, J. G., & Lim, W. A. (2011). Scaffold proteins: hubs for controlling the flow of cellular information. *Science*, 332(6030), 680-686. doi:10.1126/science.1198701.
- Hell, J. W. (2016). How Ca²⁺-permeable AMPA receptors, the kinase PKA, and the phosphatase PP2B are intertwined in synaptic LTP and LTD. *Sci Signal*, 9(425), e2. doi:10.1126/scisignal.aaf7067.
- Isakov, N. (2018). Protein kinase C (PKC) isoforms in cancer, tumor promotion and tumor suppression. *Semin Cancer Biol*, 48, 36-52. doi:10.1016/j.semcancer.2017.04.012.
- Karar, J., & Maity, A. (2011). PI3K/AKT/mTOR Pathway in Angiogenesis. *Front Mol Neurosci*, 4, 51. doi:10.3389/fnmol.2011.00051.
- Langeberg, L. K., & Scott, J. D. (2015). Signalling scaffolds and local organization of cellular behaviour. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 16(4), 232-244. doi:10.1038/nrm3966.
- Leslie, S. N., & Nairn, A. C. (2019). cAMP regulation of protein phosphatases PP1 and PP2A in brain. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 1866(1), 64-73. doi:10.1016/j.bbamcr.2018.09.006.
- Liverani, E., Tursi, S. A., Cornwell, W. D., Mondrinos, M. J., Sun, S., Buttaro, B. A., ... Kilpatrick, L. E. (2020). Protein kinase C-delta inhibition is organ-protective, enhances pathogen clearance, and improves survival in sepsis. *Faseb j*, 34(2), 2497-2510. doi:10.1096/fj.201900897R.
- Mace, P. D., & Murphy, J. M. (2021). There's more to death than life: non-catalytic functions in kinase and pseudokinase signaling. *J Biol Chem*, 296, 100705. doi:10.1016/j.jbc.2021.100705.
- Manning, G., Whyte, D. B., Martinez, R., Hunter, T., & Sudarsanam, S. (2002). The protein kinase complement of the human genome. *Science*, 298(5600), 1912-1934. doi:10.1126/science.1075762.

- Marcelo, K. L., Means, A. R., & York, B. (2016). The Ca²⁺/Calmodulin/CaMKK2 Axis: Nature's Metabolic CaMshaft. *Trends Endocrinol Metab*, 27(10), 706-718. doi:10.1016/j.tem.2016.06.001.
- Marin, W. (2020). A-kinase anchoring protein 1 (AKAP1) and its role in some cardiovascular diseases. *J Mol Cell Cardiol*, 138, 99-109. doi:10.1016/j.yjmcc.2019.11.154.
- Mayer, B. J. (2015). The discovery of modular binding domains: building blocks of cell signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 16(11), 691-698. doi:10.1038/nrm4068.
- Meharena, H. S., Chang, P., Keshwani, M. M., Oruganty, K., Nene, A. K., Kannan, N., ... Kornev, A. P. (2013). Deciphering the structural basis of eukaryotic protein kinase regulation. *PLoS Biol*, 11(10), e1001680. doi:10.1371/journal.pbio.1001680.
- Mochly-Rosen, D., Das, K., & Grimes, K. V. (2012). Protein kinase C, an elusive therapeutic target? *Nat Rev Drug Discov*, 11(12), 937-957. doi:10.1038/nrd3871.
- Mondrinos, M. J., Kennedy, P. A., Lyons, M., Deutschman, C. S., & Kilpatrick, L. E. (2013). Protein kinase C and acute respiratory distress syndrome. *Shock*, 39(6), 467-479. doi:10.1097/SHK.0b013e318294f85a.
- Moura, M., & Conde, C. (2019). Phosphatases in Mitosis: Roles and Regulation. *Biomolecules*, 9(2). doi:10.3390/biom9020055.
- Mugabo, Y., & Lim, G. E. (2018). Scaffold Proteins: From Coordinating Signaling Pathways to Metabolic Regulation. *Endocrinology*, 159(11), 3615-3630. doi:10.1210/en.2018-00705.
- Murphy, J. M., Zhang, Q., Young, S. N., Reese, M. L., Bailey, F. P., Evers, P. A., ... Lucet, I. S. (2014). A robust methodology to subclassify pseudokinases based on their nucleotide-binding properties. *Biochem J*, 457(2), 323-334. doi:10.1042/bj20131174.
- Neilsen, B. K., Frodyma, D. E., Lewis, R. E., & Fisher, K. W. (2017). KSR as a therapeutic target for Ras-dependent cancers. *Expert Opin Ther Targets*, 21(5), 499-509. doi:10.1080/14728222.2017.1311325.
- Newton, A. C. (2018). Protein kinase C as a tumor suppressor. *Semin Cancer Biol*, 48, 18-26. doi:10.1016/j.semcancer.2017.04.017.
- Nygren, P. J., & Scott, J. D. (2016). Regulation of the phosphatase PP2B by protein-protein interactions. *Biochem Soc Trans*, 44(5), 1313-1319. doi:10.1042/BST20160150.
- Omar, M. H., & Scott, J. D. (2020). AKAP Signaling Islands: Venues for Precision Pharmacology. *Trends Pharmacol Sci*, 41(12), 933-946. doi:10.1016/j.tips.2020.09.007.

- Park, J. S., Lee, H., Choi, B. W., Ro, S., Lee, D., Na, J. E., ... Ko, Y. G. (2018). An MG53-IRS1-interaction disruptor ameliorates insulin resistance. *Exp Mol Med*, 50(6), 1-12. doi:10.1038/s12276-018-0099-9.
- Patel, R. Y., & Doerksen, R. J. (2010). Protein kinase-inhibitor database: structural variability of and inhibitor interactions with the protein kinase P-loop. *J Proteome Res*, 9(9), 4433-4442. doi:10.1021/pr100662s.
- Peng, J., & He, L. (2018). IRS posttranslational modifications in regulating insulin signaling. *J Mol Endocrinol*, 60(1), R1-R8. doi:10.1530/JME-17-0151.
- Perrotti, D., & Neviani, P. (2013). Protein phosphatase 2A: a target for anticancer therapy. *Lancet Oncol*, 14(6), e229-238. doi:10.1016/S1470-2045(12)70558-2.
- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiol Rev*, 98(4), 2133-2223. doi:10.1152/physrev.00063.2017.
- Peti, W., Nairn, A. C., & Page, R. (2013). Structural basis for protein phosphatase 1 regulation and specificity. *FEBS J*, 280(2), 596-611. doi:10.1111/j.1742-4658.2012.08509.x.
- Porta, C., Paglino, C., & Mosca, A. (2014). Targeting PI3K/Akt/mTOR Signaling in Cancer. *Front Oncol*, 4, 64. doi:10.3389/fonc.2014.00064.
- Reiterer, V., Pawlowski, K., & Farhan, H. (2017). STYX: a versatile pseudo-phosphatase. *Biochem Soc Trans*, 45(2), 449-456. doi:10.1042/BST20160279.
- Rusnak, L., & Fu, H. (2017). Regulation of ASK1 signaling by scaffold and adaptor proteins. *Adv Biol Regul*, 66, 23-30. doi:10.1016/j.jbior.2017.10.003.
- Ruvolo, P. P. (2019). Role of protein phosphatases in the cancer microenvironment. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 1866(1), 144-152. doi:10.1016/j.bbamcr.2018.07.006.
- Sarma, G. N., Kinderman, F. S., Kim, C., von Daake, S., Chen, L., Wang, B. C., & Taylor, S. S. (2010). Structure of D-AKAP2: PKA RI complex: insights into AKAP specificity and selectivity. *Structure*, 18(2), 155-166. doi:10.1016/j.str.2009.12.012.
- Schiattarella, G. G., Boccella, N., Paolillo, R., Cattaneo, F., Trimarco, V., Franzone, A., ... Perrino, C. (2018). Loss of Akap1 Exacerbates Pressure Overload-Induced Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. *Front Physiol*, 9, 558. doi:10.3389/fphys.2018.00558.
- Schiattarella, G. G., Cattaneo, F., Pironti, G., Magliulo, F., Carotenuto, G., Pirozzi, M., ... Perrino, C. (2016). Akap1 Deficiency Promotes Mitochondrial Aberrations and Exacerbates Cardiac Injury Following Permanent Coronary Ligation via Enhanced Mitophagy and Apoptosis. *PLoS One*, 11(5), e0154076. doi:10.1371/journal.pone.0154076.

- Singh, R. M., Cummings, E., Pantos, C., & Singh, J. (2017). Protein kinase C and cardiac dysfunction: a review. *Heart Fail Rev*, 22(6), 843-859. doi:10.1007/s10741-017-9634-3.
- Song, R., Peng, W., Zhang, Y., Lv, F., Wu, H. K., Guo, J., ... Xiao, R. P. (2013). Central role of E3 ubiquitin ligase MG53 in insulin resistance and metabolic disorders. *Nature*, 494(7437), 375-379. doi:10.1038/nature11834.
- Takemoto-Kimura, S., Suzuki, K., Horigane, S. I., Kamijo, S., Inoue, M., Sakamoto, M., ... Bito, H. (2017). Calmodulin kinases: essential regulators in health and disease. *J Neurochem*, 141(6), 808-818. doi:10.1111/jnc.14020.
- Taylor, S. S., Ilouz, R., Zhang, P., & Kornev, A. P. (2012). Assembly of allosteric macromolecular switches: lessons from PKA. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 13(10), 646-658. doi:10.1038/nrm3432.
- Taylor, S. S., Keshwani, M. M., Steichen, J. M., & Kornev, A. P. (2012). Evolution of the eukaryotic protein kinases as dynamic molecular switches. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 367(1602), 2517-2528. doi:10.1098/rstb.2012.0054.
- Taylor, S. S., & Kornev, A. P. (2011). Protein kinases: evolution of dynamic regulatory proteins. *Trends Biochem Sci*, 36(2), 65-77. doi:10.1016/j.tibs.2010.09.006.
- Torres-Quesada, O., Mayrhofer, J. E., & Stefan, E. (2017). The many faces of compartmentalized PKA signalosomes. *Cell Signal*, 37, 1-11. doi:10.1016/j.cellsig.2017.05.012.
- Trexler, A. J., & Taraska, J. W. (2017). Regulation of insulin exocytosis by calcium-dependent protein kinase C in beta cells. *Cell Calcium*, 67, 1-10. doi:10.1016/j.ceca.2017.07.008.
- Tu, S., Okamoto, S., Lipton, S. A., & Xu, H. (2014). Oligomeric A β -induced synaptic dysfunction in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, 9, 48. doi:10.1186/1750-1326-9-48.
- Turnham, R. E., & Scott, J. D. (2016). Protein kinase A catalytic subunit isoform PRKACA; History, function and physiology. *Gene*, 577(2), 101-108. doi:10.1016/j.gene.2015.11.052.
- Vergadi, E., Ieronymaki, E., Lyroni, K., Vaporidi, K., & Tsatsanis, C. (2017). Akt Signaling Pathway in Macrophage Activation and M1/M2 Polarization. *J Immunol*, 198(3), 1006-1014. doi:10.4049/jimm
- Wang, D. L., Dai, W. Y., Wang, W., Wen, Y., Zhou, Y., Zhao, Y. T., ... Liu, P. (2018). Interfering RNA against PKC- α inhibits TNF- α -induced IP(3)R1 expression and improves glomerular filtration rate in rats with fulminant hepatic failure. *Am J Physiol Renal Physiol*, 314(5), F942-f955. doi:10.1152/ajprenal.00433.2016.

- Wang, Z., & Cole, P. A. (2014). Catalytic mechanisms and regulation of protein kinases. *Methods Enzymol*, 548, 1-21. doi:10.1016/B978-0-12-397918-6.00001-X.
- Wayman, G. A., Tokumitsu, H., Davare, M. A., & Soderling, T. R. (2011). Analysis of CaM-kinase signaling in cells. *Cell Calcium*, 50(1), 1-8. doi:10.1016/j.ceca.2011.02.007.
- Wlodarchak, N., & Xing, Y. (2016). PP2A as a master regulator of the cell cycle. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 51(3), 162-184. doi:10.3109/10409238.2016.1143913.
- Xu, F., Na, L., Li, Y., & Chen, L. (2020). Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours. *Cell Biosci*, 10, 54. doi:10.1186/s13578-020-00416-0.
- Yadav, L., Tamene, F., Goos, H., van Drogen, A., Katainen, R., Aebersold, R., ... Varjosalo, M. (2017). Systematic Analysis of Human Protein Phosphatase Interactions and Dynamics. *Cell Syst*, 4(4), 430-444 e435. doi:10.1016/j.cels.2017.02.011.
- Yang, H., & Yang, L. (2016). Targeting cAMP/PKA pathway for glycemic control and type 2 diabetes therapy. *J Mol Endocrinol*, 57(2), R93-R108. doi:10.1530/JME-15-0316.
- Yoon, M. S. (2017). The Role of Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) in Insulin Signaling. *Nutrients*, 9(11). doi:10.3390/nu9111176.
- Zanin-Zhorov, A., Dustin, M. L., & Blazar, B. R. (2011). PKC- θ function at the immunological synapse: prospects for therapeutic targeting. *Trends Immunol*, 32(8), 358-363. doi:10.1016/j.it.2011.04.007.
- Zhang, X., Tang, N., Hadden, T. J., & Rishi, A. K. (2011). Akt, FoxO and regulation of apoptosis. *Biochim Biophys Acta*, 1813(11), 1978-1986. doi:10.1016/j.bbamcr.2011.03.010.



The diagram shows a cross-section of a cell membrane with a lipid bilayer. On the left, several orange GPCR proteins are embedded in the membrane. One GPCR is shown in a green oval, and a purple oval labeled with the Greek letter alpha (α) is attached to it. A yellow diamond labeled 'GTP' is also shown near the GPCR. The title 'Capítulo 3' is written in large, bold, black and blue letters on the right side of the diagram.

Capítulo 3

Receptores acoplados a proteínas G

*Jorge Luis Calderón García, Danae Camacho Rivero,
Zara Michelle Garrido Santos, Pamela Martínez Almonaci,
Padme Nailea Méndez Labra, Raúl Sampieri Cabrera*

Contenido temático

- Objetivos
- Objetivos específicos
- Introducción
- Estructura de los GPCRs
- Clasificación de las familias de los GPCRs
 - > Grupo A (familia de la Rodopsina)
 - > Grupo B (familia de la Secretina)
 - > Grupo C (familia del Glutamato)
 - > Grupo D (familia de Adhesión)
 - > Grupo E (Friezzled/Sabor tipo 2)
- Mecanismos generales y cambios conformacionales de los GPCR
 - > Activación de los GPCR
 - > Desactivación de los GPCR
 - > Proteínas activadoras de GTPasa (GAP)
 - > Reguladores de la señalización de proteína G (RGS)
- Señalización
 - > Señalización dependiente de proteína G
 - > Activadores de la señalización de proteína G (AGS)
 - > Desensibilización de los GPCRs
- Ubiquitinación
- Preguntas de integración
- Referencias

Objetivos

Explicar la importancia y las características generales de los GPCRs, así como sus mecanismos y procesos de señalización implicados en su actividad.

Objetivos específicos

- Describir y explicar las características estructurales y funcionales de los GPCRs.
- Describir el proceso funcional de la transducción mediado por GPCRs.
- Integrar la señalización por GPCRs y su correlación con eventos celulares y fisiológicos.

Introducción

Los receptores acoplados a proteína G (GPCR, por sus siglas en inglés) son la clase más grande de proteínas de membrana celular codificadas por el genoma humano. Hasta el momento se han identificado alrededor de 800 GPCR en el ser humano, de los cuales aproximadamente la mitad cumple funciones sensoriales como el olfato (~400), el gusto (33), la percepción de la luz (10) y la señalización de feromonas. Los ~350 GPCR no sensoriales restantes median señalizaciones mediante la unión de ligandos que varían desde moléculas pequeñas hasta péptidos y proteínas grandes (IUPHAR).

Debido a su amplia distribución en el cuerpo humano y por las diversas funciones que regulan, han constituido blancos farmacológicos importantes para el manejo de diversas enfermedades. Por ejemplo, la morfina fue el primer fármaco regulado y aprobado federalmente en los Estados Unidos en 1827; sin embargo, hasta varios años después se demostró que su mecanismo de acción se dirigía a un GPCR, específicamente al receptor opioide μ (μ OR) (M.S. Kinch, 2014) (Mores *et al.*, 2019). El estudio de estos receptores adquiere especial interés e importancia debido a que 30% de todos los medicamentos aprobados actualmente por la Administración de Drogas y Alimentos (CFDA) se dirigen a los GPCR (Finlay *et al.*, 2020).

Estructura de los GPCRs

La estructura primordial de los GPCR consta de siete dominios transmembranales incrustados en el ambiente apolar de la bicapa lipídica y conectados entre sí por tres bucles extracelulares y tres bucles intracelulares que proporcionan estabilidad mediante residuos de cisteína y enlaces disulfuro altamente conservados. Cada dominio está conformado por 25 a 35 residuos de aminoácidos hidrofóbicos organizados en estructuras alfa hélice. Los GPCRs poseen un extremo amino terminal orientado hacia el espacio extracelular que contiene una zona de unión al ligando y un extremo carboxilo terminal orientado hacia el espacio intracelular, porción encargada de la interacción con la proteína G heterotrimérica responsable de la activación de las vías de señalización subsecuentes.

Clasificación de las familias de los GPCRs

De acuerdo con la homología de su secuencia y vías de señalización, los GPCR se han logrado agrupar en cinco grandes familias según la clasificación GRAFS (nombre derivado del acrónimo de glutamato, rodopsina, adhesión, frizzled/taste 2 y secretina) propuesta por Fredriksson y colaboradores, quienes consideraron los criterios filogenéticos establecidos por la IUPHAR para conformarla (Guzmán-Silva y y García-Sáinz, 2018).

A continuación, se describen con mayor detalle cada uno de los grupos y subgrupos pertenecientes a esta clasificación:

Grupo A (familia de rodopsina)

Es la familia más extensa y diversa, posee al menos 19 subfamilias. La característica principal de este grupo es la presencia de rodopsinas. Son receptores para gran variedad de moléculas y hormonas pequeñas como odorantes, monoaminas, purinas, hormona estimulante del tiroides (TSH), hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH) y neurotransmisores.

Los ligandos de estos receptores se unen a una cavidad entre las regiones transmembrana, sin embargo, existen excepciones como los receptores para glicoproteínas (p. ej. LH y FSH) cuyo sitio de unión se encuentra en el extremo amino-terminal del receptor. Esta familia se subclasifica en 4 grupos: α , β , γ y δ :

- Grupo α . Receptores de serotonina, dopamina, adenosina, opsinas (único grupo que responde a fotones de luz) y receptores muscarínicos (mACh).
- Grupo β . Los receptores de este subgrupo únicamente se unen a ligandos de tipo peptídicos como los receptores de taquicinas, colecistocinina, oxitocina y neuropéptido Y.
- Grupo γ . Incluye tres subgrupos: receptores somatostatina-opioides-galanina (SOG), receptores de hormona concentradora de melanina (MHC) y de quimiocinas. Incluye a los receptores de somatostatina, opioides y angiotensina.
- Grupo δ . Receptores del oncogén MAS1 y receptores de nucleótidos (P2Y).

Grupo B (familia de la secretina)

Este grupo de receptores se unen principalmente a grandes péptidos (p. ej. hormonas) y en su mayoría intervienen en señalizaciones parácrinas y endócrinas. En cuanto a su estructura, el extremo amino terminal presenta entre 60-80 aminoácidos y puentes disulfuro entre los residuos conservados de cisteína. Algunos ejemplos de ligandos a estos receptores son la hormona paratiroidea (PTH), la proteína relacionada con la hormona paratiroidea con (PTHrP) y la calcitonina.

Grupo C (familia del glutamato)

Todos los miembros de esta familia son dímeros, el extremo amino-terminal es largo y forma dos lóbulos. En este grupo están clasificados los receptores metabotrópicos de glutamato (mGlu), dos receptores metabotrópicos de GABA, un receptor sensible al calcio extracelular (CaSR) y cinco receptores del sabor de tipo 1 (TAS1R).

Grupo D (familia de adhesión)

Los GPCRs de esta familia se caracterizan por presentar uno o varios dominios funcionales con motivos de adhesión en el extremo amino-terminal, están implicados en el proceso de adhesión celular. Este extremo es de longitud variable (desde 200 a 2800 aminoácidos) y rico en sitios de glicosilación y residuos de prolina.

Grupo E (frizzled/sabor tipo 2)

La familia se divide en 2 subtipos con marcadas diferencias:

- Sabor tipo 2 o Taste 2. Receptores para sabor amargo tipo 2 (TAS2R), se encontraron al menos 13 receptores de este tipo. Presentan un extremo amino-terminal muy corto y no se ha descrito la existencia de un dominio de unión de ligandos en él.
- Frizzled. Receptores que regulan procesos de desarrollo. Es una familia que consta de 10 receptores. Poseen un extremo amino-terminal de unos 200 aminoácidos con cisteínas conservadas.

Mecanismos generales y cambios conformacionales de los GPCR

Activación de los GPCR

Los GPCR modulan una cascada de proteínas efectoras intracelulares y segundos mensajeros químicos esenciales para la regulación de diversas funciones fisiológicas de células y sistemas.

En estado de reposo, es decir, en ausencia de la unión del ligando al receptor, los GPCR se unen a proteínas G heterotriméricas inactivas, que consisten en el dímero $G\alpha$ -GDP y $G\beta\gamma$ (Almutairi *et al.*, 2020). En respuesta a una variedad de estímulos extracelulares, los GPCR experimentan cambios conformacionales que les permiten actuar como factores de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF); estos factores intercambian el nucleótido GDP por GTP de la subunidad $G\alpha$ (Higashijima *et al.*, 1987). Como resultado, la subunidad $G\alpha$ ahora unida a GTP se disocia de la subunidad $G\beta\gamma$ con lo que adquiere la capacidad de regular proteínas efectoras río abajo que inician diversas vías de señalización que median las respuestas celulares según el tipo de subunidad α ($G_{\alpha s}$, $G_{\alpha i/o}$, $G_{\alpha q/11}$, $G_{\alpha 12/13}$) al que se encuentre acoplado el GPCR (Sampieri-Cabrera *et al.*, 2019) (Figura 3.1).

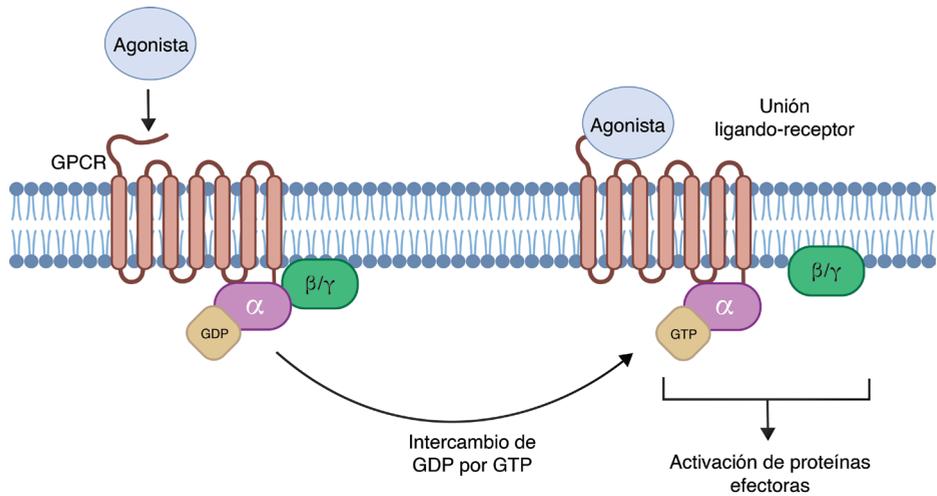


Figura 3.1. Activación de GPCR.

La unión del agonista al GPCR induce un cambio conformacional y, con ello, el intercambio de GDP a GTP con la consecuente disociación del dímero $G\beta\gamma$ de la subunidad $G\alpha$.

La señalización es intrínsecamente cinética ya que la amplitud de la señal está determinada por el equilibrio de las tasas de intercambio de GDP/GTP (activación) y de las tasas de hidrólisis de GTP (desactivación). Por lo tanto, este equilibrio determina la cantidad de proteína G en estado activo, unido a GTP (Ross y Wilkie, 2000).

Desactivación de los GPCR

La respuesta celular finaliza cuando la subunidad $G\alpha$ hidroliza GTP a GDP debido a su actividad como GTPasa intrínseca; una vez hidrolizado el GTP, $G\alpha$ se vuelve a asociar con $G\beta\gamma$, completando el círculo de activación de la proteína G (Figura 3.2). Las proteínas activadoras de GTPasa (GAP) y los reguladores de la señalización de proteínas G (RGS) interactúan con las subunidades $G\alpha$ activas para aumentar su tasa de hidrólisis de GTP intrínseca hasta más de 2000 veces, por lo que representan mecanismos sinérgicos en la modulación de la intensidad y duración de señalización mediada por el GPCR (Ross y Wilkie, 2000).

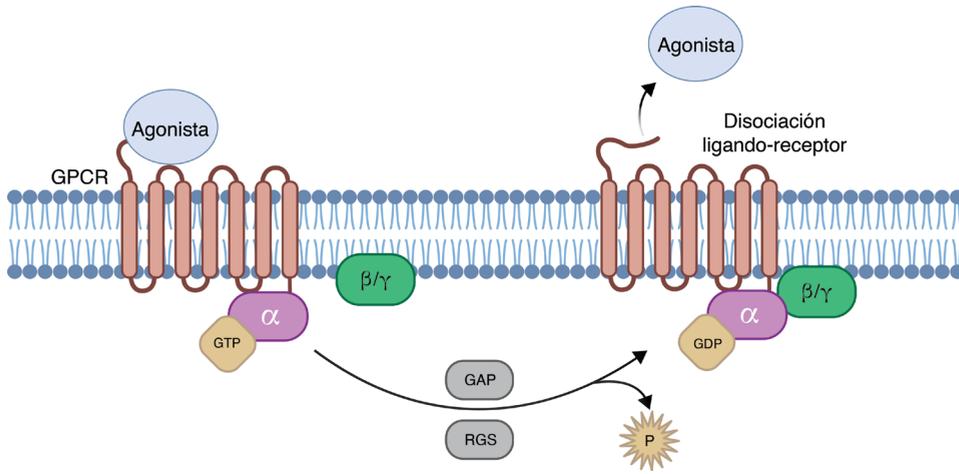


Figura 3.2. Desactivación de GPCR.

La disociación del agonista al GPCR provoca cambios conformacionales que inducen el intercambio de GTP a GDP. La actividad de GAP y RGS aceleran la hidrólisis de GTP y, por tanto, la asociación de las subunidades $G\alpha$ - $G\beta\gamma$.

Proteínas activadoras de GTPasa (GAP)

Las proteínas GPCR también se conocen como GTPasas; sin embargo, la reacción de hidrólisis de GTP es demasiado lenta, por lo que se requiere de la interacción con una GAP para catalizar la reacción.

Debido a la gran variedad de isoformas de GPCR, existe gran multitud de GAP que garantizan la especificidad de la señalización como Rho-GAP, Ran-GAP, Rab-GAP, Ras-GAP y Rap-GAP, donde cada uno de ellos tiene un mecanismo ligeramente distinto para estimular la hidrólisis de GTP.

Las GAP están reguladas por interacciones proteína-proteína o proteína-lípido, unión de segundos mensajeros y/o modificaciones postraduccionales. Estas interacciones y modificaciones inducen translocaciones al sitio donde se encuentra la proteína G y se liberan de la autoinhibición por una modificación alostérica de la actividad catalítica.

Reguladores de la señalización de proteína G (RGS)

Las RGS se caracterizan por la presencia de nueve hélices α y representan una gran familia de proteínas intracelulares estructurales y multifuncionales que regulan la actividad y la transducción de señales mediadas de los GPCR. Además, actúan como proteínas activadoras de GTPasa (GAP,) ya que aceleran la hidrólisis de GTP unida a la forma activa de $G\alpha$ ($G\alpha$ -GTP) (Almutairi et al., 2020). Mostrando una actividad GAP hacia los miembros de las familias $G\alpha_i$ y $G\alpha_q$ (Ross y Wilkie, 2000).

A diferencia de los GAP para proteínas G pequeñas que aportan una arginina crítica (u otro residuo) en el sitio activo para la hidrólisis de nucleótidos (Vetter IR, 2001), las proteínas RGS no aportan ningún residuo que sea directamente necesario para el mecanismo catalítico (Kimple, 2009).

En general, la regulación de la activación de la proteína G está mediada por la actividad GTPasa de las proteínas G, así como por los reguladores de la señalización de la proteína G (RGS) que estimulan la hidrólisis de GTP en la subunidad $G\alpha$. Otro mecanismo de regulación de GPCR implica la fosforilación de GPCR por cinasas específicas de receptores acoplados a proteínas G (GRK) seguido de su interacción con β -arrestinas que causan la desensibilización e internalización de GPCR.

Señalización

Los procesos de señalización celular dependen del ligando, del tipo de receptor, de la interacción con proteínas intracelulares y de los mecanismos de autorregulación del receptor (p. ej. β -arrestinas que participan en la desensibilización de la señalización de los GPCRs y promueven la endocitosis dependiente de clatrina) (Sampieri-Cabrera *et al.*, 2019).

En los GPCR, los mecanismos de señalización son mediados por proteínas G (heterotriméricas) $G\alpha$ - $G\beta\gamma$, que, a su vez, se subdivide en 4 familias según la actividad de la subunidad Ga en $G\alpha_s$, $G\alpha_i$, $G\alpha_q/11$ y $G\alpha_{12/13}$ (Chaudhary y Kim, 2021) (Figura 3.3 y Tabla 3.1).

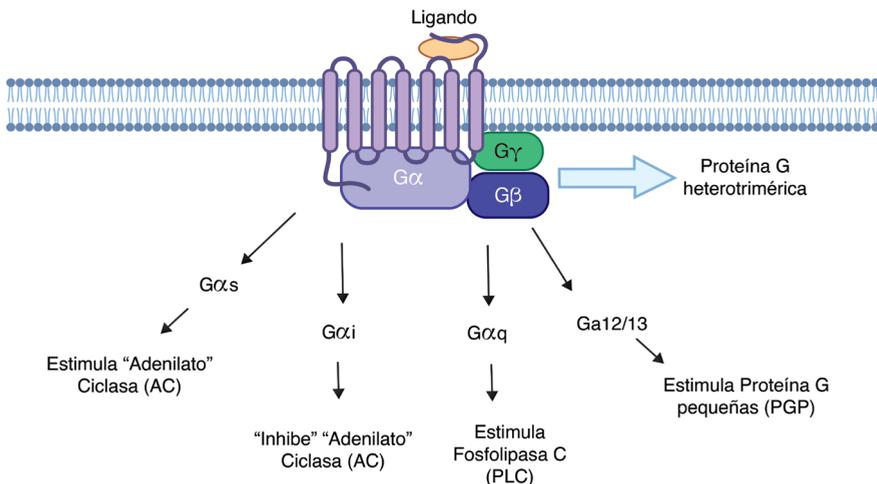


Figura 3.3. Vías de señalización mediadas por proteínas G.

Subdivisión de familias $G\alpha_s$, $G\alpha_i$, $G\alpha_q/11$ y $G\alpha_{12/13}$.

Tabla 3.1 Importancia fisiológica de la subunidad G.

AC, adenilato ciclasa; PLC, fosfolipasa C; PGP, proteínas G pequeñas; K_{TnR}, cinasas de tirosina no receptores; (+), estimulación; (-), inhibición. (Cossio *et al.*, 2007; Ennis, 2011; Sánchez-Lemus y A Arias-Montaño, 2004).

Subunidad	Distribución	Función	Receptor asociado
G _{ai}	Cerebro, SNC, plaquetas, médula espinal, páncreas y canales de tronco y encefálico.	AC (-), AMPc (-), K ⁺ (+), Na ⁺ (-) Cl ⁻ (-)	M2, Receptor α 2 adrenergico
G _{as}	Corazón, riñones, adipocitos, músculo estriado, núcleo olfatorio, y corteza cerebral, núcleo cerebeloso, tronco del encéfalo y médula espinal.	AC (-), AMPc (+). Canales de Na ⁺ (+) Cl ⁻ (+)	Receptor β - adrenergico Receptor glucagón
G _{aq/11}	Pulmón, riñón, hígado, cerebelo, próstata, hipocampo y músculo liso.	PLC (+); IP3 y DAG (+); CA2 ⁺ ; PLC (+)	M1, receptor α 1 -adrenergico
G _{α12/13}	Núcleos basales, corteza cerebral, cerebelo e hipocampo	PGP (+); K _{TnR} (+)	Receptor que modula predominantemente la dopamina

Señalización dependiente de proteína G

Gas, Gai

El efector de las vías Gas y Gai es la enzima adenilato ciclasa (AC). Hasta ahora se han identificado nueve isoformas de AC (AC1-AC9) ancladas a la membrana celular (glucoproteínas de 120 kDa) y una isoforma soluble con diversas propiedades reguladoras. La AC es una enzima catalítica que transforma el mononucleótido lineal trifosfato ATP en mononucleótido monofosfato cíclico AMPc. Esta actividad catalítica puede aumentar o disminuir según su unión a Gas o Gai, respectivamente (Fernández *et al.*, n.d.)

El aumento de la disponibilidad de AMPc induce la actividad de la proteína cinasa A (PKA), heterotetramero compuesto por dos subunidades catalíticas unidas a un dímero regulatorio cuyo ensamble forma las isoformas PKA-I y PKA-II (Fernández *et al.*, n.d.). Así, al unirse el AMPc a la PKA, las subunidades catalíticas se activan y fosforilan diversas proteínas al transferir un grupo fosfato del ATP a residuos de serina (Ser) y treonina (Thr), modificando su actividad y/o localización. Por lo tanto, el AMPc se considera un segundo mensajero y PKA un efector secundario (Sampieri-Cabrera *et al.*, 2019) (Figura 3.4).

La ubicación de la PKA está determinada por las subunidades regulatorias de proteínas de anclaje de la A-cinasa, (AKAPs, por sus siglas en inglés). La PKA-I es soluble y citoplasmática, mientras que PKA-II está confinada a estructuras subcelulares.

La señalización de AMPc-PKA regula numerosos procesos fisiológicos como la proliferación y diferenciación celular, el ensamblaje de la envoltura nuclear, la regulación del transporte intracelular en todos los tejidos y la exocitosis en células epiteliales, es la principal vía de señalización de los receptores β -adrenérgicos del sistema cardiovascular y del tejido adiposo, por lo que también participa en patologías como la diabetes mellitus tipo 2, la diabetes insípida, la hipertensión arterial y el asma. Está implicada en la función reproductiva, la respuesta inmune y otros efectos provocados por hormonas y neurotransmisores (Fernández *et al.*, n.d.).

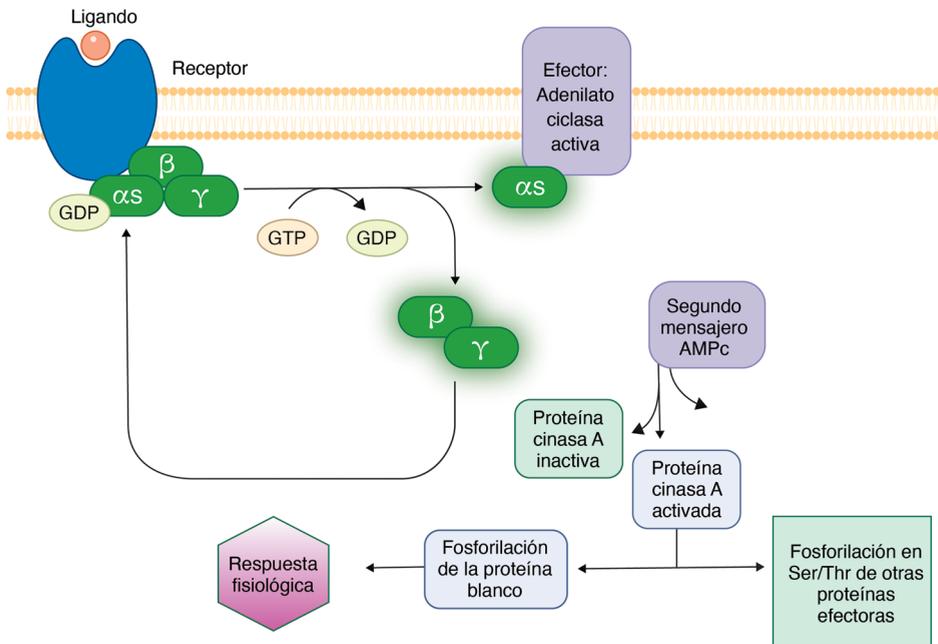


Figura 3.4. Mecanismo clásico de las proteínas G α s y G $\beta\gamma$.

Gαq/11

Existen diferentes vías de la cascada de señalización para Gαq/11; sin embargo, la mejor conocida es la *activación vía la fosfolipasa C*. Esta vía actúa por un mecanismo totalmente independiente de Gαs y Gαi (Figura 3.5).

La subfamilia de Gq se encuentra formada en los humanos por Gαq, Gα11 y Gα16; sin embargo, los más parecidos entre sí son Gαq y Gα11 (idénticos en 88%). Debido a su gran similitud, las funciones que realizan son prácticamente iguales, resaltando como diferencia su distribución en los distintos tejidos.

La activación clásica de Gαq aumenta la actividad de la enzima fosfolipasa Cβ que hidroliza al fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP₂) anclado a la membrana celular para producir diacilglicerol (DAG) y 1,4,5-inositoltrifosfato (IP₃). El IP₃ libre tiene la capacidad de dirigirse a la membrana del retículo endoplásmico donde se une con receptores asociados a canales de calcio dependientes de ligando. La activación de estos canales tiene como consecuencia la liberación masiva de calcio hacia el citosol, aumentando drásticamente su concentración intracelular y así participar en diferentes vías metabólicas y de señalización.

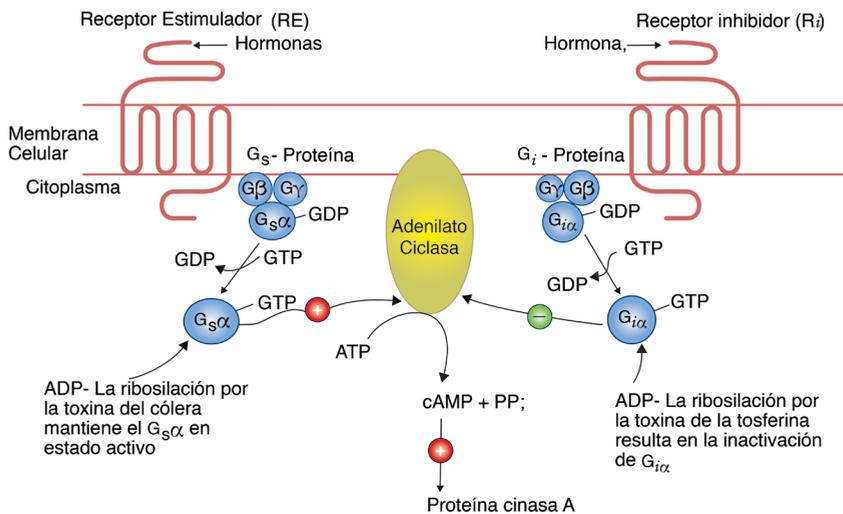


Figura 3.5. Regulación dual de la actividad de la adenilato ciclasa por las proteínas G_s y G_i.

Los GPCR interactúan con proteínas G heterotriméricas compuestas por subunidades α, β y γ que se unen al GDP en el estado de reposo. La unión del agonista desencadena un cambio conformacional en el receptor, que cataliza la disociación de GDP de la subunidad α seguida de la unión de GTP a Gα y la disociación de Gα de las subunidades Gβγ. Las familias G_s y G_i regulan la actividad de la adenilato ciclasa. Por lo general, G_s estimula la adenilato ciclasa y aumenta los niveles de AMP cíclico (cAMP), mientras que G_i inhibe la adenilato ciclasa y reduce los niveles de cAMP. AKAP se adhiere a la PKA y la localiza en la membrana plasmática. La PKA localizada en la membrana plasmática luego fosforila sus efectores.

Por otra parte, el DAG obtenido a partir de la hidrólisis del PIP_2 se une y activa a distintas isoformas de la proteína cinasa C (PKC) capaces de fosforilar residuos de serina, treonina y tirosina de diversas proteínas que participan en la cascada de señalización.

Se ha encontrado en diversos estudios que la proteína cinasa C presenta estrategias para suprimir la estimulación de la $\text{PLC-}\beta$ a través de Ca^{2+} y ácido fosfatídico. Esto se explica porque al unirse $\text{G}\alpha_q$ y los iones de calcio, la actividad lipasa de la $\text{PLC-}\beta$ incrementa, por lo que, si se altera la regulación de este, será inhibida dicha actividad. Lo mismo sucede con el ácido fosfatídico, regulador de varias proteínas, entre las que se encuentran miembros de la familia de las $\text{PIP}_2\text{-PLC}$.

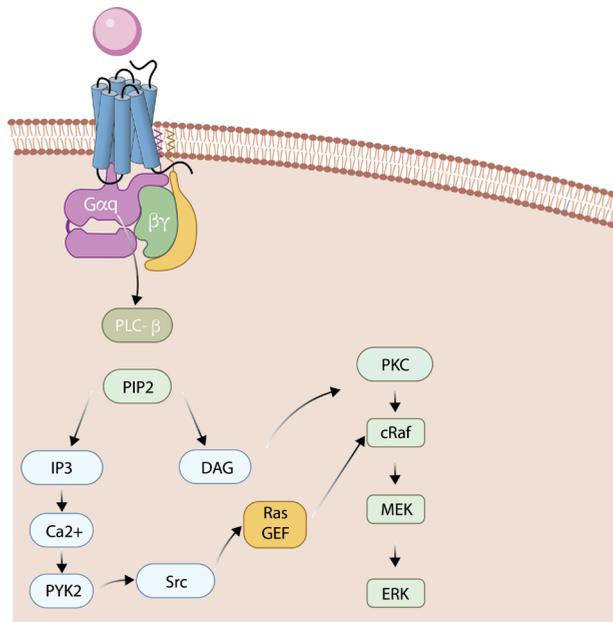


Figura 3.6. Mecanismo clásico de las proteínas $\text{G}\alpha_q$.

Una vez que GPCR es activado por su agonista, la señalización de $\text{G}\alpha_q$ activa la fosfolipasa $\text{C}\beta$ ($\text{PLC}\beta$), lo que conduce a la hidrólisis de fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP_2) y diacilglicerol (DAG). El primero conduce a iniciar la liberación de 1,4,5-inositol tris fosfato (IP_3) iniciando la liberación de calcio, activando la proteína tirosina cinasa 2 (PYK2), que conduce al protooncogén tirosina proteína cinasa (Src), activando el intercambio de nucleótidos de guanina Ras (Ras GEF), que conduce a la activación de la señalización MAPK. La vía de señalización de MAPK también puede estar aguas debajo de DAG que activa la proteína cinasa C (PKC), lo que conduce a la activación de la señalización de MAPK. La señalización de $\text{G}\alpha_q$ también puede ser indirecta de $\text{PLC}\beta$ mediante la activación de Rho GEF, lo que lleva a la activación de la vía de señalización de Rho/ROCK.

Gα12/13

Los miembros de la familia G_{12} son $G\alpha_{12}$ y $G\alpha_{13}$. Mediante factores intercambiables de nucleótidos de guanina regulan la actividad de la GTPasa Rho para modular las respuestas celulares como cambios en el citoesqueleto, apoptosis, respuestas oncogénicas, activación de distintas fosfolipasas, MAPK, canales y bombas. Últimamente se ha estudiado que también son capaces de interactuar con proteínas para regular su actividad.

Se considera que los $G\alpha_{12/13}$ requieren de una tasa baja de intercambio de nucleótidos e hidrólisis de GTP para llevar a cabo sus funciones fisiológicas. Esta vía de señalización cuenta con 3 efectores principales que funcionan como RhoGEF: p115RhoGEF, LARG y PDZ-RhoGEF.

Señalización $G\beta\gamma$

Antiguamente, se creía que la única función de este dímero era inactivar la subunidad $G\alpha$, permitiendo que, de esta manera, se uniera con el receptor para así continuar con la señalización. Sin embargo, a raíz de que estas subunidades fueran purificadas, se observó que podían tener más funciones.

La subunidad $G\beta\gamma$ es capaz de asociarse con distintos efectores para regularlos, por ejemplo, algunos canales de potasio, canales de calcio mediados por voltaje, la fosfolipasa C y algunas isoformas de la proteína adenilato ciclasa (Figura 3.7 y Figura 3.8). Este dímero y sus efectores se encuentran en múltiples sitios intracelulares.

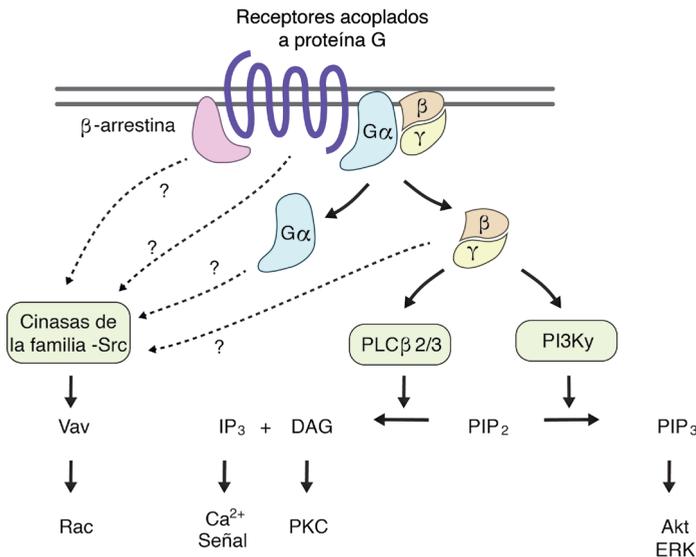


Figura 3.7. Señalización de proteínas G independiente de GPCRs.

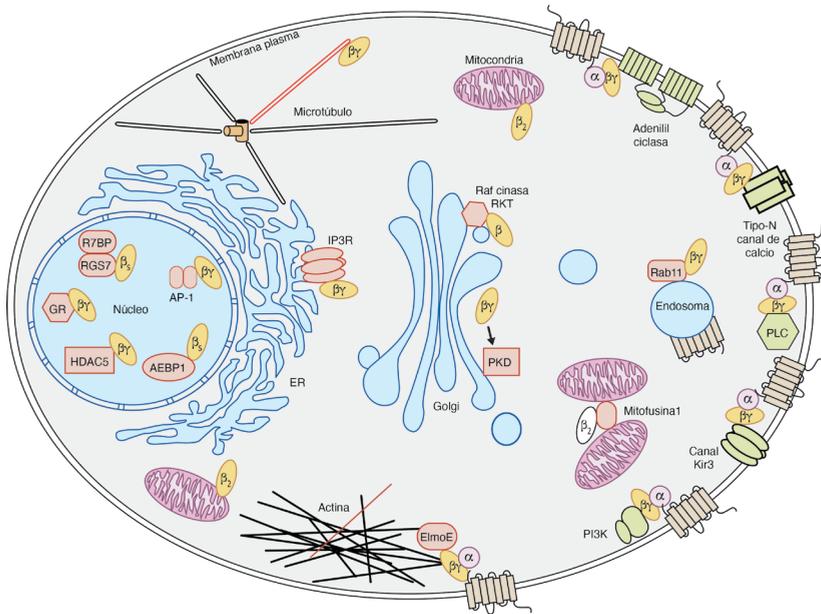


Figura 3.8. Efectores G $\beta\gamma$ canónicos y no canónicos.

Las subunidades G $\beta\gamma$ regulan una serie de efectores en la superficie celular, incluidas las isoformas de adenilil ciclasa, Kir3 y los canales de calcio dependientes de voltaje, las isoformas β de la fosfolipasa C y las isoformas PI3K, entre otras. Más recientemente, se han identificado varias proteínas interactuantes novedosas que transducen señales dependientes de G $\beta\gamma$ en otros compartimentos subcelulares como endosomas, mitocondrias, ER (receptores IP3), aparato de Golgi (cinasa Raf, PKD), citosol (HDAC5), núcleo [AP-1, R7BP, AEBP1 (proteína de unión al potenciador de adipocitos), GR y posiblemente HDAC] y citoesqueleto (tubulina, ElmoE). Si todos estos eventos intracelulares requieren GPCR o G α . Las subunidades quedan por determinar. Los ejemplos presentados aquí son representativos y no incluyen todos los efectores clásicos.

Activadores de la señalización de proteína G (AGS)

La señalización independiente de GPCRs plantea la idea de que es innecesaria la disociación de las subunidades para lograr activar la vía de segundos mensajeros, siendo suficiente un cambio conformacional en el sitio de unión con el GTP mediado por señalización de proteínas G (AGS) a través diversos mecanismos categorizados a continuación:

- El grupo I se compone de factores intercambiadores de nucleótidos de guanina, que inducen la activación de la proteína G a través de la disociación de GDP.
- El grupo II (proteínas GoLoco) lleva a cabo un mecanismo muy distinto que inhibe la disociación del GDP e induce de esta forma la señalización a través de G $\beta\gamma$.

- El grupo III se une directamente a $G\beta\gamma$, lo cual se cree que provoca una disociación entre las subunidades y/o compite por la interacción con $G\alpha$. Es necesario mencionar que aún no se conoce la función exacta de estas proteínas.

Al tratarse de un área relativamente nueva y poco estudiada, se desconocen varios procesos reguladores de esta señalización.

Desensibilización de los GPCRs

La desensibilización de los GPCR describe como la pérdida de respuesta del receptor después de la repetida o prolongada administración de un agonista (Hausdorff *et al.*, 1990). Esta desensibilización puede ser homóloga o heteróloga; la desensibilización homóloga hace alusión a la pérdida de respuesta únicamente a los agonistas que actúan en un subtipo de GPCR; en cambio, la desensibilización heteróloga se refiere a un efecto más generalizado e implica la pérdida simultánea de la capacidad de respuesta del agonista en múltiples subtipos de GPCR.

Este proceso puede ocurrir en diferentes periodos, ya sea de forma rápida o corta (pérdida de respuesta en minutos) y lenta o a largo plazo (pérdida de respuesta en horas y días) asociado a la internalización y degradación del receptor.

Existen dos familias de proteínas involucradas en la modulación y desensibilización: la familia de cinasas de receptores acoplados a proteína G (GPCR, por sus siglas en inglés) denominadas receptores cinasa acoplados a proteína G (GRK, por sus siglas en inglés) que fosforilan a los receptores y las proteínas desacoplantes β arrestinas que se unen a los receptores que han sido previamente fosforilados por GRK para impedir la transducción de la señal de las proteínas G heterotriméricas.

La subunidad $G\beta\gamma$ puede reclutar GRK en la membrana y regular los canales de potasio rectificadores internos acoplados a proteína G, canales de calcio dependientes de voltaje, AC, fosfolipasa C, fosfoinositol 3 cinasa y mitógeno.

Las β arrestinas son proteínas solubles que desempeñan un papel importante en la desensibilización de GPCR. Hasta el momento se han identificado dos tipos la β -arrestina 1 y la β -arrestina 2 (Sulon y Benovic, 2021). Se cree que las β -arrestinas apagan la señalización de los GPCRs mediante la unión de alta afinidad entre el extremo C-terminal del GPCR previamente fosforilado y el previamente fosforilado de un GPCR activado y extrema N-terminal de las β arrestinas, lo que ocasiona una inhibición estérica de la proteína G en el segundo y tercer bucle intracelular del GPCR. Este impedimento desacopla los GPCR del proceso de transducción de señales, lo que resulta en la desensibilización de las vías del segundo mensajero.

Ahora se sabe que para detener la señalización mediada por GPCR se requiere de la actividad sinérgica de β -arr y GRK, puesto que hace algunos

años se descubrió que la fosforilación aislada por una GRK era insuficiente para detener la señalización mediada por GPCR, entonces surgió la idea de que más moléculas se encuentran involucradas en el proceso, entre ellas β -arr (Figura 3.9).

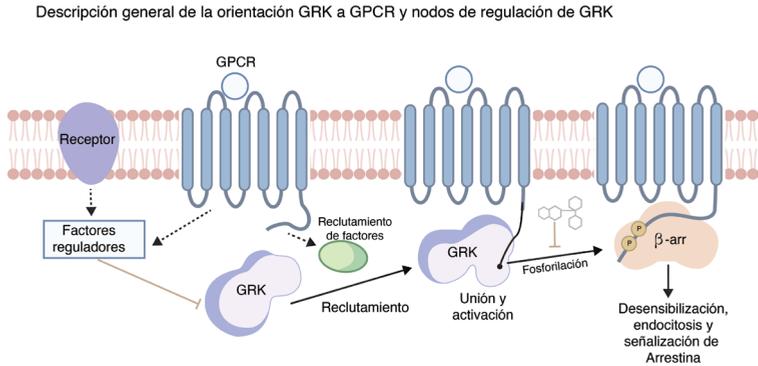


Figura 3.9. Descripción general de la orientación de GRK a GPCR y nodos de regulación de GRK.

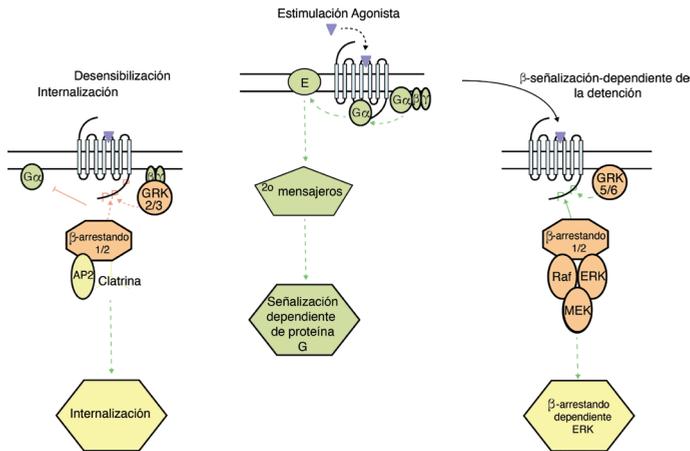


Figura 3.10. Modelo de especialización funcional de los diferentes GRKs.

Tras la estimulación del agonista, GRK2 y 3 se reclutan en la membrana plasmática al interactuar con las subunidades $G\beta\gamma$. GRK2 y 3 tienen un papel predominante en la fosforilación del receptor, el reclutamiento de β -arrestina al receptor activado, la desensibilización y la internalización. GRK5 y 6 están asociados constitutivamente con la membrana plasmática. Ambos son necesarios para la activación de ERK dependiente de β -arrestina, aunque el lugar de su acción podría estar en el receptor o corriente abajo. En algunos sistemas, GRK5 y 6 también pueden mediar la desensibilización y la internalización. Flechas de puntos verdes: activación; flechas de puntos rojos y líneas rojas: inhibición. Abreviatura: E, enzima generadora de segundo mensajero.

Ubiquitinación

La función principal de la ubiquitinación de proteínas es actuar como una señal de orientación para inducir la degradación de las proteínas (Jeremy 2019).

La ubiquitina es una proteína de 76 aminoácidos que se une covalentemente a otras proteínas mediante las acciones secuenciales de las ligasas de ubiquitina E1, E2 y E3. Los GPCR contienen tres bucles intracelulares y una cola carboxilo terminal que están expuestos al citoplasma y son accesibles por las ligasas de ubiquitina E3. Una vez ubiquitinados y transportados al endosoma temprano, los GPCR pueden interactuar con la maquinaria de *Sorting Complexes Required for Transport* (ESCRTs) que transportan los GPCR ubiquitinados a vesículas intraluminales de cuerpos multivesiculares (MVB).

Los complejos ESCRT-0, -I y -II contienen proteínas de unión que interactúan secuencialmente directamente con la carga ubiquitinada. Por lo tanto, el estado de ubiquitinación del GPCR generalmente determina si está comprometido o no con una vía de degradación.

El tiempo y la dinámica de la ubiquitinación de GPCR están controlados por las ligasas de ubiquitina E3, así como por las enzimas desubiquitinantes o DUB. La asociación de GPCR con DUB tiene múltiples funciones, incluido el rescate de GPCR ubiquitinados de la degradación lisosomal. Este mecanismo permite que las células bajo estimulación prolongada con ligandos restablezcan la expresión de superficie de GPCR o mantengan poblaciones de GPCR en compartimentos endosómicos para una señalización continua.

Preguntas de integración

1. Menciona a qué familias de GPCRs pertenecen los receptores de la hormona luteinizante y de la hormona paratiroidea.
2. ¿Qué moléculas aceleran la hidrólisis de GTP para la desactivación de GPCR?
3. ¿Cuál es la función de ubiquitinar proteínas?
4. ¿Qué efecto tiene la activación del receptor de Glucagón mediante la subunidad Gas en el AMPc?

Referencias

- Almutairi, F., Lee, J. K., & Rada, B. (2020). Regulator of G protein signaling 10: Structure, expression and functions in cellular physiology and diseases. *Cellular Signalling*, 75. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2020.109765>.
- Chaudhary, P. K., & Kim, S. (2021). An insight into GPCR and G-proteins as cancer drivers. *Cells*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/cells10123288>.
- Cossio, M. L. T., Giesen, L. F., Araya, G., Pérez-Cotapos, M. L. S., Vergara, R. L., Manca, M., ... Hérítier, F. (2007). Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Uma ética para quantos?, XXXIII(2).
- Ennis, I. L. (2011). Receptores y Mecanismos de Transducción de Señales.
- Fernández, B. E., Choi, M. R., & Fermepin, R. (n.d.). Nucleótidos Cíclicos (AMPc Y GMPc) como Segundos Mensajeros Palabras clave.
- Finlay, D. B., Duffull, S. B., & Glass, M. (2020). 100 years of modelling ligand-receptor binding and response: A focus on GPCRs. *British Journal of Pharmacology*, 177(7). <https://doi.org/10.1111/bph.14988>.
- Guzmán-Silva, A., & García-Sáinz, J. A. (2018). Receptores acoplados a proteínas G y sus múltiples facetas G protein-coupled receptors and their multiple facets. *Mens. Bioquim*, 42.
- Hausdorff, W. P., Caron, M. G., & Lefkowitz, R. J. (1990). Turning off the signal: desensitization of beta-adrenergic receptor function. *FASEB Journal*, 4(11).
- Higashijima, T., Ferguson, K. M., & Sternweis, P. C. (1987). Effects of Mg²⁺ and the $\beta\gamma$ -subunit complex on the interactions of guanine nucleotides with G proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 262(2). [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)75851-7](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)75851-7).
- Kimple, A. J., Bosch, D. E., Giguère, P. M., & Siderovski, D. P. (2011). Regulators of G-protein signaling and their G α substrates: Promises and challenges in their use as drug discovery targets. *Pharmacological Reviews*, 63(3). <https://doi.org/10.1124/pr.110.003038>.
- Mores, K. L., Cassell, R. J., & Van Rijn, R. M. (2019). Arrestin recruitment and signaling by G protein-coupled receptor heteromers. *Neuropharmacology*, 152. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.11.010>.
- Ross, E. M., & Wilkie, T. M. (2000). GTPase-activating proteins for heterotrimeric G proteins: Regulators of G Protein Signaling (RGS) and RGS-like proteins. *Annual Review of Biochemistry*, 69. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.69.1.795>.

Sampieri-Cabrera, R., López-Toledo, G. & Inclán-Rubio, V. (2019). Capítulo de estudio GPCRs y Proteínas G heterotriméricas: sección "Transducción de señales".

Sánchez-Lemus, E., & A Arias-Montaña, J. (2004). Transactivación de receptores con actividad de cinasa de tirosina (RTK's) por receptores acoplados a proteínas G. *Revista Biomédica*, 15(1). <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v15i1.371>.

Sulon, S. M., & Benovic, J. L. (2021). Targeting G protein-coupled receptor kinases to G protein-coupled receptors. *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research*, 16. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2020.09.002>.



Capítulo 4

Receptores para factores de crecimiento

Ricardo Jesús Martínez Tapia

Contenido temático

- Objetivos
- Introducción
- Receptores tirosina cinasa
- Receptores de citocinas
 - > Receptores de citocina clase I
 - > Receptores de citocina clase II
- Receptores serina/treonina cinasa
- Receptores de la familia de factor de necrosis tumoral
- Preguntas de integración
- Referencias

Objetivos

Describir la estructura, señalización y mecanismos de los receptores para factores de crecimiento y comprender su importancia en los diversos procesos fisiológicos.

Introducción

Los factores de crecimiento (proteínas o esteroides) son moléculas producidas por las células con el fin de modular su crecimiento, proliferación, supervivencia, migración y diferenciación en células vecinas (señalización parácrina) o a la misma célula (señalización autócrina); esta modulación puede ser tanto positiva como negativa y desempeña un papel esencial en el crecimiento del organismo. De forma general, los factores de crecimiento pueden actuar sobre receptores específicos de la superficie de la membrana celular que

posteriormente transmiten sus señales a otros componentes intracelulares y eventualmente da como resultado una modificación en la expresión genética (Stone *et al.*, 2021).

Los receptores de los factores de crecimiento son proteínas en la superficie de la membrana celular que pueden ser activados por sus respectivos ligandos (los factores de crecimiento); en ellos, las cascadas de fosforilación de proteínas juegan un papel esencial en la transmisión de las señales de crecimiento; en este sentido, las enzimas con actividad cinasa o fosfatasa son importantes en este proceso de señalización. Por un lado, las cinasas agregan un grupo fosfato a residuos específicos en una proteína, mientras que las fosfatasa eliminan el grupo fosfato en residuos específicos de una proteína (Figura 4.1) (Stone *et al.*, 2021); de hecho, se ha descrito que el genoma humano codifica cerca de 600 proteínas cinasas y 100 diferentes fosfatasa (Alberts, 2015).

En general, las células animales contienen dos tipos de proteínas cinasas:

- Las que agregan un fosfato al grupo hidroxilo terminal de los residuos de tirosina (proteínas tirosina cinasas); de hecho, es la que presentan la mayoría de los receptores de superficie para factores de crecimiento.
- Las que agregan un fosfato al grupo hidroxilo de los residuos de serina o treonina (o ambos) (proteínas serina/treonina cinasas), como el receptor de superficie para la familia de citocinas del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β).

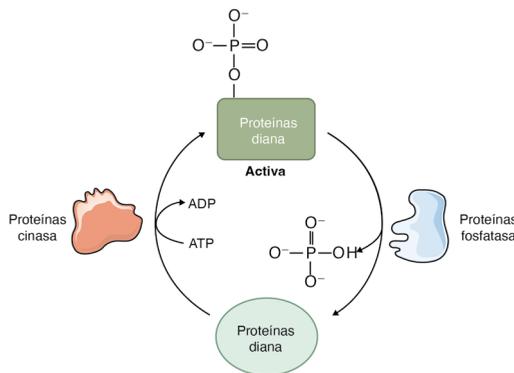


Figura 4.1. Regulación de la actividad de las proteínas mediante un interruptor cinasa/fosfatasa.

La fosforilación y desfosforilación cíclica de una proteína es un mecanismo celular común para regular la actividad de las proteínas. En este ejemplo, la proteína objetivo, o sustrato, está inactiva (verde claro) cuando no está fosforilada y activa (verde oscuro) cuando está fosforilada; algunas proteínas tienen el patrón opuesto. Tanto la proteína cinasa como la fosfatasa actúan solo sobre aminoácidos específicos en proteínas objetivo-concretas, y sus actividades suelen estar muy reguladas. (Tomado, modificado y traducido de Lodish *et al.*, 2016)

Hasta la fecha se han descrito múltiples ligados de los receptores de factores de crecimiento. Por ejemplo, algunos factores de crecimiento son pequeños péptidos llamados *citocinas*, si bien todas ellas intervienen en las vías de transducción de señales, solo aquellas que participan en las vías de señalización de diferenciación y/o crecimiento celular son consideradas *factores de crecimiento* (Anaya, 2013). Un buen ejemplo de una citocina como factor de crecimiento es el *factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos* (GM-CSF) debido a que promueve la producción de glóbulos blancos por parte de las células madre (Becher *et al.*, 2016). Por otro lado, el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) son ejemplos de factores de crecimiento de tipo proteína (Stone *et al.*, 2021).

Por otra parte, algunos factores de crecimiento, como las hormonas esteroideas, no tienen un receptor de superficie debido a que por su alta solubilidad pueden atravesar directamente la membrana de las células y unirse a un receptor intracelular o receptores nucleares y luego transmitir una señal de crecimiento; de la misma forma, no todas las hormonas son clasificadas como factores de crecimiento, solo las que lo afectan el crecimiento celular y la diferenciación celular como los estrógenos, andrógenos y progestágenos (Migliaccio *et al.*, 2002).

Finalmente, entender las principales vías de señalización de los factores de crecimiento ayuda a comprender su importancia en una gran variedad de procesos fisiológicos, como la cicatrización de heridas, en donde juegan un papel esencial después de un traumatismo en piel o inclusive después de una cirugía; por el contrario, también ayuda a entender su relevancia en una gran cantidad de enfermedades como la diabetes e inclusive el cáncer, para el cual en la actualidad existe una diversa variedad de tratamientos que se enfocan en antagonizar los efectos de los factores de crecimiento en las células malignizadas (Stone *et al.*, 2021). En este capítulo nos centraremos a describir cuatro de los principales receptores de factores de crecimiento: 1) los receptores de tirosina cinasa; 2) receptores de citocinas; 3) receptores de serina /treonina cinasas; y 4) receptores de la familia TNF.

Receptores de tirosina cinasa

Los organismos multicelulares han desarrollado vías complejas de comunicación celular, muchas de las cuales están controladas por proteínas cinasas para permitir que las células individuales se comuniquen de maneras muy específicas. Un ejemplo lo proporciona el grupo diverso de receptores de superficie celular denominado *receptor de tirosina cinasas* (RTK). Los RTK están dotados de una capacidad intrínseca para fosforilar residuos de tirosina en las proteínas del sustrato, lo que sirve como señales importantes para el mantenimiento de la homeostasis o cambios en la función celular (Wheeler y Yarden, 2015a).

Los RTK son receptores de una sola cadena polipeptídica acoplados a enzimas que presentan un dominio extracelular con monómeros RTK de varios cientos de aminoácidos que contienen los sitios de unión al ligando (está formado por una disposición de varios motivos estructurales y presenta un

patrón distintivo de residuos de Cys, así como enlaces N y O azúcares); un solo dominio transmembrana que consiste en un tramo de residuos hidrófobos seguido de varios residuos básicos; y finalmente, la parte intracelular contiene un dominio yuxtamembrana, el dominio catalítico que presenta aproximadamente 250 residuos de longitud excluyendo los insertos presentes en algunos RTK y una cola C-terminal que varía desde unos pocos residuos hasta 200 residuos (Wheeler y Yarden, 2015b). Sin embargo, a diferencia de los receptores que están acoplados a proteínas G heterotrímicas, su dominio citosólico tiene una actividad enzimática intrínseca, en otras palabras, su actividad se asocia directamente con una enzima (Alberts, 2015).

Estos receptores están conservados en especies inferiores y mucho del conocimiento acerca de sus propiedades funcionales proviene de estudios de la *Drosophila* y del *Caenorhabditis elegans*; en el humano se han descrito aproximadamente 58 RTK que han sido clasificados en 20 subfamilias relacionadas estructuralmente (Figura 4.2).

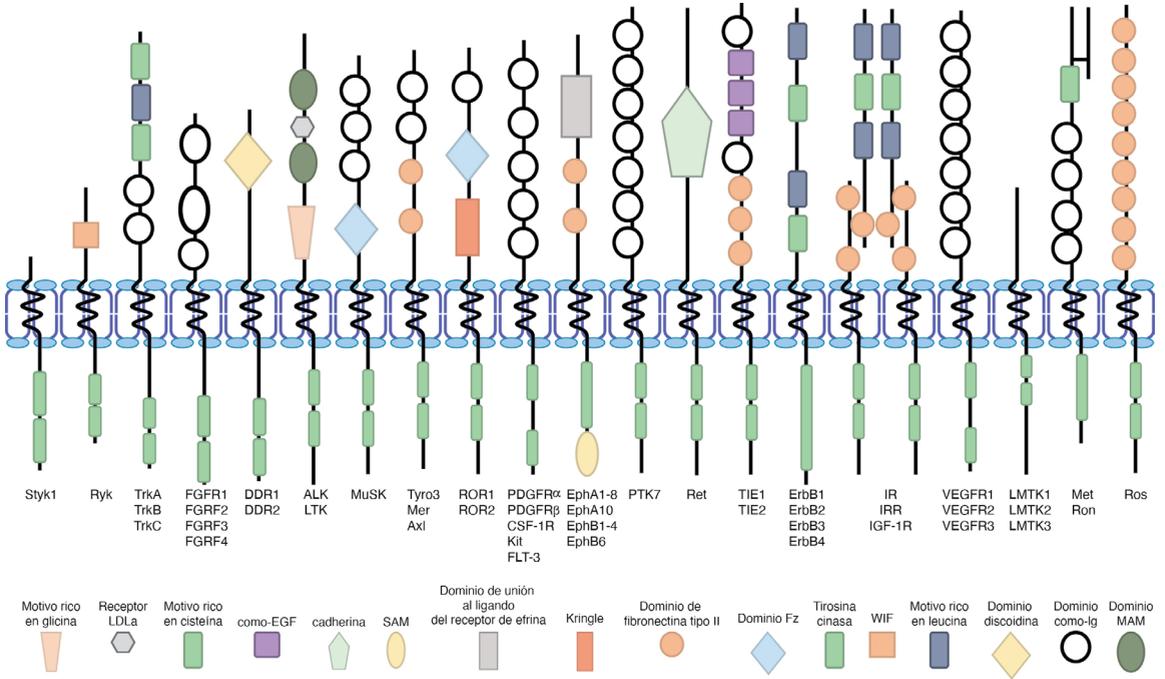


Figura 4.2. Arquitectura de los dominios de las 20 familias de RTK humanas.

Cada RTK contiene cinco estructuras fundamentales: un dominio extracelular de unión al ligando, una región transmembrana helicoidal corta, una región yuxtamembrana, un dominio citoplasmático con actividad tirosina cinasa y una región de cola C-terminal flexible. El dominio extracelular de unión al ligando presenta una importante variabilidad entre las familias, con notables adiciones de motivos ricos en glicina, cisteína o leucina y dominios similares a las inmunoglobulinas, entre otros. La familia de receptores de insulina se diferencia del resto por su complejo multimérico, precomplejo multimérico preensamblado (Tomado de Critchley *et al.*, 2018).

Como se mencionó previamente, todos los RTK presentan tres componentes esenciales: un dominio extracelular como un sitio de unión al ligando, una única hélice alfa transmembrana hidrofóbica y un segmento citosólico que incluye un dominio con actividad de proteína tirosina cinasa (Figura 4.3). La mayoría de los RTK son monoméricos, y la unión del ligando al dominio extracelular induce la formación de dímeros del receptor y, al igual que con los receptores de citocinas, la formación de dímeros funcionales es un paso necesario en la activación de todos los RTK (Lodish *et al.*, 2016).

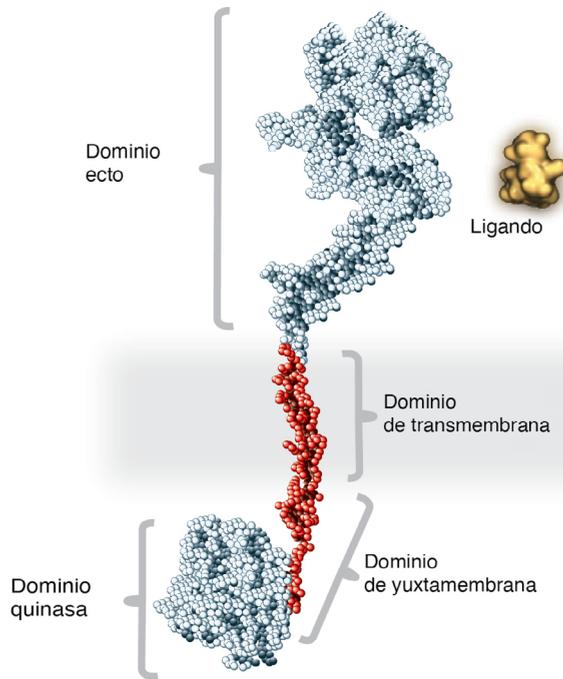


Figura 4.3. Representación esquemática de un modelo genérico de RTK.

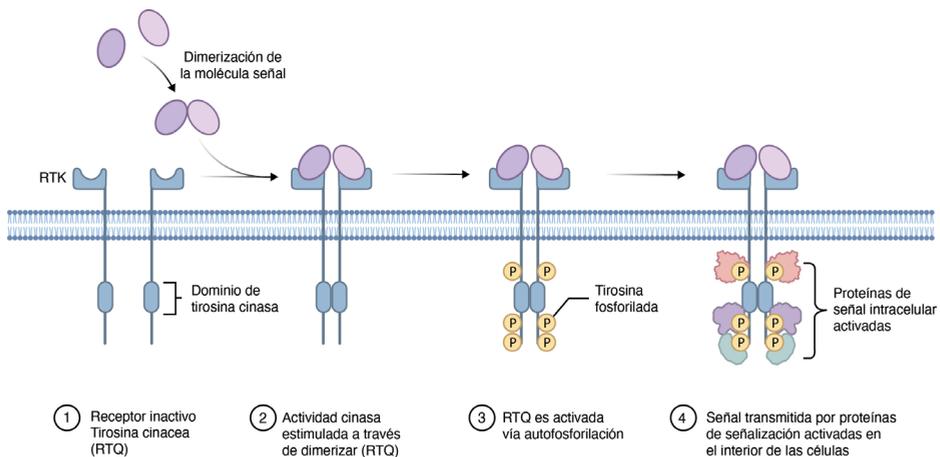
Con un ectodominio de unión al ligando extracelular, una única hélice transmembrana, una región JM básica y un dominio cinasa. Las regiones TM y JM se han resaltado en rojo.

(Tomado y modificado de Hedger *et al.*, 2015)

De forma muy general, la activación de los RTK puede resumirse en los siguientes pasos (ver Figura 4.4):

- 1) En un estado no estimulado (sin la unión de su ligando), la actividad cinasa intrínseca de un RTK es muy baja; sin embargo, estos receptores contienen un dominio muy flexible denominado *bucle de activación*, el cual en el estado de reposo no se encuentra fosforilado y adquiere una conformación que bloquea la actividad de la cinasa, por ejemplo, en el receptor de insulina previene la unión de ATP o en el FGF previene la unión del sustrato.
- 2) La unión de su respectivo ligando provoca un cambio conformacional que promueve la dimerización de los dominios extracelulares de los RTK, lo que acerca sus segmentos transmembrana y, por lo tanto, sus dominios citosólicos; posteriormente, la cinasa de cada subunidad fosforila un residuo de tirosina particular en el bucle de activación de la otra subunidad (transautofosforilación).
- 3) Esta fosforilación conduce a un cambio conformacional en el bucle de activación que desbloquea la actividad cinasa al reducir la constante de disociación (K_d) para el ATP o el sustrato a fosforilar. Finalmente, la actividad de cinasa mejorada resultante puede fosforilar residuos de tirosina adicionales en el dominio citosólico del receptor, que se unen a SH2 u otros dominios de proteínas de señalización, así como fosforilar otras proteínas diana, lo que lleva a la señalización intracelular.

a.



b.

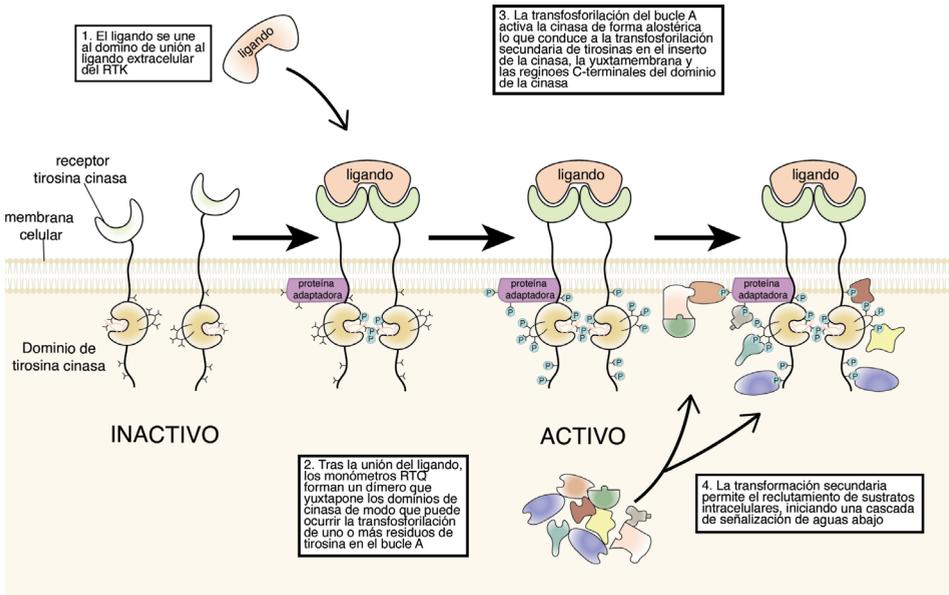


Figura 4.4. (a) Mecanismo general de la activación de los RTK. (b) Tras la unión del ligando, los receptores de tirosina quinasa (RTK) se dimerizan y se activan.

De izquierda a derecha: la unión del ligando induce la dimerización de RTK, yuxtaponiendo así los dominios de cinasa intracelular en una orientación/proximidad adecuada, de modo que la transfosforilación de tirosinas (que se muestran como símbolos Y) en el bucle de activación (bucle A) y, por lo tanto, la activación de la cinasa puede ocurrir. Esto, a su vez, desencadena transfosforilaciones secundarias (que se muestran en turquesa) en las regiones de inserción de cinasa, en la yuxtamembrana y en la cola C-terminal, creando sitios de acoplamiento para el reclutamiento de distintos sustratos intracelulares (que se muestran en una variedad de formas/colores en la parte inferior derecha). Los tonos más oscuros se utilizan para indicar sustratos unidos y activados en la ilustración de la derecha.

Por otro lado, también se sabe que la formación de dímeros funcionales se puede realizar de múltiples formas; por ejemplo, muchos receptores se dimerizan de manera similar al receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), en el que cada una de las dos moléculas de FGF se une simultáneamente a los dominios extracelulares de dos subunidades del receptor, estabilizando el dímero. También, el FGF se une fuertemente al heparán sulfato, un componente polisacárido cargado negativamente de algunas proteínas de la superficie celular y de la matriz extracelular; esta asociación mejora la unión del ligando y la formación de un complejo dimérico receptor-ligando (Lodish *et al.*, 2016).

Las moléculas de señalización que pueden activar a los RTK pueden ser hormonas proteícas o peptídicas solubles o unidas a la membrana, incluyendo muchas que inicialmente se habían identificado como factores de crecimiento para tipos específicos de células. Algunos de estos ligandos son el factor de crecimiento nervioso (NGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF), que estimulan la proliferación y diferenciación de ciertos tipos celulares específicos. Otros, como la insulina, regulan la expresión de múltiples genes que controlan el metabolismo del azúcar y los lípidos en el hígado, los músculos y las células adiposas (grasas); algunos de estos se encuentran enlistados en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1 Algunas proteínas de señal que actúan a través de RTK

Familia de proteínas señal	Familia de receptor	Algunas respuestas representativas
Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF1)	Receptores de insulina	Estimula la utilización de carbohidratos y la síntesis de proteínas
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	Receptores EGF	Estimula la supervivencia, el crecimiento, la proliferación o la diferenciación de varios tipos de células; actúa como señal inductiva en desarrollo
Factor de crecimiento nervioso (NGF)	IGF receptor-1	Estimula el crecimiento y la supervivencia celular en muchos tipos de células
Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)	Receptores RTK	Estimula la supervivencia y el crecimiento de algunas neuronas
Factor estimulante de colonias de macrófagos (MCSF)	Receptores PDGF	Estimula la supervivencia, el crecimiento, la proliferación y la migración de varios tipos de células
Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)	Receptores MCSF	Estimula la proliferación y diferenciación de monocitos/macrófagos
Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)	Receptores (VEGF)	Estimula la proliferación de varios tipos de células; inhibe la diferenciación de algunas células precursoras; actúa como señal inductiva en desarrollo
Efrina	Receptores FGF	Estimula la angiogénesis

Tomado, modificado y traducido de Alberts, 2015.

Finalmente, otras RTK, como el receptor de insulina, forman dímeros unidos por enlaces disulfuro incluso en ausencia de hormona; la unión del ligando a este tipo de RTK altera su conformación de tal manera que se activa el receptor cinasa. Este último ejemplo destaca el caso de que el simple hecho de tener dos monómeros receptores en estrecho contacto no es suficiente para la activación del receptor; los cambios conformacionales adecuados deben acompañar a la dimerización del receptor para conducir a la activación de la tirosina cinasa. Una vez que un RTK se bloquea en un estado dimérico funcional, se activa su tirosina cinasa asociada.

Varios de los receptores enlistados en la Tabla 1 comparten mecanismos de regulación a la baja, por ejemplo, los receptores de citocinas y los RTK. A continuación, se mencionan algunos de los mecanismos que comparten ambos receptores.

Endocitosis mediada por receptores. La endocitosis es el principal regulador de la señalización de los RTK, y el modelo canónico implica la internalización rápida de un RTK activado por la unión del ligando en la superficie celular y la posterior clasificación de los complejos ligando – RTK internalizados hacia los lisosomas para su degradación. La activación de la actividad tirosina cinasa intrínseca de los RTK da lugar a la autofosforilación, que se acopla mecánicamente al reclutamiento de proteínas adaptadoras y a la conjugación de ubiquitina a los RTK. La ubiquitinación sirve para mediar las interacciones de los RTK con las maquinarias de clasificación tanto en la superficie celular como en los endosomas (Goh y Sorkin, 2013).

Degradación lisosomal. La degradación del receptor por hidrolasas lisosomales y proteasas del proteosoma 26S está precedida por un proceso enzimático de tres pasos que conjuga covalentemente moléculas de ubiquitina para atacar los RTK destinados a la destrucción completa. La clasificación posterior de RTK marcados con ubiquitina implica rutas de tráfico intracelular vesicular u otras vías menos caracterizadas. Por ejemplo, los receptores ubiquitinados se clasifican para su internalización mediante la inserción en endosomas y luego en los prelisosomas, pero la desubiquitinación mediada por enzimas específicas permite el reciclaje de los RTK internalizados de regreso a la membrana plasmática, donde participan en ciclos renovados de señalización (Kreitman *et al.*, 2018).

Fosfatasas de fosfotirosina. Las fosfatasas de fosfotirosina son enzimas desfosforilantes que hidrolizan específicamente los enlaces de fosfotirosina en proteínas objetivo-específicas. Un ejemplo de cómo las enzimas fosfotirosina fosfatasas funcionan para suprimir la actividad de las proteínas tirosina cinasas lo proporciona SHP1, una fosfatasa que regula negativamente la señalización de varios tipos de receptores de citocinas. SHP1 amortigua la señalización de citocinas al unirse a un receptor de citocinas e inactivar la proteína JAK asociada, además, SHP1 tiene dos dominios SH2. Cuando las células están sin ser estimuladas por una citocina, uno de los dominios SH2 de SHP1 se une físicamente al sitio catalítico del dominio fosfatasa de la enzima y

lo enmascara. Sin embargo, en el estado estimulado, este dominio SH2 de bloqueo se une a un residuo específico de fosfotirosina en el receptor activado. El cambio conformacional que acompaña a esta unión desenmascara el sitio catalítico de SHP1 y también lo hace adyacente al residuo de fosfotirosina en el bucle de activación de la JAK asociado al receptor. Al eliminar este fosfato, SHP1 inactiva la JAK, de modo que ya no puede fosforilar el receptor ni otros sustratos (como las STAT), a menos que otras moléculas de citocinas se unan a los receptores de la superficie celular, iniciando una nueva ronda de señalización (Lodish *et al.*, 2016).

Proteínas supresoras de señalización de citocinas. Estas proteínas también llamadas SOCS, por sus siglas en inglés, han sido ampliamente estudiadas en la regulación de la señalización de los receptores de citocinas y de la hormona del crecimiento. Estudios han revelado un papel potencial en la regulación de la señalización de los RTK. Al igual que los receptores de citocinas, la activación de una serie de RTK induce la expresión de ARNm de SOCS. Además, la expresión de las proteínas SOCS puede contrarrestar la señalización de los RTK, sin embargo, los mecanismos por los que la activación de RTK induce la expresión de SOCS se solapan en su mayoría con la vía de inducción de citocinas. Muchos RTK son capaces de promover la fosforilación de tirosina de las proteínas STAT. La fosforilación de tirosina de las proteínas STAT conduce a la dimerización y translocación nuclear de estas proteínas que, a su vez, activan la transcripción de varios genes, incluido el SOCS. Cada vez está más claro que hay otros mecanismos que contribuyen a la regulación de la expresión de los genes SOCS, algunos de los cuales se sabe que están directa o indirectamente influidos por la activación de los RTK (Kazi *et al.*, 2014).

Receptores de citocinas

Los receptores de citocinas tienen un papel esencial en diversos procesos celulares; por ejemplo, inician cascadas de señalización que regulan una gran cantidad de funciones fisiológicas, como el control de la activación de células madre neurales, metabolismo, respuestas inflamatorias, desarrollo óseo o el desarrollo y crecimiento de células de la sangre e inmunes (hematopoyesis); también, participan en la reproducción, la lactancia y el crecimiento posnatal (Brooks *et al.*, 2018).

A diferencia de los RTK en los que la enzima tirosina cinasa es una parte intrínseca de la cadena polipeptídica del receptor, en los receptores de citocinas el receptor y la cinasa son polipéptidos separados, codificados por genes diferentes, pero que se encuentran unidos estrechamente entre sí, y en estos la cinasa citoplásmica fuertemente unida se conoce como *cinasa Janus* (JAK, en referencia al dios romano de dos caras), la cual fosforila y activa los reguladores transcripcionales llamados *STAT* (*transductores de señal y activadores de transcripción*), los cuales se encuentran en el citosol y se denominan *reguladores de la transcripción*, latente porque migran al núcleo y regulan la transcripción génica solo después de que se activan (Lodish *et al.*, 2016).

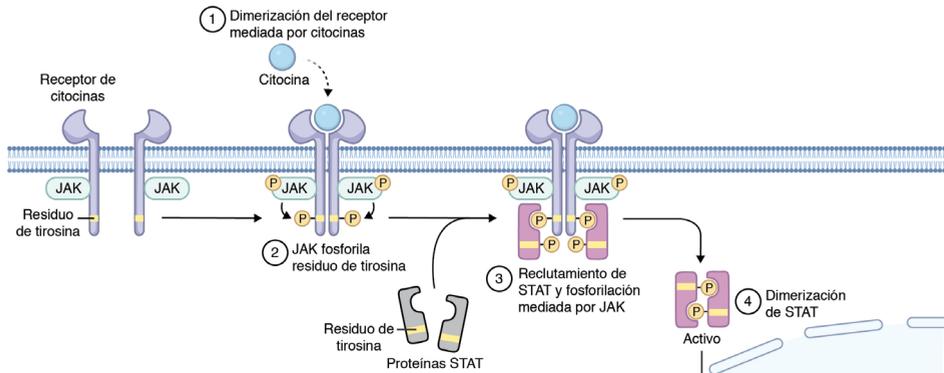


Figura 4.5. La vía de señalización JAK/STAT activada por citocinas.

La unión de la citocina provoca la dimerización de dos cadenas polipeptídicas receptoras separadas o reorienta las cadenas receptoras en un dímero preformado (1). En cualquiera de ambos casos, las JAK asociadas se juntan para poder fosforilarse mutuamente en las tirosinas y activarse por completo (2), tras lo cual fosforilan los receptores para generar sitios de unión para los dominios SH2 de las proteínas STAT. Las JAK también fosforilan las proteínas STAT (3), que se disocian del receptor para formar dímeros (4) y entrar en el núcleo para controlar la expresión génica (5).

Aunque diversas vías de señalización intracelulares se enlazan desde su receptor de superficie celular hasta el núcleo, en donde alteran la transcripción de genes, la vía de señalización JAK/STAT es una de las más directas (Figura 4.5). En general, los receptores de citocinas son dímeros o trímeros que están asociados de manera estable con uno o dos de los cuatro JAK conocidos (JAK1, JAK2, JAK3 y Tyk2). La unión de las citocinas altera la disposición para acercar dos JAK de manera que se fosforilan entre sí, aumentando así la actividad de sus dominios de tirosina cinasa. Las JAK luego fosforilan tirosinas en las colas citoplasmáticas de los receptores de citocinas, creando sitios de acoplamiento de fosfotirosina para STAT.

De manera sencilla, los receptores de citocinas se agrupan en dos clases según la homología de secuencia y sus características estructurales. Por un lado, la familia de receptores de citocinas de clase I, que comprende más de 30 miembros, incluidos los receptores para eritropoyetina (EPO), prolactina (PRL), hormona del crecimiento (GH), trombopoyetina (TPO), leptina (LEP), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), factor inhibidor de la leucemia (LIF), interleucina-3 (IL-3), IL-5, IL-7 e IL-6 (Waters y Brooks, 2015). Cabe resaltar que solo algunos receptores de citocinas de esta clase tienen ligandos que se consideran hormonas y están directamente involucrados con el sistema endocrino como la GH, PRL y la LEP. El otro grupo son denominados *receptores de clase II* que inicialmente incluían a los receptores de interferón y el receptor de IL-10; sin embargo, debido al descubrimiento de más citocinas y sus receptores, esta clase se ha expandido para incluir otras como IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26 e IL-29 (Renauld, 2003).

Receptores de Citocinas Clase I

También conocidos como *receptores de hematopoyetina*, constituye una de las familias más grandes de receptores de citocinas, están involucrados en diversos procesos biológicos y su desregulación se ha asociado a esclerosis múltiple, osteoporosis, cáncer, obesidad, etc. Todos los receptores de la clase I emplean proteínas JAK (JAK 1-3 y Tyk2) unidas a una región conservada Box1 del dominio intracelular con el cual inician la señalización intracelular que se transmite a los reguladores STAT (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b y STAT6) y eventualmente al núcleo.

Aunque las JAK son las principales proteínas asociadas a esta familia de receptores, además de las JAK, varios miembros de la familia se asocian con las cinasasa de la familia Src (SFK) y las activan, y, en el caso de algunos receptores, se ha definido que esto es independiente de la interacción del receptor con las JAK y de su activación (Waters y Brooks, 2015). Además de la vía de señalización JAK-STAT, los receptores de citocinas de clase I también utilizan otros mecanismos de señalización como la vía de la cinasa RAS-RAF-MAP, la cinasa PI3K y el sustrato del receptor de insulina (Figura 4.6) (Wang et al., 2009).

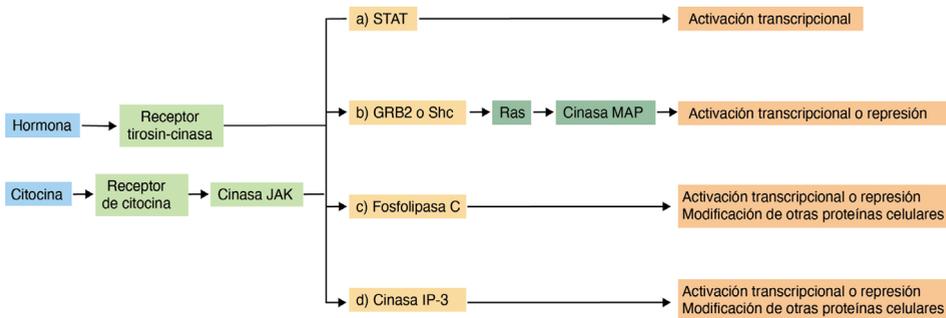


Figura 4.6. Visión general de las vías de transducción de señales desencadenadas por los receptores que activan las proteínas tirosina cinasas.

Tanto los RTK como los receptores de citocinas activan múltiples vías de transducción de señales que, en última instancia, regulan la transcripción de genes.

Aunque el paradigma original para los complejos de receptores de citocinas se derivó del sistema hGH homodimérico como el receptor de GH (GHR), receptor de PRL (PRLR) o el receptor de EPO (EPOR), la mayoría de los receptores de Clase I no se homodimerizan. De hecho, la mayoría forma heterodímeros como receptores a IL-4 o de IL-7, otros forman heterotrímeros, como los receptores de IL-2 e IL-15, tetrámeros, como IL-6 virales/gp130, G-CSF/G-CSFR, hexámeros como la IL-6 humana/IL-6R α /gp130 e inclusive dodecámeros, como el GM-CSF/GM-CSRFa/ β_c (Wang et al., 2009). Una característica importante de estos complejos de receptores heterooligoméricos es el uso de una subunidad de receptor común y compartida como cadena

transductora de señales junto con una cadena específica de citocina. En este sentido, cuando se clasifican en subgrupos por receptores compartidos, hay tres clases principales de complejos de hetero-receptores en la familia de Clase I: los que utilizan gp130, los que emplean β_c y los que usan g_c (Figura 4.7).

Receptores de Citocinas Clase I

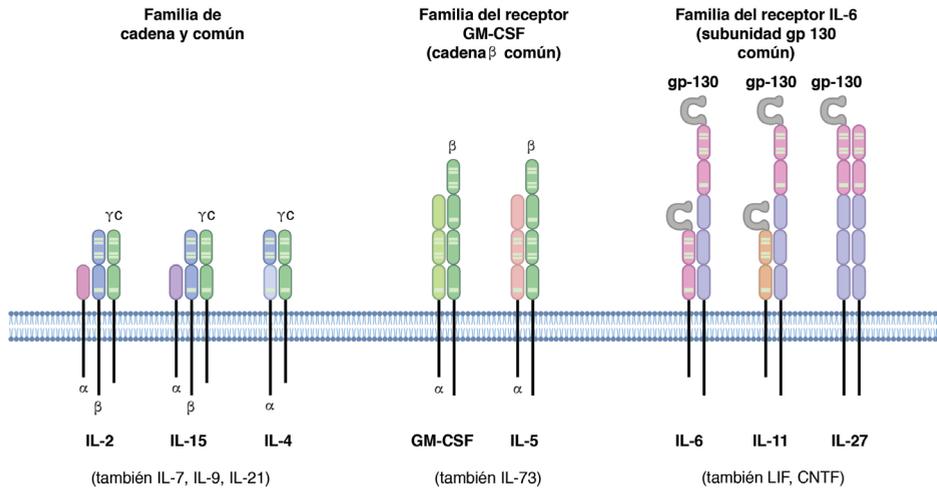


Figura 4.7. Receptores de Citocinas de Clase I y sus tres principales complejos de hetero-receptores.

(Imagen creada con BioRender.com).

Glucoproteína 130: gp130

La gp130 es el miembro fundador de los receptores de citocinas altas y es el componente común del receptor que transduce señales para la familia IL-6 (IL-6, IL-11, IL-27, IL-30, IL-31, oncostatina-M (OSM), factor neurotrófico ciliar (CNTF), factor inhibitorio de leucemia (LIF), cardiotrofina-1 (CT-1), citocina similar a cardiotrofina (CLC) (Cron *et al.*, 2016). Las funciones que desempeña la familia de citocinas gp130 son diversas e incluyen la respuesta inmunitaria, el crecimiento neuronal, el mantenimiento de la pluripotencia de las células madre y las funciones cardiovasculares. De forma general, las citocinas gp130 forman un complejo de dimerización a través de tres combinaciones diferentes de subunidades receptoras y participan en complejos de señalización oligomérica (Brooks *et al.*, 2018):

- Homodímero gp130 + IL-6/IL-11 \rightarrow IL-6R α y IL-11R α
- Heterodímero gp130 + LIF \rightarrow LIFR. Es inducido por múltiples citocinas como OSM, CLC, LIF, CNTF o CT-1.
- Gp130 + OSM \rightarrow induce combinaciones LIFR/gp130 y OSMR/gp130

De cadena beta común: β_c

De entre la diversa cantidad de células que secretan citocinas β_c , hay una distinción entre GM-CSF, que es producida por múltiples tipos de células como los macrófagos, fibroblastos y/o células epiteliales y las IL-3 e IL-5 que son producidas específicamente por células T activadas. Esta familia de receptores (también conocidos como de hematopoyetina) se caracteriza por un módulo de homología extracelular de 200 aminoácidos que contiene dos dominios de fibronectina tipo III con características de secuencia conservadas. Estas características conservadas incluyen un motivo WSXWS proximal a la membrana y residuos de cisteína emparejados distales de la membrana. IL-3R α , IL-5R α y GM-CSFR α exhiben cada uno estas características. El dominio externo β_c se distingue de cada uno de estos dominios externos R α por ser más largo debido a dos pares de dominios de fibronectina. IL-3R α , IL-5R α y GM-CSFR α , existen cada uno como una molécula transmembrana, cuyo dominio citoplasmático contiene motivos conservados necesarios para el inicio de la señalización y, finalmente, el dominio citoplásmico β_c más largo contiene la secuencia necesaria para completar la transducción de señales (Shearer, 2003).

- GM-CSF: El espectro de células que producen GM-CSF sugiere un papel en varias respuestas inmunes innatas, adaptativas y en enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide, esclerosis múltiple, asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Y mientras que se sabe que el GM-CSF producido durante la inflamación promueve la producción de células hematopoyéticas y la inmunidad, su papel en la hematopoyesis fisiológica no parece ser crítico, con la excepción del macrófago alveolar (Zhan *et al.*, 2019).
- IL-3: El papel de la IL-3 como factor de crecimiento y supervivencia para múltiples linajes de células hematopoyéticas normales y malignas es bien reconocido y, a diferencia de GM-CSF y de IL-5, la IL-3 también regula las células madre hematopoyéticas y los megacariocitos, propiedades para la reconstitución de la médula ósea (Dougan *et al.*, 2019).
- IL-5: Es la citocina con actividad más específica, ya que solo estimula la producción y la activación de los eosinófilos y basófilos. Curiosamente, aunque la IL-5 es específica de estas células, las tres citocinas β_c estimulan la producción y función de eosinófilos tanto en un estado fisiológico como en condiciones inflamatorias, como el asma (Hercus *et al.*, 2018).

De cadena gamma común: γ_c

El receptor γ_c es una subunidad de receptor compartida para un subconjunto de citocinas que incluye a IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21 (Figura 4.8). Este conjunto de citocinas exhibe una amplia actividad pleiotrópica en el sistema inmunológico, incluidos el sistema innato y adaptativo, y contribuyen

al desarrollo de células T, B, *natural killer* (NK) y células linfoides innatas (ILC), promoviendo la supervivencia o muerte celular de poblaciones inmunes dependiendo del contexto, y modulando críticamente la diferenciación de poblaciones celulares.

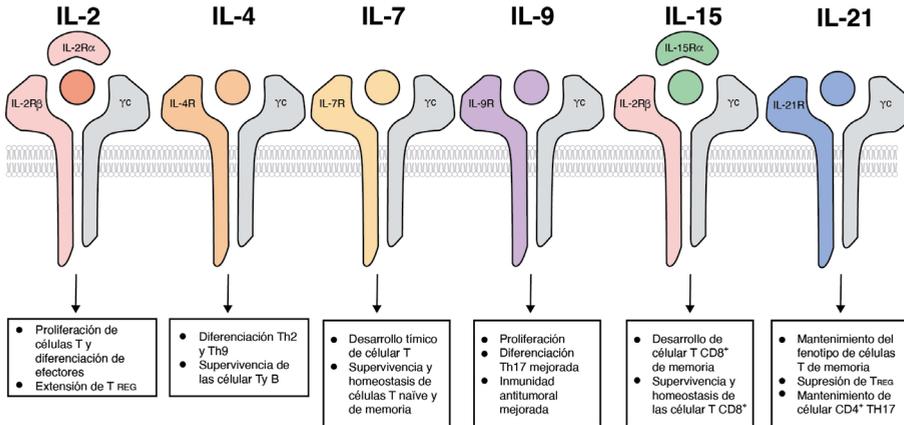


Figura 4.8. La señalización de citocinas de la cadena γ_c común afecta el destino funcional de las células T.

Aquí se aprecian los seis miembros de la familia de citocinas γ_c IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21 y la composición de sus receptores de citocinas únicos. La cascada de señalización de estos receptores conduce a distintos resultados biológicos que afectan la diferenciación, la función efectora y el desarrollo de la memoria de las células T. (Imagen tomada y traducida de Dwyer *et al.*, 2019).

La unión de las citocinas a los complejos del receptor γ_c trae como resultado la activación del JAK3 asociado a γ_c y un miembro diferente de la familia JAK unido a la subunidad del receptor opuesto. El γ_c posee un dominio citoplásmico relativamente corto (86 residuos de aminoácidos) en comparación con otras subunidades de señalización de receptores de citocinas de clase I, además carece del motivo clásico Box1 o Box2; sin embargo, conserva la capacidad de unirse a JAK3 a través de su región proximal a la membrana. Se sabe que es el único receptor que media la señalización dependiente de JAK3 (Leonard *et al.*, 2019).

Receptores de citocinas clase II

Los receptores de clase II se distinguen de la clase I por diversas características que incluye una disposición diferente de sus cuatro residuos de cisteína conservados y la falta de motivos WSxWS en su dominio extracelular. Inicialmente fueron seis receptores los que se describieron como receptores de citocinas clase II; sin embargo, los descubrimientos de nuevas citocinas llevaron a la adición de otros seis nuevos receptores que dan un total de 12 receptores de citocinas de clase II descritos hasta la fecha (Brooks *et al.*, 2018).

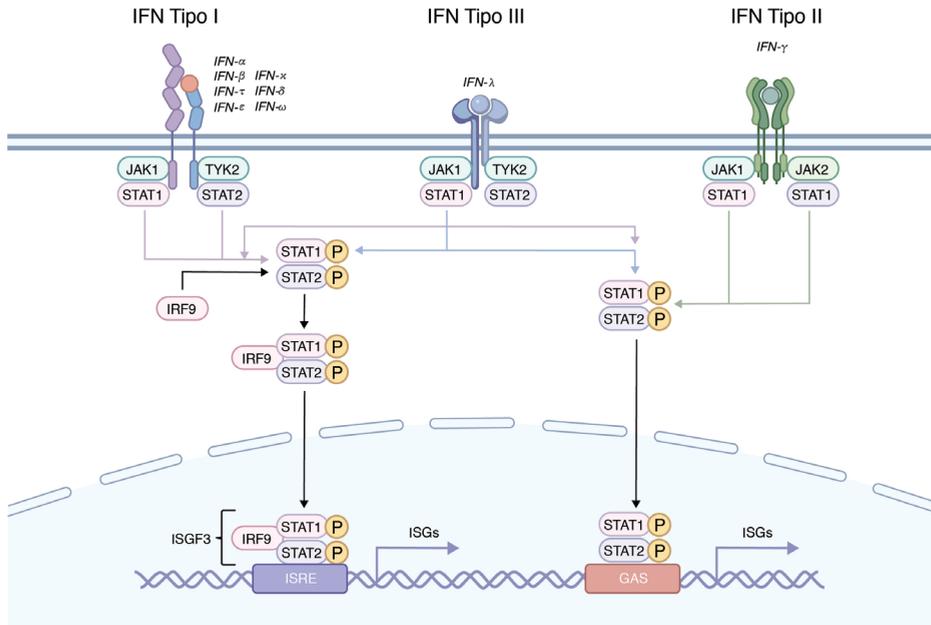


Figura 4.9. Transducción de señales por los receptores de IFN tipo I, II y III.

La participación de los IFN tipo I y III por sus respectivos receptores, IFNAR1/IFNAR2 e IFNLR1/IL10R2 desencadena la fosforilación de las cinasas JAK1/TYK2 que activan STAT1 y STAT2. Los heterodímeros STAT1/STAT2 fosforilados se unen a IRF9 formando el complejo ISGF3, que se transloca al núcleo donde induce la expresión de genes con promotores dependientes de ISRE. La participación del IFN de tipo II por el receptor IFN γ R1/IFN γ R2 induce la fosforilación de las cinasas JAK1/JAK2 que activan STAT1. Los homodímeros de STAT1 fosforilados se translocan al núcleo e inducen la expresión de genes con promotores dependientes de GAS (Dussurget *et al.*, 2014). (Imagen creada con BioRender.com).

Los interferones se descubrieron inicialmente como agentes antivirales durante la interferencia de un virus. En la actualidad, los interferones se dividen en tres grupos: tipo I, II y III (Figura 4.19) (Secombes y Zou, 2017).

- IFN tipo I: incluye a los IFN- α e IFN- β que son las citocinas mejor caracterizadas y expresadas con mayor amplitud. Sin embargo, otros miembros como el IFN- δ (interferón-delta), IFN- ϵ (interferón-epsilon), IFN- κ (interferon-kappa), IFN- ν (interferón-nu), IFN- τ (interferón-tau) e IFN- ω (interferón-omega) no se expresan de forma ubicua, sino que son específicos de tejidos. Los IFN de tipo I señalizan a través de complejos de receptores heterodiméricos compuestos por IFNAR1 e IFNAR2.

- IFN de tipo II: solo poseen el único miembro IFN- γ que envía señales a través del complejo receptor IFNGR1 / IFNGR2.
- IFN de tipo III: incluyen a la IL-28A o IL-28 α (IFN- γ 2), IL-28B o IL-28 β (IFN- λ 3) e IL-29 (IFN- λ 1) y también están relacionados con la familia de citocinas similares a IL-10. Estas citocinas revelan una actividad antiviral similar a los IFN de tipo I con células epiteliales como objetivos principales. Esta familia de citocinas ensambla complejos de señalización mediante la unión a IFN- λ R1 (IL-28R) e IL-10R2.

Por otro lado, la IL-10 es un miembro destacado de la familia de citocinas de clase II y exhibe un modo de acción diferente en comparación con los otros miembros, ya que la IL-10 es una citocina antiinflamatoria que protege a las células de los efectos de una respuesta inflamatoria excesiva. Otros miembros de esta familia son la IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 e IL-26, que tienen funciones protectoras en las células epiteliales contra patógenos como bacterias u hongos, como las levaduras (Ouyang y O'Garra, 2019).

Los complejos de receptores competentes en señalización de esta familia incluyen una citocina, R1 o una cadena α del receptor, y R2 o una cadena β del receptor. Las cadenas R1 normalmente poseen dominios intracelulares más cortos, mientras que las cadenas R2 tienen cadenas citoplasmáticas más largas y pueden unirse a otras proteínas de transducción de señales como las STAT. IL-10 se une exclusivamente a IL-10R1 y emite señales a través de un complejo IL-10R1/IL-10R2 heterodimérico; el IL-10R2 es una subunidad de señalización compartida para otras citocinas relacionadas con IL-10 como IL-22 e IL-26 donde se forman los complejos IL-22R1/IL-10R2 e IL-20R1/IL-10R2, respectivamente. Por su parte, IL-19, IL-20 e IL-24 forman complejos de señalización mediante la unión a IL-20R1 e IL-20R2, además, IL-20 e IL-24 forman complejos de receptores funcionales con IL-22R1 e IL-20R2 (Brooks *et al.*, 2018).

Finalmente, los reguladores de señales del receptor de citocinas se pueden clasificar en tres tipos: 1) proteínas que suprimen físicamente la generación de señales, 2) proteínas fosfatasa y 3) proteínas que reclutan sistemas de degradación o procesos como proteosomas, autofagia y endocitosis. Todas resultan ser proteínas multidominio que se unen a los receptores y/o moléculas de señalización a través de un dominio de homología Src 2 (SH2) u otros motivos de unión y luego suprimen la señalización a través de otros dominios. Se puede resaltar que prácticamente los RTK y los receptores de citocinas comparten los mismos mecanismos de regulación a la baja (Yoshimura *et al.*, 2018).

Receptores serina/treonina cinasa

Los receptores de serina/treonina cinasa están dedicados a transmitir señales provocadas por miembros de la familia del factor de crecimiento transformante β (TGF- β). La familia TGF- β es una de las más prominentes de primeros mensajeros y en mamíferos se puede dividir en varias subfamilias: TGF β , BMP, GDF, activina, inhibina, nodal, miostatina y AMH (Kramer, 2016b). EL TGF- β es expresado por todas las células del cuerpo humano y desempeña un papel importante en el desarrollo normal y la homeostasis. Hay tres formas de TGF- β (TGF- β 1, 2 y 3), que son ligandos del receptor, tienen una actividad biológica similar y son importantes en procesos como la regulación de la proliferación, migración, diferenciación y apoptosis; también hay tres tipos de receptores de TGF- β (TGFBR1, 2 y 3) (Vander Ark *et al.*, 2018).

La señalización canónica de TGF- β ocurre cuando uno de los tres ligandos se une al TGFBR2, que luego fosforila y activa al TGFBR1 y este último fosforila cascada abajo a SMAD2 y SMAD3, cada uno en un residuo de serina en su extremo carboxilo terminal (pSmad2/3C), que luego recluta a SMAD4 y se transloca al núcleo donde regula la transcripción de genes diana de TGF- β . Por otro lado, SMAD7 podría reclutarse en el complejo de TGFBR activado o pSmad2/3C para iniciar su degradación por la ligasa E3 específica de SMAD. Por su parte, el más abundante, el TGFBR3, también llamado β -glicano, es un proteoglicano (un proteoglicano consiste en una proteína unida a cadenas de glicosaminoglicanos (GAG) como heparán sulfato y condroitín sulfato) de la superficie celular que es una proteína transmembrana que se une y concentra las moléculas de TGF- β cerca de la superficie celular, facilitando su unión a los receptores TGFBR2 (Vander Ark *et al.*, 2018).

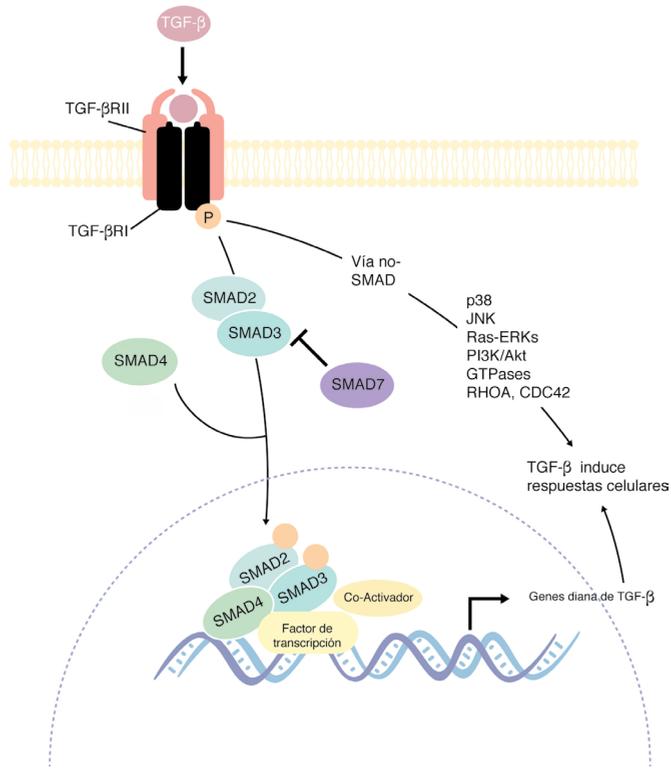


Figura 4.10. Señalización de TGF-β a través de vías dependientes e independientes de Smad.

A) Vía canónica. Los ligandos TGF-β activados, TGFβRI y el complejo receptor TGF-βRII, reclutan y fosforilan el receptor específico Smad2/3. El complejo heterooligomérico de Smad2/3-Smad4 se transloca al núcleo y se une a una secuencia de ADN específica e interactúa con factores y cofactores de transcripción para regular la transcripción. La vía está regulada negativamente por Smad6/7, que se une al TGF-βRI activado, evitando así la fosforilación de Smad2/3, o recluta las ubiquitina ligasas E3 para inducir la degradación proteosómica de Smad2/3. B) Señalización independiente de Smad. TGF-β puede promover la actividad de varias vías de señalización además de Smad, incluidas MAPK, PI3K cinasas, TRAF6-TAK1-p38/JNK, Rho-Rock, entre otras.

Dependiendo de las proteínas reclutadas por el complejo ligando-receptor, el TGF-β que se une a sus receptores puede activar la señalización no canónica al estimular una variedad de cinasas, como las MAPK, ERK, P38, JNK, fosfatidilinositol 3 cinasa (PI3K) /PKB o ROCA. Estas cinasas son capaces de fosforilar las regiones enlazadoras de SMAD2/3 (que es la región entre la homología 1 de Mad en el extremo N (MH1) y los dominios MH2 en el extremo C de una proteína SMAD). La señalización basada en la fosforilación de la región enlazadora se ha definido como señalización no-SMAD (o independiente de SMAD o no canónica) (Figura 4.10) (Zhang, 2017).

En la membrana plasmática, los TGFBR residen tanto en los dominios de la membrana de la balsa lipídica como en los dominios que no son de la balsa. Se ha demostrado que los tres TGFBR presentan un recambio rápido en la membrana celular; un posible mecanismo para esto podría estar relacionado con la endocitosis, un evento regulador importante en la transducción de señales. Los TGFBR se internalizan en vesículas positivas para caveolina y clatrina; la internalización dependiente de clatrina en un endosoma positivo para el antígeno del endosoma temprano (EEA-1) promueve la señalización canónica aumentando la traslocación nuclear de SMAD2 y, por lo tanto, la activación de la señalización descendente. Por el contrario, la vía de internalización de la balsa lipídica-caveolar implica al receptor unido a SMAD7-SMURF1/2 y es necesaria para la renovación del receptor. Hasta ahora se desconoce el mecanismo que dirige la internalización de los receptores activados para señalar el recambio o señalar la activación (Chen, 2009).

De forma interesante, mediante el uso de receptores quiméricos se ha encontrado que los TGFBR se reciclan constantemente en ausencia de ligandos y que la unión del ligando dirige solo los receptores heteroméricos (TGFBR1/TGFBR2) para la degradación, mientras que los receptores homoméricos (TGFBR1/TGFR1 o TGFR2/TGFBR2) se reciclan de nuevo a la membrana plasmática (Dore *et al.*, 2001). Cabe resaltar la interacción que presentan con otros receptores, por ejemplo, tanto TGFBR1 como TGFBR2 pueden inmunoprecipitar con el receptor de interleucina. Este es el mecanismo para que la IL-1 β (a más de 2 nM) active la señalización SMAD y el TGF- β active NF κ B, la señal de IL-1 β corriente abajo (Lu *et al.*, 2007).

Finalmente, en la mayoría de las vías de señalización, la respuesta a un factor de crecimiento u otra molécula de señalización disminuye con el tiempo (un fenómeno llamado *desensibilización*), una respuesta que es adaptable porque evita la reacción exagerada y hace posible un control preciso de las respuestas celulares. En este sentido, dos proteínas citosólicas llamadas SnoN y Ski (Sloan-Kettering Cancer Institute) son inducidas por la señalización de TGF- β en prácticamente todas las células del cuerpo y sirven para modular a la baja la vía de señalización de TGF- β / Smad. Se cree que los niveles aumentados de estas proteínas inducidos por TGF- β amortiguan los efectos de señalización a largo plazo debido a la exposición continua a TGF- β ; este es otro ejemplo de retroalimentación negativa, en el que un gen inducido por la señalización de TGF, en este caso SnoN, inhibe la señalización adicional de TGF- β . Entre otras proteínas inducidas después de la estimulación de TGF- β se encuentran las I-Smad, especialmente Smad7, la cual bloquea la capacidad de los receptores TGFBR1 activados para fosforilar las proteínas R-Smad, y también puede dirigirse a los receptores TGF- β para su degradación. De esta manera, Smad7, como Ski y SnoN, participan en un ciclo de retroalimentación negativa (Lodish *et al.*, 2016).

Receptores de la familia del factor de necrosis tumoral

Desde la identificación del factor de necrosis tumoral (TNF) en 1975 y su aislamiento y caracterización en 1984, esta molécula se ha establecido como una potente citocina inflamatoria con una gran diversidad de funciones en varios tipos celulares. El TNF es producido principalmente por monocitos/macrófagos, pero también otros tipos celulares como linfocitos T, B y NK, mastocitos, polimorfonucleares o fibroblastos pueden secretarlo en pequeñas cantidades. El TNF alfa (TNF- α) es el ligando prototipo y que da nombre a la superfamilia de TNF (TNFSF), se puede expresar como una proteína transmembranal (mTNF) de extensión única de tipo II, y como una variante soluble (sTNF) que se libera de la forma transmembrana por procesamiento proteolítico a través de la acción de la metaloproteasa de matriz conocida como *enzima convertidora del TNF- α* (TACE:ADAAM17), que actúa en la región del tallo y que separa el dominio de homología de TNF (THD) característico de la transmembrana y el dominio intracelular. De hecho, aunque el mTNF funciona como un ligando que transmite interacciones de célula a célula y cuando se une a TNFR2 (su objetivo biológico principal) es capaz de inducir una respuesta más potente que el sTNF (Holbrook *et al.*, 2019).

Ambas formas, tanto el mTNF como el sTNF ejercen sus funciones celulares mediante cualquiera de sus dos receptores: TNFR1, expresado prácticamente en todas las células del cuerpo, y TNFR2, expresado tanto en células inmunitarias como en neuronas, microglía, células endoteliales y oligodendrocitos. Aunque ambos receptores tienen estructuras extracelulares similares en los sitios de unión al mTNF y al sTNF, presentan estructuras intracelulares distintas que se unen a una serie de proteínas adaptadoras. En este sentido, la cola citoplasmática del TNFR1 contiene un dominio de muerte (DD), lo que le permite reclutar el DD asociado al TNFR1 (TRADD); el TNFR2, por el contrario, no tiene un DD intracelular y recluta en su lugar las proteínas del factor asociado al TNFR (TRAF) 1 y 2 (Figura 4.11), (Wajant y Siegmund, 2019).

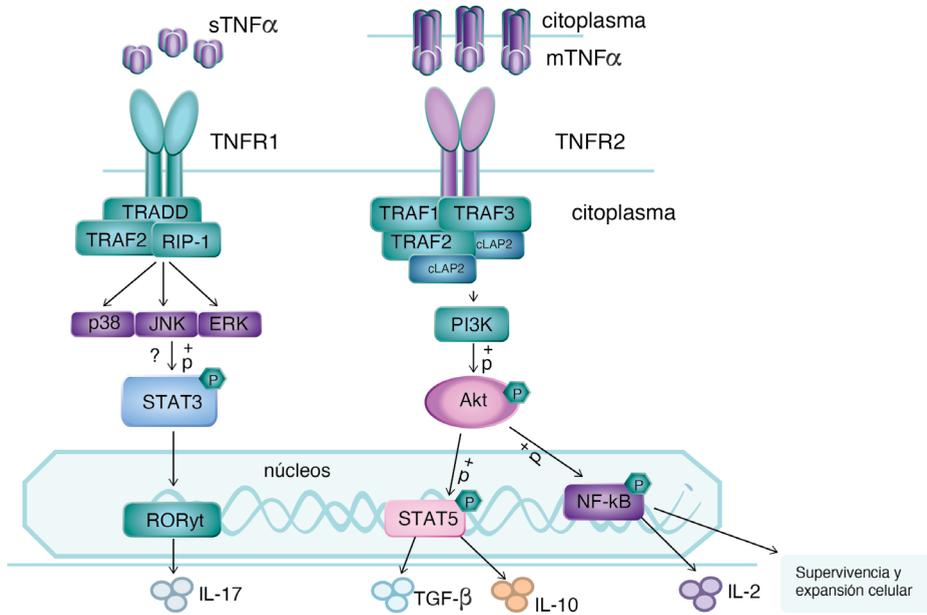


Figura 4.11. Descripción general del factor de necrosis tumoral (TNF): vías de señalización del receptor 1/2 de TNF (TNFR1/2).

Cuando se activa el receptor 2 del mTNF/TNF (TNFR2) los dominios intracelulares reclutan los complejos citoplásmicos existentes del factor 2 asociado al receptor del TNF (TRAF-2)-cIAP1-cIAP2, lo que provoca el inicio de la activación de las vías canónicas y no canónicas del NF-κB/Rel y de las MAPK que activan el promotor de la IL-2 y desencadenan su expresión, las vías NF-κB también transcriben genes asociados a la supervivencia y la proliferación celular. Cuando se activa el sTNFα/TNFR1, los dominios intracelulares interactúan con TRADD, que se asocia con la proteína-1 del receptor (RIP-1) y TRAF-2 para formar el complejo de señalización I, mismo que desencadena las cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK), p38, y c-Jun N-terminal cinasa (JNK). (Imagen tomada, modificada y traducida de Yang *et al.*, 2018).

Mientras que ambas vías de señalización del TNFR1 y 2 pueden conducir a la activación del factor nuclear kappa B (NFκB) y a la inducción de una respuesta de supervivencia celular, el TNFR1 también es capaz de inducir una respuesta de muerte celular en función de las circunstancias fisiológicas imperantes; sin embargo, la regulación de los dos TNFR depende del entorno celular y aún no se conoce del todo (Holbrook *et al.*, 2019).

La complejidad del sistema de señalización del TNF-TNFR1/TFR2 se vuelve importante de analizar para algunos tipos celulares, por ejemplo, en los macrófagos no solamente se coexpresa el TNFR1 y el TNFR2, sino que también producen grandes cantidades de TNF tras la estimulación de una variedad de receptores, incluyendo todos los tipos de receptores de reconocimiento de patrón (PRR) y varios miembros del TNFRSF. La activación de la vía clásica del NFκB es de vital importancia para la regulación del TNF, y, de hecho, el TNF

producido por los macrófagos no solo interviene en las actividades proinflamatorias y citotóxicas de este tipo de células, sino que también regula de forma autócrina la viabilidad y el estado de activación de los macrófagos. De hecho, existen diversos ejemplos de muerte celular de macrófagos inducida por patógenos que implican de forma crucial al TNF (Wajant y Siegmund, 2019).

Por otro lado, la transición epitelio – mesénquima (EMT) es una vía fuertemente mediada por el TNFR en las células endoteliales y epiteliales. La EMT es un proceso esencial para la reparación normal de los tejidos; las células epiteliales adoptan un fenotipo mesenquimal migratorio mediante una compleja modulación de las proteínas de adhesión y los filamentos intracelulares. Durante la cicatrización de la herida, la polarización de las células en el borde anterior del tejido dañado activa las vías relacionadas con la EMT para rellenar los huecos celulares mediante una combinación de migración y proliferación y la posterior transición mesénquima a epitelio (MET) repara (reepiteliza) la zona dañada. Aunque ambos receptores participan en las respuestas inflamatorias y antiinfecciosas, el TNFR2 es fundamental para la EMT y la proliferación celular (Gough y Myles, 2020).

Finalmente, la vía desencadenada por el TNF es autolimitada porque el NFκB también potencia la expresión de NFKBIA (IκB), que inicia un bucle de retroalimentación negativa que atenúa la señal del TNF. Entre los genes de retroalimentación negativa, también encontramos el TNFAIP3 (antes A20), una enzima editora de ubiquitina particularmente productiva en la ruptura de las cadenas de ubiquitina K63, SOCS3, TRAF1, BCL3 y CFLAR (FLIP), regulador de la apoptosis que inhibe el ensamblaje del complejo de la caspasa-8 y la FADD; una mayor expresión de CFLAR evita que los complejos de señalización formados accidentalmente entre TNFRSF1A/TRADD/RIPK1/FADD conduzcan a la agrupación y activación de las caspasas iniciadoras y, por tanto, de la apoptosis. Todos estos genes aseguran el retorno a la expresión basal de las moléculas de adhesión del lecho vascular y, por tanto, la resolución de la respuesta inflamatoria (Kramer, 2016a).

Preguntas de integración

1. ¿Qué se une a los residuos de tirosina fosforilados?
 - a) Ras
 - b) Proteínas G
 - c) Ligandos
 - d) Proteínas de señalización intracelular

2. ¿Qué molécula añaden los receptores tirosina cinasas a los residuos de tirosina?
 - a) Fosfato
 - b) GTP
 - c) GDP
 - d) Ras

3. ¿Cuál de las siguientes opciones describe mejor el mecanismo por el que los dominios citosólicos de los RTK activan las cascadas de señalización posteriores?
 - a) La unión del ligando al dominio extracelular del RTK permite que este interactúe con otros receptores en otras células, desencadenando cascadas de señalización bidireccionales.
 - b) La unión del ligando al dominio RTK extracelular facilita la fosforilación del dominio intracelular del RTK por la proteína cinasa A, lo que es necesario para que se activen todas las cascadas de señalización posteriores.
 - c) La unión del ligando al dominio RTK extracelular desencadena una afluencia de calcio a través de los canales de calcio, activando los segundos mensajeros dentro de la célula.
 - d) La unión del ligando al dominio RTK extracelular estimula la dimerización de las RTK, y los dominios citosólicos se fosforilan mutuamente para activar los dominios cinasa.
 - e) La unión del ligando al dominio RTK extracelular desencadena la escisión de los dominios intracelulares, que actúan entonces como segundos mensajeros solubles para activar las proteínas cinasas.

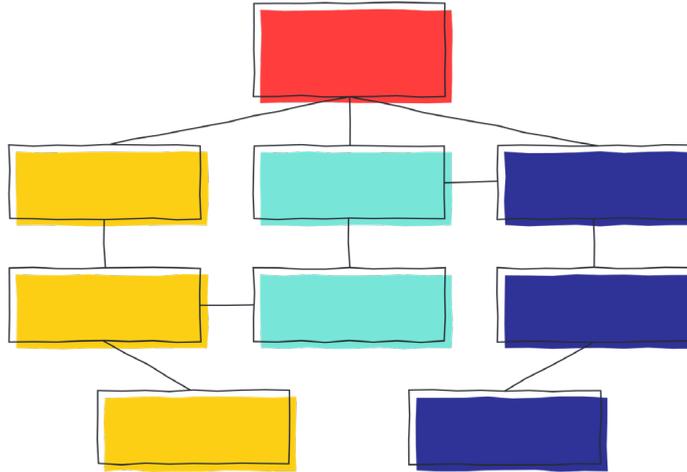
4. En los receptores de citocinas, ¿cómo se encuentra la tirosina cinasa?
 - a) Es una parte intrínseca de la cadena polipeptídica del receptor.
 - b) El receptor y la cinasa JAK son polipéptidos separados.
 - c) El receptor y la cinasa dependen de la unión mediante una proteína G.
 - d) El receptor y la cinasa están asociados directamente a los STAT.

5. Realiza una tabla, como la que se muestra a continuación, sobre los principales complejos de receptores de citocinas de clase I:

Tabla comparativa de receptores de citocinas de clase I

Tipo de heterorreceptor	Vía de activación	Moléculas estimuladoras	Funciones

6. Realiza un mapa conceptual, como el que se muestra a continuación, sobre los principales receptores de citocinas de clase II.



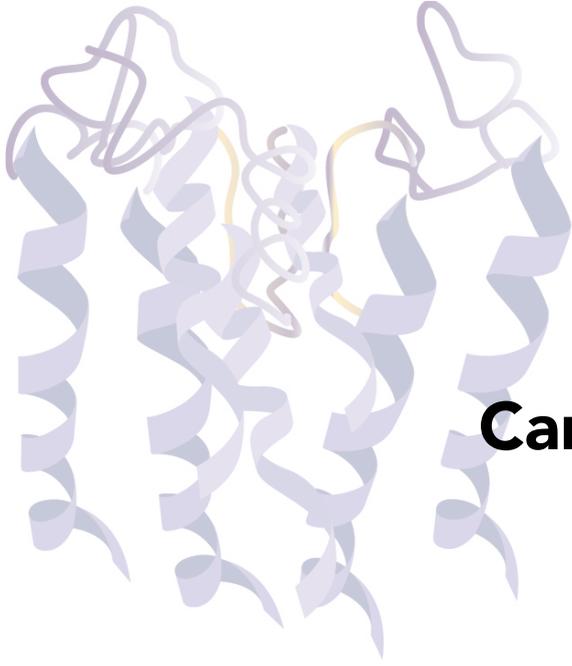
Referencias

- Alberts, B. (2015). *Molecular biology of the cell* (6th ed.). Garland Publishing.
- Anaya, J.-M. (2013). *Autoimmunity: From bench to bedside*. Universidad del Rosario.
- Becher, B., Tugues, S., & Greter, M. (2016). GM-CSF: From Growth Factor to Central Mediator of Tissue Inflammation. *Immunity*, 45(5), 963-973. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.10.026>.
- Brooks, A. J., Dehkhoda, F., & Kragelund, B. B. (2018). Cytokine Receptors. In A. Belfiore & D. LeRoith (Eds.), *Principles of Endocrinology and Hormone Action* (pp. 157-185). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-44675-2_8.
- Chen, Y.-G. (2009). Endocytic regulation of TGF- β signaling. *Cell Research*, 19(1), 58-70. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.315>.
- Critchley, W., Pellet-Many, C., Ringham-Terry, B., Harrison, M., Zachary, I., & Ponnambalam, S. (2018). Receptor Tyrosine Kinase Ubiquitination and De-Ubiquitination in Signal Transduction and Receptor Trafficking. *Cells*, 7(3), 22. <https://doi.org/10.3390/cells7030022>.

- Cron, L., Allen, T., & Febbraio, M. A. (2016). The role of gp130 receptor cytokines in the regulation of metabolic homeostasis. *Journal of Experimental Biology*, 219(2), 259-265. <https://doi.org/10.1242/jeb.129213>.
- Dore, J. J. E., Yao, D., Edens, M., Garamszegi, N., Sholl, E. L., & Leof, E. B. (2001). Mechanisms of Transforming Growth Factor- β Receptor Endocytosis and Intracellular Sorting Differ between Fibroblasts and Epithelial Cells. *Molecular Biology of the Cell*, 12(10).
- Dougan, M., Dranoff, G., & Dougan, S. K. (2019). GM-CSF, IL-3, and IL-5 Family of Cytokines: Regulators of Inflammation. *Immunity*, 50(4), 796-811. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.022>.
- Dussurget, O., Bierne, H., & Cossart, P. (2014). The bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* and the interferon family: Type I, type II and type III interferons. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00050>.
- Dwyer, C. J., Knochelmann, H. M., Smith, A. S., Wyatt, M. M., Rangel Rivera, G. O., Arhontoulis, D. C., Bartee, E., Li, Z., Rubinstein, M. P., & Paulos, C. M. (2019). Fueling Cancer Immunotherapy with Common Gamma Chain Cytokines. *Frontiers in Immunology*, 10, 263. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00263>.
- Goh, L. K., & Sorkin, A. (2013). Endocytosis of receptor tyrosine kinases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(5), a017459. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a017459>.
- Gough, P., & Myles, I. A. (2020). Tumor Necrosis Factor Receptors: Pleiotropic Signaling Complexes and Their Differential Effects. *Frontiers in Immunology*, 11, 585880. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.585880>.
- Hedger, G., Sansom, M. S. P., & Koldso, H. (2015). The juxtamembrane regions of human receptor tyrosine kinases exhibit conserved interaction sites with anionic lipids. *Scientific Reports*, 5(1), 9198. <https://doi.org/10.1038/srep09198>.
- Hercus, T. R., Kan, W. L. T., Broughton, S. E., Tvorogov, D., Ramshaw, H. S., Sandow, J. J., Nero, T. L., Dhagat, U., Thompson, E. J., Shing, K. S. C. T., McKenzie, D. R., Wilson, N. J., Owczarek, C. M., Vairo, G., Nash, A. D., Tergaonkar, V., Hughes, T., Ekert, P. G., Samuel, M. S., & Lopez, A. F. (2018). Role of the β Common (β c) Family of Cytokines in Health and Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(6), a028514. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028514>.
- Holbrook, J., Lara-Reyna, S., Jarosz-Griffiths, H., & McDermott, M. F. (2019). Tumour necrosis factor signalling in health and disease. *F1000 Research*, 8, 111. <https://doi.org/10.12688/f1000research.17023.1>.

- Kazi, J. U., Kabir, N. N., Flores-Morales, A., & Rönstrand, L. (2014). SOCS proteins in regulation of receptor tyrosine kinase signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 71(17), 3297-3310. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1619-y>.
- Kramer, Ij. M. (2016a). Chemokines and Traffic of White Blood Cells. In *Signal Transduction* (pp. 777-812). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394803-8.00014-0>.
- Kramer, Ij. M. (2016b). TGF β and Signaling through Receptor Serine/Threonine Protein Kinases. In *Signal Transduction* (pp. 887-933). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394803-8.00017-6>.
- Kreitman, M., Noronha, A., & Yarden, Y. (2018). Irreversible modifications of receptor tyrosine kinases. *FEBS Letters*, 592(13), 2199-2212. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13095>.
- Leonard, W. J., Lin, J.-X., & O'Shea, J. J. (2019). The gc Family of Cytokines: Basic Biology to Therapeutic Ramifications. *Immunity*, 50(4), 832-850. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.028>.
- Lodish, H., Berk, A., C. A. Kaiser, Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., Amon, A., Martin, K., & Scott, M. P. (2016). *Molecular Cell Biology* (8th ed.).
- Lu, T., Tian, L., Han, Y., Vogelbaum, M., & Stark, G. R. (2007). Dose-dependent cross-talk between the transforming growth factor- and interleukin-1 signaling pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(11), 4365-4370. <https://doi.org/10.1073/pnas.0700118104>.
- Migliaccio, A., Castoria, G., Di Domenico, M., de Falco, A., Bilancio, A., Lombardi, M., Bottero, D., Varricchio, L., Nanayakkara, M., Rotondi, A., & Auricchio, F. (2002). Sex steroid hormones act as growth factors. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 83(1-5), 31-35. [https://doi.org/10.1016/S0960-0760\(02\)00264-9](https://doi.org/10.1016/S0960-0760(02)00264-9).
- Ouyang, W., & O'Garra, A. (2019). IL-10 Family Cytokines IL-10 and IL-22: From Basic Science to Clinical Translation. *Immunity*, 50(4), 871-891. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.020>.
- Renauld, J.-C. (2003). Class II cytokine receptors and their ligands: Key antiviral and inflammatory modulators. *Nature Reviews. Immunology*, 3(8), 667-676. <https://doi.org/10.1038/nri1153>.
- Secombes, C. J., & Zou, J. (2017). Evolution of Interferons and Interferon Receptors. *Frontiers in Immunology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00209>.

- Shearer, W. (2003). Biology of common β receptor–signaling cytokines IL-3, IL-5, and GM-CSF. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 112(4), 653-665. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2003.08.015>.
- Stone, W. L., Leavitt, L., & Varacallo, M. (2021). Physiology, Growth Factor. In StatPearls. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK442024/>.
- Vander Ark, A., Cao, J., & Li, X. (2018). TGF- β receptors: In and beyond TGF- β signaling. *Cellular Signalling*, 52, 112-120. <https://doi.org/10.1016/j.celsig.2018.09.002>.
- Wajant, H., & Siegmund, D. (2019). TNFR1 and TNFR2 in the Control of the Life and Death Balance of Macrophages. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7, 91. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00091>.
- Wang, X., Lupardus, P., LaPorte, S. L., & Garcia, K. C. (2009). Structural Biology of Shared Cytokine Receptors. *Annual Review of Immunology*, 27(1), 29-60. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.24.021605.090616>.
- Waters, M. J., & Brooks, A. J. (2015). JAK2 activation by growth hormone and other cytokines. *The Biochemical Journal*, 466(1), 1-11. <https://doi.org/10.1042/BJ20141293>.
- Wheeler, D. L., & Yarden, Y. (Eds.). (2015a). Receptor Tyrosine Kinases: Family and Subfamilies. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-11888-8>.
- Wheeler, D. L., & Yarden, Y. (Eds.). (2015b). Receptor Tyrosine Kinases: Structure, Functions and Role in Human Disease. Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2053-2>.
- Yang, S., Wang, J., Brand, D. D., & Zheng, S. G. (2018). Role of TNF–TNF Receptor 2 Signal in Regulatory T Cells and Its Therapeutic Implications. *Frontiers in Immunology*, 9, 784. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00784>.
- Yoshimura, A., Ito, M., Chikuma, S., Akanuma, T., & Nakatsukasa, H. (2018). Negative Regulation of Cytokine Signaling in Immunity. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(7), a028571. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028571>.
- Zhan, Y., Lew, A. M., & Chopin, M. (2019). The Pleiotropic Effects of the GM-CSF Rheostat on Myeloid Cell Differentiation and Function: More Than a Numbers Game. *Frontiers in Immunology*, 10, 2679. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02679>.
- Zhang, Y. E. (2017). Non-Smad Signaling Pathways of the TGF- β Family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9(2), a022129. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022129>.



Capítulo 5

Canales iónicos

Adriana Robles Cabrera

Contenido temático

- Objetivos
 - > Objetivo general
 - > Objetivos particulares
- Introducción
- Tipos de canales iónicos
 - > Canales regulados por ligandos
 - > Canales regulados por voltaje o voltaje-dependientes
 - > Otros tipos de canales iónicos
- Distribución de los canales iónicos
- Vías de señalización relacionadas a los canales iónicos
- Preguntas de integración
- Referencias

Objetivos

Objetivo general

Describir de manera general las características de los canales iónicos (estructura, tipos y localización) y enumerar las vías de señalización intracelular implicadas en su actividad.

Objetivos particulares

- Definir los canales iónicos.
- Describir las características estructurales, su clasificación y su distribución en las membranas celulares.

- Precisar las vías de señalización relacionadas a la actividad de los distintos tipos de canales iónicos.

Introducción

Las concentraciones iónicas a ambos lados de la membrana plasmática son muy diferentes en los compartimientos intra y extracelular. Esta diferencia fundamental permite que las células mantengan un potencial de membrana en reposo y, en caso de los tejidos excitables, un potencial de acción como mecanismos de comunicación y actividad intercelular. Para mantener ambos potenciales, las membranas celulares expresan una gran cantidad de proteínas que se activan con la finalidad de mantener (canales de fuga de K^+) o cambiar el potencial de membrana (canales de Na^+ , Figura 5.1), permitiendo el flujo de iones específicos a través de la bicapa lipídica. Estas proteínas son integrales de la membrana y se conocen como **canales iónicos** (Sansom, 1991).

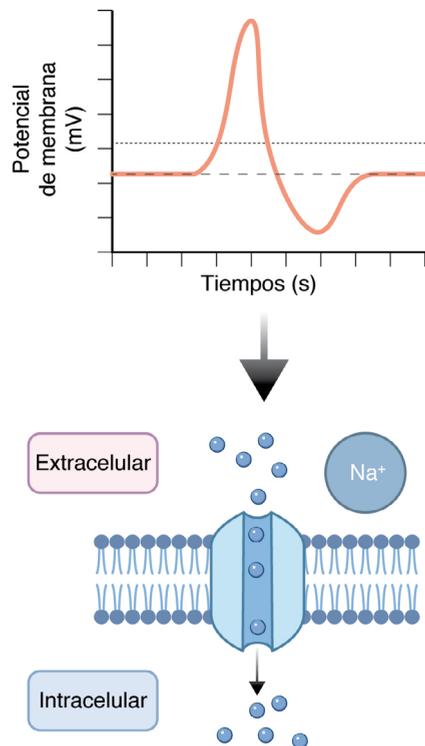


Figura 5.1 Potencial de acción y apertura de los canales de Na^+ voltaje-dependientes. Estos canales son proteínas transmembranales que permiten el paso de iones a través de la membrana nuclear.

El preámbulo del descubrimiento de los canales iónicos se remonta a Matteucci y Du Bois-Reymond, quienes describieron la presencia de un flujo de corriente en las membranas de tejido nervioso (Matteucci, 1840) y que esta corriente negativa tendía a cambiar con la presencia de un estímulo eléctrico sobre el músculo o nervio (Du Bois-Reymond, 1843) a una velocidad aproximada de 30 m/s (Von Helmholtz, 1850).

Si bien se conocía la existencia de cambios en el potencial de membrana en reposo de las células nerviosas y musculares, se desconocían las características de estos cambios de potencial. Fue hasta 1871, cuando Julius Bernstein describe las características del potencial de acción como a) un transiente, b) que ante estímulos subumbrales los cambios en el potencial de membrana son mínimos, pero ante estímulos umbrales se presenta un potencial de acción y, finalmente, que c) la velocidad de su propagación es de 28.7 m/s. Para poder realizar esta descripción, Bernstein diseñó un reotomo diferencial que permitía mantener un estímulo eléctrico y registrar los cambios en el potencial membranar. Gracias a estas observaciones, en 1902, Bernstein publica su *Teoría de Membrana* (Bernstein, 1902), en la cual aplica las ecuaciones de Nernst para predecir los potenciales eléctricos de la membrana en función de los gradientes de concentraciones iónicas y aplica los conceptos de Wilhelm Ostwald sobre los cambios en la permeabilidad selectiva de la membrana al flujo iónico (Seyfarth, 2006).

Estos descubrimientos sentaron las bases de la neurofisiología y permitieron que, en 1952, Alan Lloyd Hodgkin y Andrew Fielding Huxley describieran durante el potencial de acción de las fibras nerviosas de los calamares, la presencia de un cambio en las corrientes de los iones Na^+ (entrada) y K^+ (salida) a ambos lados de la membrana celular (Hodgkin y Huxley, 1952) y propusieran un modelo de potencial de acción añadiendo los cambios en las conductancias iónicas (Figura 5.2).

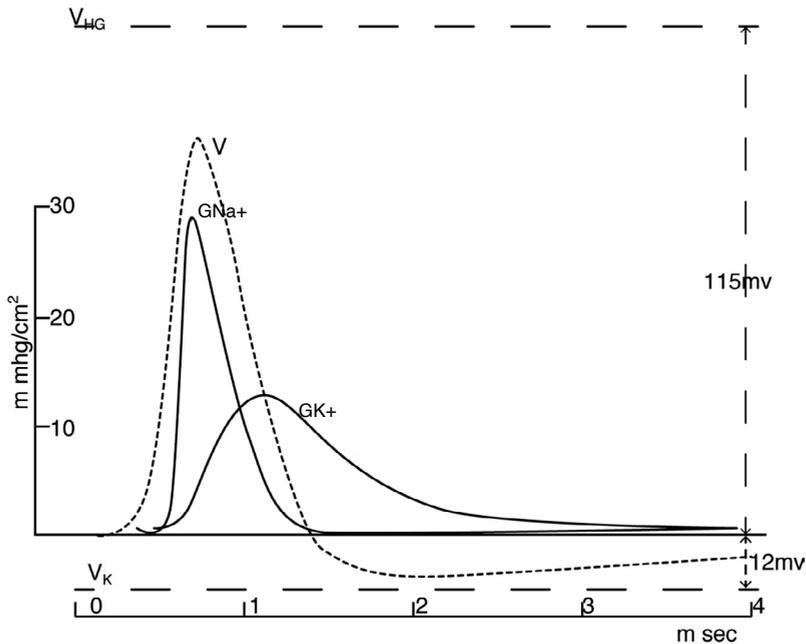


Figura 5.2 Se esquematiza el potencial de acción de una célula nerviosa de calamar (V). Se muestran, además, los cambios en la conductancia iónica para el Na^+ (g_{Na^+}) y K^+ (g_{K^+}) sobrepuestos en el registro típico del potencial de acción. Tomado de (Hodgkin y Huxley, 1952).

Con estos hallazgos, se comenzó a hipotetizar que debían existir algunos "poros" o canales en la membrana celular que permitieran el flujo iónico con alta selectividad y cambiando la permeabilidad de la membrana en respuesta a un estímulo eléctrico.

Más de cinco décadas de investigación fueron dedicadas a describir la presencia, actividad y estructura de estos canales iónicos, cuya trascendencia científica ha sido determinante, no solo para el conocimiento de la fisiología celular y molecular, sino también como blancos terapéuticos ante distintos tipos de enfermedades.

En 2003, Roderick Mackinnon obtiene el Premio Nobel de Química por sus descubrimientos sobre la estructura y funcionamiento de los canales iónicos (Gouaux y MacKinnon, 2005; MacKinnon, 1991) (particularmente el canal de K^+ ; Figura 5.3); este premio lo comparte con Peter Agre, quien, por su parte, hizo aportaciones en el campo de las acuaporinas, aunque todavía existen muchas preguntas que faltan por dilucidar.

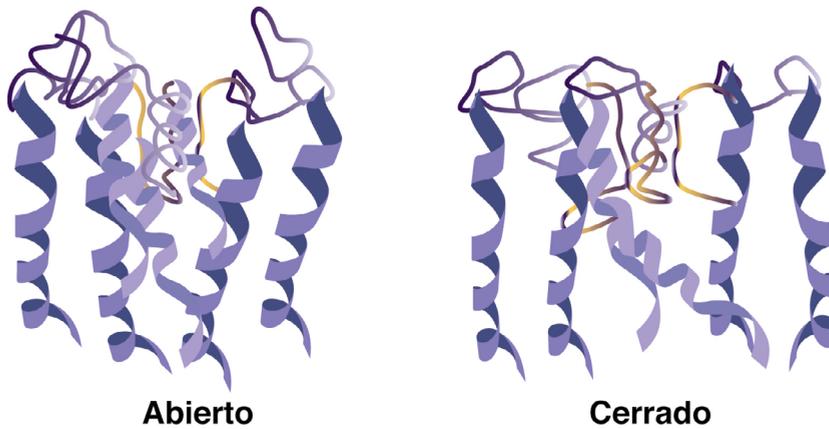


Figura 5.3. Estructura tridimensional de un canal de K⁺ en modo abierto (izquierdo) y cerrado (derecho). Modificado de MacKinnon, 2003.

La viabilidad de una célula depende del flujo iónico constante a ambos lados de la membrana. Así que la actividad de los canales iónicos no se limita a generar potenciales de acción o mantener el potencial de membrana en reposo, sino que intervienen en una gran cantidad de funciones como son la contracción muscular, del músculo estriado (Jurkat-Rott *et al.*, 2006), liso (Kraichely y Farrugia, 2007) y cardíaco (Klabunde, 2017), la transmisión sináptica, cambios cognitivos y conductuales, sueño y vigilia (Nemecz *et al.*, 2016), entre otros. Estas funciones se llevan a cabo gracias a las vías de señalización intracelular que se acoplan a la actividad de los canales iónicos.

Como se ha comentado a lo largo del libro, el proceso de señalización se inicia cuando una molécula señalizadora o cambio en el voltaje de membrana permite la activación de un receptor o canal iónico, estimulando la liberación de mensajeros químicos intracelulares que inician las cascadas de señalización con efectos múltiples, debido a la existencia de un entrecruzamiento entre las vías, como cambios en el metabolismo celular, expresión de receptores y canales, producción de citocinas, estrés celular, producción de especies reactivas de oxígeno, autofagia, entre otros.

Tipos de canales iónicos

Para comenzar a adentrarnos en el mundo de los canales iónicos necesitamos conocer las nomenclaturas y clasificaciones que existen actualmente. Aun cuando la nomenclatura de los canales es inespecífica, la selectividad a un solo ion resulta primordial para designar los tipos de canales iónicos.

Los más conocidos son los canales selectivos al paso de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} o Cl^- . Aunque nombrar un canal en función de la permeabilidad parece simple, esto se vuelve una labor compleja cuando se involucran diferentes iones o acarrean, y responden, a otras sustancias. Además, en la nomenclatura también se ha considerado el tipo de tejido en que abundan o el orden en que se descubrieron. La Unión Internacional de Farmacología Básica y Clínica (IUPHAR, por sus siglas en inglés) es un organismo que se ha encargado de generar un repositorio de los datos existentes en cuanto a la categorización y características de receptores celulares (incluidos canales iónicos) y fármacos (Alexander *et al.*, 2019), la clasificación de IUPHAR fue utilizada para la estructura de este capítulo.

Para simplificar los tipos de canales iónicos existentes, se han descrito "familias" que comparten similitudes funcionales y estructurales, y las principales son las siguientes.

Canales regulados por ligandos

Como el resto de los canales iónicos, los canales regulados por ligandos son proteínas integrales de membrana que contiene un poro que permite el flujo selectivo y regulado de iones específicos a través de la membrana plasmática. Este flujo es pasivo y depende de un gradiente iónico electroquímico. Estos canales cambian de estado (abierto o cerrado) como respuesta a la unión de una molécula o ligando (por ejemplo, un neurotransmisor) al sitio alostérico (sitio de unión distante al cambio de conformación de la proteína) (Zhang *et al.*, 2019), con lo que se induce un cambio conformacional y funcional en el canal. La mayoría de estos canales son heterodímeros (aunque también hay algunos homodímeros) y cuentan con proteínas accesorias asociadas a múltiples respuestas intracelulares (Collingridge *et al.*, 2009).

Se han agrupado a los canales iónicos regulados por ligandos en superfamilias con características generales:

1. Receptores tipo cys-loop (5-HT₃, nicotínicos, receptores de GABA, de glicina y activados por zinc).
2. Receptores de la familia P2X.
3. Familia de los receptores ionotrópicos de glutamato (AMPA, NMDA, Kainato y "huérfanos").
4. Superfamilia de canales de Na^+ (ASIC, ENaC, FaNaC, BASIC, entre otros).

Sin embargo, para poder describir algunas cualidades o diferencias entre los canales más estudiados, abordaremos brevemente las propiedades de las subfamilias que se enumeran a continuación:

- I. Receptores 5-HT₃: Son un subtipo de los receptores de serotonina y están conformados por cinco subunidades dispuestas de manera simétrica alrededor del poro que permite el flujo iónico. La porción transmembranal es la responsable de la selectividad iónica, la rectificación del canal y la conductancia, mientras que la extramembranal tiene el sitio de unión de ligando (Thompson y Lummis, 2006).
- II. ASIC (acid-sensing ion channels, canales iónicos sensibles a la concentración de protones): Forman parte de la superfamilia de canales de Na⁺ (junto con ENaC), aunque también algunos subtipos permiten la entrada de Ca²⁺ (como ASIC1). Su estructura puede estar conformada por homo o heterotrímeros. El poro iónico es activado por la unión de H⁺, y una característica importante es que son insensibles a los cambios de voltaje de la membrana celular. Estos canales son base fundamental en la fisiología del dolor y los sentidos químicos (Deval y Lingueglia, 2015).
- III. ENaC (epithelial sodium channel, canales de sodio epiteliales): Este tipo de canal iónico tiene una amplia distribución, localizándose en la membrana celular de una gran variedad de células epiteliales (como en el colon, endotelio vascular, placenta, túbulo renales, tracto respiratorio, tracto reproductivo, glándulas salivales y sudoríparas, entre otros) (Hanukoglu y Hanukoglu, 2016). Estos canales permiten el transporte de iones de Na⁺ por difusión facilitada, permitiendo el paso desde el espacio extracelular hasta el citoplasma. Los ENaC tienen un papel predominante en la regulación del volumen extracelular y, por tanto, se ha descrito que afectan directamente la presión arterial. Destaca que su expresión está regulada por el sistema renina-angiotensina-aldosterona y otras moléculas relacionadas con la homeostasis electrolítica (Rossier *et al.*, 2015).
- IV. Receptores GABA_A: Es un receptor de amplia distribución dentro del sistema nervioso central (SNC), cuya acción es principalmente inhibitoria, mediada por tres mecanismos principales: transmisión sináptica rápida, inhibición tónica sostenida y algunos eventos "lentos" de propagación intermedia (Capogna y Pearce, 2011). Este receptor es de tipo pentamérico y contiene un canal aniónico selectivo (permeable al paso de los iones Cl⁻). Actualmente se conocen 11 tipos de canales GABA_A (Belelli *et al.*, 2019). De los receptores gabaérgicos, solamente el de tipo A es ionotrópico, el resto es metabotrópico.
- V. Receptores de glicina: El receptor de glicina es de tipo inhibitorio y permeable a iones Cl⁻, al igual que GABA_A, y resulta ser un mediador importante en la inhibición sináptica rápida a nivel de la médula espinal y el tronco encefálico, juega un papel fundamental en diversas vías de señalización de procesos cerebrales como la visión, audición y el dolor (Breitinger y Breitinger, 2020).

- VI. Receptores de IP_3 : Los receptores del inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3) son receptores que permiten la liberación de Ca^{2+} de los depósitos intracelulares, como el retículo endoplásmico; estos transientes de Ca^{2+} se ven involucrados en una amplia variedad de funciones en múltiples linajes celulares (Alexander *et al.*, 2019).
- VII. Receptores nicotínicos de acetilcolina: Son pentámeros, al igual que el resto de la familia Cys-loop. Tiene un sitio ortostérico que se encuentra conformado por residuos dentro de al menos tres dominios peptídicos de la subunidad alfa, además, estos receptores tienen varios sitios alostéricos moduladores (Gotti *et al.*, 2019). Los agonistas de estos receptores evocan respuestas excitatorias rápidas (activación en el orden de milisegundos). Estos receptores se asocian principalmente a contractilidad muscular; sin embargo, se ha encontrado un papel importante en la protección contra excitotoxicidad mediada por glutamato en el SNC (Akaike e Izumi, 2018).
- VIII. Receptores P2X: También conocidos como *purinorreceptores*, es una familia de receptores activados por la concentración extracelular de adenosina 5' trifosfato (ATP). Estos canales son permeables a distintos iones, los más importantes son Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , y en ocasiones a Cl^- .
- IX. Canales activados por zinc (ZAC): La mayoría de los canales conocidos, hasta el momento, son homopentámeros, conteniendo un canal iónico equipermisible a Na^+ , K^+ y Cs^+ , pero impermeable a Ca^{2+} y Mg^{2+} . Aunque en su nombre se establece que se activa por zinc, múltiples estudios han demostrado que este canal tiene mayor activación a otros compuestos, como las altas concentraciones de protones y la presencia de cobre (Davies *et al.*, 2019; Trattinig *et al.*, 2016).

Canales regulados por voltaje o voltaje-dependientes

El potencial de membrana de las células excitables tiene la capacidad de modificarse en función de diversos estímulos; estos cambios en el voltaje de la membrana, al alcanzar el umbral, cambian la permeabilidad de la membrana gracias a la apertura de canales iónicos que son sensibles a estos cambios de voltaje, por lo que se designan como voltaje-dependientes. De este tipo de canales, los más estudiados y conocidos son el de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Cl^- , por su papel en la fisiología neuronal y cardíaco (Catterall, 1993) y suelen designarse en subtipos de acuerdo con su sensibilidad ante compuestos agónicos y antagonicos (De Lera Ruiz y Kraus, 2015). Estos canales tienen dos propiedades fundamentales: permeabilidad y función de compuerta (Armstrong y Hille, 1998).

La estructura básica de los canales es similar entre ellos. Se conforman por cuatro dominios transmembrana homólogos, con seis hélices alfa transmembrana que rodean el poro central y poseen algunas regiones que los diferencian fundamentalmente:

- I. Sensor de voltaje: Se encuentra en el segmento S4, y responde a cambios en el potencial de membrana con la translocación acoplada a la permeabilidad iónica en el dominio del poro central y que se caracteriza por tener cargas positivas y residuos de arginina y lisina (Groome y Bayless-Edwards, 2020). Este sensor permite que los canales de Na^+ , K^+ y Ca^{2+} se activen con la despolarización membranal y el de Cl^- con la repolarización.
- II. Poro o conducto por el cual transcurre el flujo de iones: Este conducto se encarga de brindar selectividad al canal de una manera altamente eficiente; por ejemplo, el canal de Na^+ es 12 veces más selectivo para el Na^+ que, para otro ion, el de Ca^{2+} lo es mil veces (Catterall, 1993) y el de K^+ lo es 10 mil veces más (Doyle, 1998), aunque esto cambia con los distintos subtipos de canales, y algunos son selectivos para más de un ion.
- III. Compuerta que se abre y cierra para permitir este flujo: Esta puede ocurrir de tres maneras:
 - i. Cambios conformacionales en el entrecruzamiento de las hélices internas.
 - ii. Inactivación tipo C y filtro de selectividad, en el cual las hélices internas se encuentran abiertas, pero existe un filtro que colapsa la entrada e impide el flujo de iones.
 - iii. Inactivación tipo N o también conocido como "bola y cadena", que consiste en la unión de un péptido autoinhibitoria a las hélices para bloquear físicamente la entrada a la cavidad (Kim y Nimigean, 2016).

Los canales iónicos voltaje-dependientes han sido prioritarios en describir la excitabilidad de los tejidos y las señales de transducción eléctrica.

Otros tipos de canales iónicos

- I. Acuaporinas: Se conocen alrededor de 13 tipos distintos. Son canales que permiten el paso de agua y, por ello, se encuentran distribuidos ampliamente en muchos tipos de tejidos. Su función primordial es facilitar el paso de agua a través de las membranas celulares, algunas incluso transportan glicerol y agua y son conocidas como *acuagliceroporinas* (Verkman, 2012).
- II. Conexinas y panexinas: Son un tipo de canales proteicos que forman parte de la familia de las uniones comunicantes (o *gap junctions*), y permiten un acoplamiento iónico y metabólico entre células contiguas, funcionando como una vía de señalización parácrina (Scemes *et al.*, 2007), en el cual se intercambian segundos mensajeros (AMPC, ATP, IP_3), nutrientes, iones y otras moléculas pequeñas (como siARN) entre las células que se encuentran en contacto (Varela-Vázquez *et al.*, 2016).

- III. Piezo-canales: Este es un tipo muy específico de canal con una conformación diferente, son estructuras proteicas de tipo trimétrico y están conformados por más de 14 dominios transmembrana sin homología con otros canales. Su apertura se genera en respuesta a un estímulo mecánico que modifique la pared, como estiramiento de la membrana, lo que permite que los cationes ingresen a la célula. Los tipos 1 y 2 son las dos isoformas más abundantes en vertebrados. Su principal función se encuentra en la transducción sensorial (Alexander *et al.*, 2019).
- IV. Canal de fuga de sodio no selectivo: Pertenece a la familia de canales de Na^+ pero es insensible a los cambios de voltaje y resistente a los efectos de la tetrodotoxina (Alexander *et al.*, 2019).
- V. Canales operados por almacén (SOC, store-operated channels): Son proteínas formadoras de poros que subyacen a los canales de calcio activados por liberación de Ca^{2+} (CRAC). Cuando las concentraciones de Ca^{2+} dentro del retículo endoplásmico disminuyen, dos proteínas conocidas como *Orai* y *STIM* (stromal interaction molecule) forman un complejo para desencadenar la entrada de Ca^{2+} (Alexander *et al.*, 2019).

Distribución de los canales iónicos

Si bien los canales iónicos son de vital importancia en los tejidos excitables como el nervioso y muscular (cardíaco, liso y estriado), su localización no se remite solamente a estos tipos celulares. Daremos un breve repaso sobre la distribución tisular de algunos receptores antes mencionados.

5-HT₃: Se localizan en el sistema nervioso tanto central como periférico. Dentro del SNC se ha descrito su presencia en la corteza, el hipocampo, el núcleo accumbens, la sustancia negra, el área tegmental ventral, en el tronco del encéfalo y, de manera muy abundante, en el área postrema y el núcleo del tracto solitario (Thompson y Lummis, 2006) relacionándose con reflejo de vómito y control respiratorio.

ASIC: Son primordialmente expresados en neuronas asociadas a transmisión sensorial a lo largo del sistema nervioso, de tal manera que se ha descrito su expresión en nociceptores, en células receptoras del gusto, fotorreceptores de la retina y en las células ciliadas de la cóclea; también se encuentran en el testículo, en la glándula pituitaria, en las células del epitelio pulmonar, en el urotelio, células adiposas, del músculo liso vascular, del sistema inmune y el hueso (Deval y Lingueglia, 2015) con funciones menos descritas actualmente.

GABA_A: El ácido gamma-aminobutírico (GABA) es el neurotransmisor inhibitorio más ampliamente distribuido en el SNC, reduce los límites de la excitabilidad neuronal en todas las áreas del cerebro. GABA tiene múltiples

receptores, pero solamente uno es ionotrópico (asociado a canales iónicos) y se conoce como GABA_A, y es el receptor gabaérgico predominante en el SNC (Nutt, 2006). Se encuentra una gran densidad de este receptor en el bulbo olfatorio, el núcleo olfatorio anterior, la comisura intrabulbar anterior, los ganglios basales (caudado, accumbens, globo pálido), cuerpo caloso, giro dentado, hipocampo, tálamo, núcleo amigdalino lateral, habénula medial y lateral, colículo superior, núcleo interpeduncular, cerebelo (capas granular, molecular y sustancia blanca), tracto piramidal, tracto espinal trigeminal, corteza frontal, corteza motora, corteza somatosensorial, corteza auditiva temporal (Bowery *et al.*, 1987) y prácticamente en todas las regiones del SNC.

Receptores de glicina: Aun cuando GABA es el mayor neurotransmisor inhibitorio en el SNC; en la médula espinal y el tronco del encéfalo, la glicina resulta ser el más importante, induciendo una corriente hiperpolarizante de Cl⁻. La mayor densidad de estos receptores se ha encontrado en distintos segmentos de la médula espinal y de los núcleos del tronco del encéfalo, como el coclear dorsal y ventral, el núcleo motor del trigémino, las formaciones reticular y vestibular; y con menor densidad en los colículos, el hipotálamo y los núcleos profundos del cerebelo, y algunas regiones de la corteza cerebral y la formación hipocampal (Béchade *et al.*, 1994).

Receptores de IP₃: El inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃) es un segundo mensajero que se produce a partir de los lípidos de la membrana celular. El receptor tipo 1 de IP₃ es el subtipo más predominante y abunda en el cerebro, principalmente en las células de Purkinje y la capa molecular del cerebelo, en el tubérculo olfatorio, la corteza cerebral, la región CA1 del hipocampo, el caudado y putamen y en los plexos coroideos. Dentro de su distribución en tejidos extraneuronales se ha encontrado la presencia del receptor tipo 1 en el músculo liso vascular, en las plaquetas, y el tipo 2 y 3 del receptor se distribuye en el hígado, el páncreas, el pulmón, testículos, el bazo, intestino y los riñones (Yoshida e Imai, 1997).

Receptores nicotínicos de ACh: Existen dos tipos de receptores de acetilcolina (ACh), los muscarínicos y los nicotínicos, solo estos últimos son de tipo ionotrópico y es uno de los tipos de receptor más abundantes en los tejidos de los seres humanos. Existen receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR) en el asta posterior de la médula espinal, sobre todo en la capa superficial, pero también se encuentra distribución en las regiones ventral y central medular (Khan *et al.*, 2003). En estudios descriptivos sobre la localización de estos receptores modelos murinos, se ha encontrado su presencia en la corteza cerebral, y regiones subcorticales como el hipocampo, el caudado, el septum, hipotálamo, rafe, formación reticular, complejo olivar superior, núcleo coclear, colículo inferior, bulbo olfatorio, tubérculo olfatorio y cerebelo (Morley *et al.*, 1977).

PX2r: Este tipo de receptor se ha localizado en el músculo liso de diferentes órganos, promoviendo la entrada de cationes y generando despolarización y contracción de este. En el SNC, PX2r induce la liberación de neurotransmisores,

inicia cascadas de señalización asociadas al gusto, en quimiorreceptores. También se ha descrito que interviene en la homeostasis del urotelio y la actividad de las células del sistema inmunológico, iniciando la liberación de citocinas proinflamatorias (North, 2016).

Canales iónicos voltaje-dependientes: Dado que los canales iónicos voltaje-dependientes son vitales para la excitabilidad de los tejidos, se encuentran distribuidos en múltiples tipos celulares, a saber, el SNC y periférico (se encuentran en el cuerpo celular, los procesos proximales, distales y nodos de Ranvier) (Wang *et al.*, 2017), el músculo liso, estriado y cardíaco (Koopmann *et al.*, 2006) y en la célula β -pancreática (Yang y Berggren, 2006). Además, se ha encontrado que estos canales se encuentran involucrados en los cambios bioeléctricos que intervienen en el ciclo celular y proliferación de los tejidos como el endotelio vascular, los macrófagos y linfocitos, el epitelio intestinal, los fibroblastos; incluso se han propuesto como una posible herramienta terapéutica contra el cáncer colorrectal, de mama y melanoma, entre otros (Blackiston *et al.*, 2009).

Acuaporinas: Debido a su función en la homeostasis de los líquidos corporales, tiene una distribución abundante en el riñón (Brown, 2017), tracto gastrointestinal particularmente en las células del epitelio gástrico, glándulas gástricas, en los enterocitos, en las células Goblet (o caliciformes) y células de Paneth (Zhu *et al.*, 2016). Dentro del SNC, la expresión de acuaporinas regula la fisiología de los astrocitos que rodean a las neuronas, controlando el volumen celular (Verkman *et al.*, 2017). En los plexos coroideos controlan la producción de LCR, en el nervio coclear, nervio vestibular y la retina. También mantienen la homeostasis hídrica en órganos como el pulmón (Venero *et al.*, 2001) y la epidermis (Verdier-Sévrain y Bonté, 2007).

Conexinas: Las comunicaciones en hendidura forman parte crucial del mantenimiento en los procesos de homeostasis, morfogénesis, diferenciación celular y control del crecimiento en muchos organismos. Múltiples tejidos expresan conexinas, pero en los que se ha encontrado una mayor participación son en el corazón (sistema de conducción), la piel, el SNC y SNP, la cóclea, los hepatocitos, el páncreas (célula β), el riñón, el intestino, la glándula mamaria, la placenta, glándulas secretoras acinares, endotelio vascular, ovario, pulmón, retina, glándulas sebáceas, en fibroblastos, entre muchos otros (Oyamada *et al.*, 2005).

Canales de fuga de Na^+ no selectivos: Se encuentran en muchos tipos neuronales dentro del SNC, y también se ha descrito en el corazón y en el páncreas (particularmente dentro de los islotes de Langerhans). Se propone que estos canales son el blanco de la acción de las proteínas G (Alexander *et al.*, 2019).

Vías de señalización relacionadas a los canales iónicos

La señalización intracelular se conforma por una serie de reacciones químicas en cadena, generado por un grupo de moléculas que se activan y trabajan en

conjunto en respuesta a un estímulo externo o ligando que se une a un receptor celular y, para el caso de este capítulo, activa un canal iónico desencadenando la vía de señalización asociada a las corrientes iónicas producidas.

Las vías de señalización asociadas a la activación de los canales iónicos son múltiples y dependientes del tipo del receptor o canal que se ha activado, por lo que serán abordadas en cuanto al tipo de canal iónico que mencionamos con anterioridad. Es oportuno mencionar que muchas vías se activan con el incremento de las concentraciones de Ca^{2+} intracelular, volviéndose un segundo mensajero importante; también debemos recordar que muchas vías se entrecruzan, de tal manera que un solo estímulo puede generar la activación de más de una cascada de señalización.

5-HT₃

Vía de señalización: Como el resto de los receptores de neurotransmisores, requiere de la unión de un ligando específico (en este caso serotonina, fenilbiguanida y quipazina como agonistas) que permite el cambio conformacional del canal y apertura del poro que, abriendo el paso a iones de Na^+ y K^+ predominantemente, aunque también el Ca^{2+} y otros cationes orgánicos ,pueden pasar por ellos (Thompson y Lummis, 2006).

La entrada de Na^+ y K^+ resulta en una despolarización rápida de la membrana celular seguida por una desensibilización inmediata. La despolarización induce la liberación consecutiva del neurotransmisor almacenado en la célula nerviosa estimulada (p. e. dopamina). Este resulta ser el mecanismo más abundante y conocido hasta el momento y el más simple. Sin embargo, otros estudios han encontrado que la entrada de K^+ y Na^+ a través de los receptores 5-HT₃ potencia la actividad de proteína cinasa C (PKC), fosfolipasa C (PLC) y ERK 1/2 (Darmani *et al.*, 2015), lo que resulta en una gran cantidad de actividades celulares metabólicas y proliferativas.

En cuanto a las vías asociadas a los transientes de Ca^{2+} , se conoce que, al ingresar desde el medio extracelular, se une a los receptores de rianodina que se encuentran en el retículo endoplásmico de las células, promoviendo la liberación de calcio (mecanismo donde el Ca^{2+} libera Ca^{2+}). Con este aumento en la concentración intracelular de Ca^{2+} se inicia el acoplamiento de la proteína calmodulina con el receptor de 5-HT₃, activando la cinasa dependiente de Ca^{2+} /calmodulina alfa (CaMKII α), e inicia la cascada de señalización mediada por las cinasas reguladas por señales extracelulares 1/2 o ERK 1/2 (Zhong *et al.*, 2014). Este mecanismo parece ser importante en el reflejo del vómito, pero también se ha involucrado en procesos de plasticidad sináptica, proliferación y diferenciación neuronal, supervivencia y muerte neuronal, así como en procesos de aprendizaje y memoria (Sun J. y Nan, 2017).

Funciones: La actividad de 5-HT₃ se ha asociado a funciones autonómicas, como el reflejo del vómito y sensoriales. Dentro del SNC, la actividad de

estos canales iónicos se ha asociado a procesos cognitivos y emocionales ya que existe una estrecha relación entre la activación de los canales 5-HT₃ y la liberación de dopamina, colecistocinina (CCK) y GABA (Thompson y Lummis, 2006). Además, este receptor permite transferir información a lo largo del tracto gastrointestinal y urogenital, regulando la motilidad y peristalsis intestinal a través de la actividad del sistema nervioso entérico. Este receptor parece trabajar de manera sinérgica en todos los tejidos con los otros receptores 5-HT, pero, en estos casos, la vía de señalización es metabotrópica mediada por proteínas G.

ASIC

Vía de señalización: Estos receptores tienen dos subunidades extramembranales con un asa rica en residuos de cisteína que permite la unión de H⁺ (y otras sustancias como 2-guanidina-4-metilquinazolina, ácido araquidónico y lisofosfatidilcolina); la unión de protones abre el canal y evoca una corriente de Na⁺ y Ca²⁺ (Kweon y Suh, 2013) que despolariza la membrana y permite la activación de canales de calcio voltaje-dependientes, aumentando la concentración de Ca²⁺ que se une a la cinasa de calmodulina II (CaMKII) y promueve la respuesta de otros receptores metabotrópicos (Wemmie *et al.*, 2013). ASIC también interactúa con PICK1, AKAP150 y PSD-95 que son proteínas importantes en los procesos de endocitosis (Bhattacharyya *et al.*, 2009) y expresión de otros receptores como AMPA y NMDA (Colledge *et al.*, 2000), se ha descubierto que la activación de NMDA conduce a la fosforilación de ASIC por medio de CaMKII aumentando su actividad (Boscardin *et al.*, 2016). Un elemento importante sobre la activación de ASIC y que aún no ha sido dilucidado es el pH de activación. Se ha estimado que para que estos canales sean activados, el pH debe encontrarse por debajo de 7.4, incluso algunos experimentos realizados en células aisladas encontraron que su máxima activación ocurre a un pH menor a 7.0. Una vez activados, existe un proceso de la desensibilización casi inmediato si las condiciones de pH ácido se mantienen, y estos receptores pueden tardar de segundos a minutos en recuperarse del estado inactivo; por tanto, en un pH ácido constante, los ASIC permanecerán desensibilizados y sin respuesta (Carattino y Montalbetti, 2020). Aún hay mucho por descubrir sobre las vías implicadas en la activación de este tipo de receptor.

Funciones: ASIC participa en procesos sensoriales incluyendo mecanotransducción, quimiocepción y nocicepción primordialmente; además, se ha encontrado involucrado en el comportamiento de miedo, atención y habilidades visuoespaciales.

ENaC

Vía de señalización: La expresión de ENaC está regulada a nivel transcripcional y postraduccional, por sustancias como la aldosterona, vasopresina,

angiotensina e insulina. El mecanismo de regulación ha sido mucho más estudiado que las vías de señalización activadas por ENaC; a la fecha se conoce que ENaC permite la reabsorción de Na^+ y consecuentemente de agua desde el lumen intestinal al intersticio y en los túbulos renales; lo que aumenta el volumen vascular y la presión arterial. Además, dentro de los vasos sanguíneos, se ha encontrado que ENaC se asocia estrechamente a los filamentos de actina (Mazzochi *et al.*, 2006) aumentando la rigidez de la pared vascular. Por otro lado, ENaC puede asociarse al factor de transcripción pCREB para activar COX2/ PGE2 y producir IL-6, IL-8 e TNF- α (Sun X. *et al.*, 2018) en momentos específicos de la vida, como en el parto.

Funciones: ENaC contribuye a la homeostasis de Na^+ a nivel renal y el balance iónico (de Na^+ y K^+ primordialmente) en la fisiología general; además, regula el volumen de líquido en la superficie de las vías aéreas, el tracto gastrointestinal y dentro del sistema nervioso. Aunque también existen algunas funciones no clásicas de estos receptores involucrándose en la diferenciación epidérmica, la lipogénesis, la migración de queratinocitos en la piel (Charles *et al.*, 2008), en la percepción de lo salado (Chandrashekar *et al.*, 2010) y a nivel vascular promueve la rigidez de la pared, la disminución de la liberación de óxido nítrico (Jeggle *et al.*, 2013) y el aumento en la liberación de sustancias proinflamatorias (Sun X. *et al.*, 2018).

GABA_A

Vía de señalización: GABA, las benzodiazepinas, los barbitúricos, etanol y los neuroesteroides tienen la capacidad de unirse al receptor GABA_A, permitiendo el paso de Cl^- creando un incremento de corto plazo de la conductancia aniónica, lo que conlleva a hiperpolarizar la membrana y reducir los potenciales de acción en las células nerviosas. Esta inhibición puede ser rápida, intermedia o lenta. A los eventos rápidos se les conoce como *inhibición fásica* y a los lentos, como *tónica*.

Aunque la hiperpolarización es el evento más destacable de estos receptores, en años recientes se ha encontrado la actividad de una familia de proteínas conocidas como proteínas asociadas al receptor GABA_A (GABARAP), localizadas en el aparato de Golgi, y que juegan un papel importante en el transporte del receptor GABA_A dentro de la célula. Este GABARAP interactúa con el factor sensible a N-etilmaleimida (NSF) y con la gefirina (GPHN) para mantener GABA_A anclada al citoesqueleto disponible para su expresión. Además de contribuir a la expresión de GABA_A, GABARAP forma complejos multiproteicos al asociarse con la proteína relacionada a los microtúbulos de cadena ligera 3 alfa (PLC3a), importantes durante el proceso de autofagia (Schaaf *et al.*, 2016).

Funciones: La activación de los receptores GABA_A se ha asociado a disminución de la actividad de la corteza cerebral, sedación, con procesos de consolidación de la memoria espacial y temporal, tiene efectos ansiolíticos y

regula los cambios cerebelosos para mantener el control sobre el movimiento. También se ha reconocido una función destacada en los procesos de autofagia en múltiples líneas celulares (Sigel y Steinmann, 2012), mantiene un papel en la eritropoyesis, regula el funcionamiento circadiano de los hepatocitos, el ciclo celular, entre otros (Schaaf *et al.*, 2016).

Receptores de glicina

Vía de señalización: Al igual que GABA_A, la unión de glicina a su receptor inicia la hiperpolarización postsináptica de la membrana inducida por el flujo de Cl⁻, disminuyendo la actividad celular en tejidos excitables. En algunos tipos celulares, como la microglía, las células renales, los hepatocitos y el endotelio vascular, los receptores de glicina permiten la salida de Cl⁻, despolarizando la célula. Esta despolarización activa canales de calcio voltaje-dependientes, permitiendo el incremento de Ca²⁺ intracelular y, con ello, una serie de eventos diversos (Van den Eynden, 2009). También se ha propuesto que la glicina puede intervenir en la producción de sustancias proinflamatorias (p. e. TNF-α) y factores anti-apoptóticos (Stachlewitz *et al.*, 1999).

Funciones: Glicina es el neurotransmisor inhibitorio más importante en la médula espinal y el tronco encefálico; sin embargo, también se involucra en las vías de dolor e inflamatorias en el asta dorsal, en procesos del desarrollo neural en células madre y progenitoras (Nguyen *et al.*, 2001); también intervienen en la proliferación, migración y diferenciación celular (Van den Eynden, 2009) y en algunos tejidos previene la apoptosis mediada por factores endotóxicos (Stachlewitz *et al.*, 1999).

Receptores de IP₃

Vía de señalización: IP₃ se forma a partir de la unión de un ligando con un receptor acoplado a una proteína G excitatoria que induce la activación de la enzima fosfolipasa C que produce fosfatidilinositol-bisfosfato (PIP₂), para posteriormente dar lugar a diacilglicerol (DAG) e IP₃. El receptor de IP₃ es un canal iónico que se encuentra en la membrana del retículo endoplásmico y libera iones de Ca²⁺ al citosol. IP₃ también se asocia a una proteína conocida como IRBIT (*IP₃ receptor binding protein released with IP₃*), la cual se une a un cotransportador de Na⁺/HCO₃⁻ y a un intercambiador de Na⁺/H⁺ interviniendo en la regulación del pH. Existen estudios que relacionan a IRBIT con el factor específico de unión y poliadenilación (CPSF), mismo que regula la adición de poliA y, por tanto, la síntesis de RNA mensajero.

Funciones: Los receptores de IP₃ generan oscilaciones de Ca²⁺ importantes para una gran cantidad de funciones como la fertilización del óvulo, la plasticidad neuronal, la remodelación del músculo cardíaco, liso y estriado, percepción del gusto, ciclo de crecimiento del cabello, formación de osteoclastos, secreción de saliva, jugo pancreático, lágrimas y en el endotelio vascular promueve la liberación de sustancias vasoactivas (Mikoshiba, 2015).

Receptores nicotínicos de ACh

Vía de señalización: De manera regular, la activación de los canales nicotínicos por la ACh permite el paso de Na^+ , K^+ y Ca^{2+} generando despolarización de la membrana plasmática y un potencial excitatorio que se propaga a lo largo de la membrana y genera la liberación de neurotransmisores, hormonas y otras sustancias. Al activarse estos canales, se inician múltiples cascadas de señalización, como Wnt, regulando la función de las células madre en el intestino (Takahashi, 2020), osteopontina que aumenta los niveles de VEGF y MMP9, inhibe enzimas como GAD65 y 67 responsables de la síntesis de GABA, promoviendo la proliferación celular. Estos receptores también activan la cascada de señalización de las proteínas Src, AKT (vía PI_3k -Akt), ERK 1/2 y CREB, así como los factores de transcripción STAT1, STAT3, E2F1 y ID1 promoviendo los procesos de diferenciación y migración celular, así como la traducción de múltiples proteínas (Schaal *et al.*, 2015). A nivel del SNC, nAChr induce la activación de la vía Jak2-STAT3 que inhibe la producción de NF- κ B y reduce la producción de citocinas proinflamatorias, a esto se le conoce como *cascada antiinflamatoria colinérgica*. Múltiples vías de señalización que convergen con la función de los nAChr están siendo estudiadas para poder dilucidar el entrecruzamiento entre ellas.

Funciones: Se ha descrito que los canales nAChr son los principales reguladores en la contracción muscular, regulan la función motora a nivel cortical, del control de la coordinación de movimientos en el cerebelo (Welch *et al.*, 2013); también presentan múltiples efectos extraneuronales, a nivel vascular promueven la angiogénesis (Egleton *et al.*, 2009), modifica el perfil endotelial aumentando la vasorreactividad, induce remodelación vascular mediante la proliferación, migración y producción de matriz extracelular en el endotelio y el músculo liso vascular (Whitehead *et al.*, 2021, e incluso se ha descrito un efecto antiinflamatorio mediado por el sistema inmunológico (Piovesana *et al.*, 2021). Además, inducen la liberación de dopamina, serotonina, noradrenalina y glutamato en tejidos excitables extraneuronales. A nivel del aparato respiratorio, estos receptores se involucran en el ritmo y la frecuencia respiratoria y la respuesta ante la hipoxia (Sardón *et al.*, 2007).

Canales iónicos voltaje-dependientes

Vía de señalización: La acción clásica de los canales iónicos voltaje-dependientes es generar potenciales de acción a lo largo de la membrana gracias a los transientes de cationes que pasan a través de ellos (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}); sin embargo, durante los últimos años se ha descrito una variedad de moléculas señalizadoras asociadas a estos canales (sobre todo con el flujo de Ca^{2+}), incluyendo el ensamble que generan entre canales iónicos y receptores unidos a proteínas G, regulando la actividad de la compuerta; por ejemplo, los canales de calcio tipo N se asocian a proteínas G de tipo inhibitorio, las cuales inducen la actividad del receptor similar a los opioides (ORL1) y generan un efecto contra-nociceptivo. Otros canales de este tipo que se asocian a los receptores acoplados a proteínas G son los canales MaxiK (canales de larga conductancia de K^+ activados por Ca^{2+}) y son regulados por las con-

centraciones de tromboxano A2 de manera inversa. NALCN (canal de sodio no selectivo) se activa por los receptores muscarínicos de acetilcolina (M3R) independiente de proteínas G, generando un complejo proteico (descrito en las células β -pancreáticas, en las neuronas piramidales de la corteza y en los miocitos cardíacos). GIRK (canales rectificadores de la corriente entrante de K regulados por proteínas G) son canales de K⁺ activados por proteínas G, que al activarse inician la señalización que induce el plegamiento de algunas proteínas, como las del citoesqueleto, enzimas como las cinasas (GRK, PKA) y fosfatasa (PP1 y PP2a) (Altier, 2012). También se conoce que los transientes iónicos pueden activar la vía Ras/ERK/CREB, activando factores de transcripción como c-Fos, iniciando la señalización en el núcleo celular (Servili *et al.*, 2018).

Funciones: Son esenciales en funciones fisiológicas como la comunicación entre las células nerviosas, la contracción muscular, la actividad cardíaca, la liberación de hormonas y neurotransmisores principalmente de tipo excitatorio; además regulan procesos sensitivos como la iniciación y mantenimiento del dolor e intervienen en condiciones cognitivas diversas (Altier, 2012).

Acuaporinas

Vía de señalización: Se ha descrito que la vasopresina modula la reabsorción de agua a nivel renal y parte importante de este proceso se encuentra en la expresión de acuaporinas en diferentes regiones de la nefrona. El mecanismo involucrado inicia cuando la vasopresina se une a su receptor V2R, incrementando las concentraciones de AMPc, resultando en la activación de la proteína cinasa A (PKA), encargada de fosforilar otras proteínas y canales como las acuaporinas, promoviendo su translocación a la membrana.

De manera clásica, las acuaporinas permiten el paso de agua y glicerol, aunque algunos subtipos son permeables a otras sustancias como H₂O₂ (peroxiporinas), amonio (amonioporinas) y facilita el paso de algunos gases como CO₂, NO y O₂, lo que indica que intervienen en el estrés oxidativo a nivel celular.

El óxido nítrico (NO) interviene en la relajación del músculo liso vascular, y es producido por el endotelio vascular; las acuaporinas, particularmente la 1, permite el paso de NO desde el endotelio al músculo; además, se relaciona con la expresión del factor de transcripción en respuesta al flujo tipo Krüppel (KLF2), el cual tiene funciones anticoagulantes, antiinflamatorias, manteniendo un perfil preventivo para evitar la presencia de placas ateroscleróticas en el árbol vascular.

Por otro lado, las peroxiporinas permiten el paso de H₂O₂, una importante especie reactiva de oxígeno (ROS) que a niveles fisiológicos interviene en múltiples procesos inflamatorios, de apoptosis y senescencia celular y a concentraciones altas resulta ser perjudicial para las células, ya que oxida algunos aminoácidos fundamentales en múltiples cascadas de señalización intracelular, como la activación proteínas tirosina cinasa (TK), aumentando

el tiempo de acción y la actividad de las vías asociadas. Por tanto, la regulación de la apertura y cierre de estas acuaporinas tendrá un efecto sobre la concentración intracelular de ROS y, por tanto, en la actividad de las cascadas asociadas a tirosina cinasa (Medraño-Fernandez y Sitia, 2020).

Funciones: Las acuaporinas se involucran en la producción de múltiples fluidos, como la orina, el líquido cefalorraquídeo, el humor acuoso, el sudor, la saliva, las lágrimas, el líquido biliar, el líquido seminal y los jugos gastrointestinales. De igual manera, intervienen en procesos inflamatorios e inmunológicos, como la sobrevida de los linfocitos T y la maduración de las células dendríticas; también ejercen un papel en vías metabólicas, como en la gluconeogénesis, la síntesis de ácidos grasos y la ureagénesis. A nivel del SN, regula procesos de apoptosis, estrés oxidativo, migración celular, volumen celular, angiogénesis (Tamma *et al.*, 2018) y también en la amortiguación de las concentraciones de K^+ , la fisiología de los osmorreceptores, migración celular y señalización de Ca^{2+} (Nagelhus y Ottersen, 2013).

Conexinas y panexinas

Vía de señalización: Estos canales permiten el paso de una enorme cantidad de solutos, iones (Na^+ , K^+), metabolitos y segundos mensajeros (como Ca^{2+}) entre las células, nucleótidos (como AMPc y ATP) e inositol fosfatos (por ejemplo, IP_3); lo que activa una gran cantidad de señales intracelulares en función del mensajero involucrado (Brink *et al.*, 2020).

Funciones: La respuesta más estudiada de la actividad de las conexinas está en brindar al miocardio la característica de funcionar como un sincitio y permitir la contracción sincrónica de las células miocárdicas; además, se ha encontrado que las conexinas tienen una función valiosa en la regulación del metabolismo mitocondrial (Boengler y Schulz, 2017) y la actividad del sistema de conducción cardíaco (Raimann *et al.*, 2019). En otros tejidos, las conexinas intervienen en la división y la diferenciación celular, también generan transientes de Ca^{2+} al permitir el paso de IP_3 y su consecuente unión al receptor, con esto se influye en la coordinación de acciones metabólicas, procesos adaptativos o de apoptosis ante estímulos de estrés microambientales y promueve la activación de células del sistema inmunológico, como los linfocitos T (Tittarelli *et al.*, 2020).

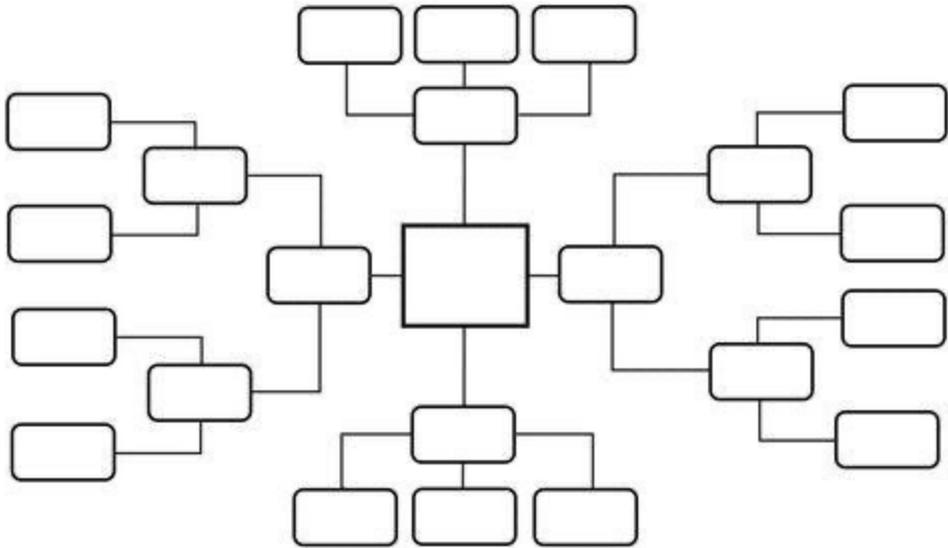
Como hemos abordado a lo largo de este capítulo, los canales iónicos no solamente permiten el paso de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Cl^- generando cambios en el potencial de acción, sino que también permite el tránsito de segundos mensajeros como AMPc e IP_3 , gases, agua, glicerol y especies reactivas de oxígeno, cada una de estas moléculas se encuentra relacionada con diferentes vías de señalización que conducen a múltiples eventos intracelulares. A lo largo de este texto, brindamos una perspectiva general de algunas vías de señalización involucradas en la activación de los canales iónicos, sin embargo, este campo de investigación es muy amplio y diariamente hay

descubrimientos novedosos que permiten ampliar nuestra perspectiva, por lo que recomendamos al lector consulte las referencias aquí utilizadas y algunas adicionales.

Preguntas de integración

1. Mapa mental

Realiza un mapa mental sobre los tipos de canales iónicos abordados en este capítulo (a continuación, se muestra un ejemplo):



2. Cuadro de resumen

Realiza un cuadro sinóptico sobre las características de los canales iónicos que cumpla con los siguientes campos:

Familia	Receptor	Vía de señalización	Funciones	Observaciones
Receptores tipo cys-loop	5-HT3			
Receptores tipo cys-loop	Nicotínicos de ACh			
...	...			

3. Rellenar las frases del 1 - 10 con las respuestas a - j

Respuestas

- a. ASIC
- b. Receptores de GABA_A
- c. Peroxiporinas
- d. Receptores acoplados a canales iónicos voltaje-dependientes
- e. Receptores nicotínicos de ACh
- f. ENaC
- g. Receptores de la familia cys-loop
- h. Piezo-canales
- i. IRBIT
- j. ZAC

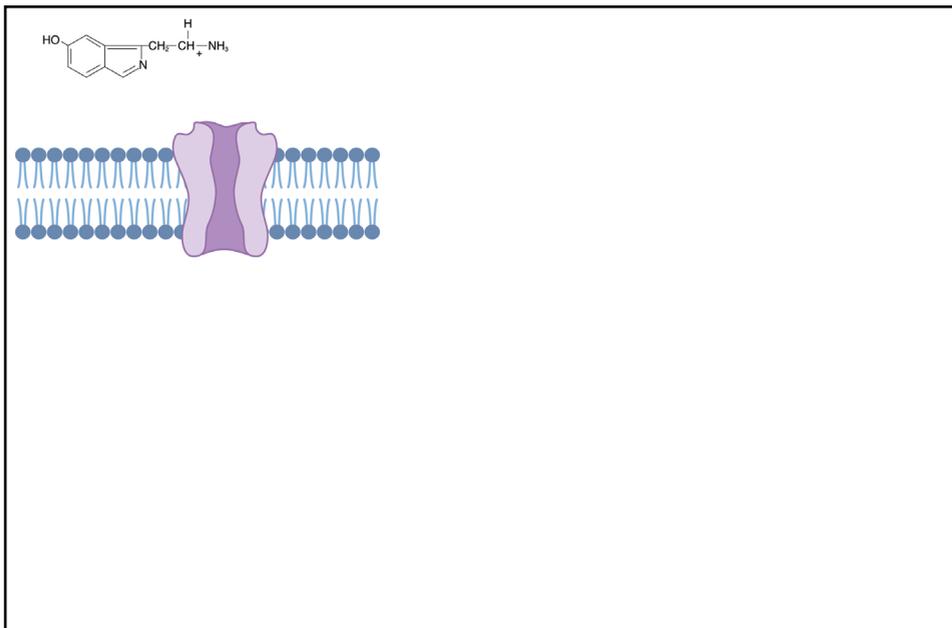
Preguntas

1. Son _____: 5-HT3, nicotínicos y receptores de GABA.
2. Los _____ son necesarios para la contracción del músculo estriado.
3. Permiten el paso de especies reactivas de oxígeno: _____.
4. Es el receptor inhibitorio más abundante en el SNC: _____.
5. Los receptores de la familia ____ contribuyen a mantener la homeostasis de Na⁺.
6. Los _____ son canales que generan ensambles con los receptores acoplados a proteínas G.
7. Son receptores involucrados en procesos de mecanotransducción, quimiorrecepción y nocicepción.
8. Son activados por altas concentraciones de protones y cobre: _____.
9. Los _____ responden ante estímulos mecánicos.
10. _____ se une a un cotransportador de Na⁺/HCO₃⁻ y a intercambiados de NA⁺/H⁺ interviniendo en la regulación del pH.

4. Relaciona cada característica o definición de la **Columna A** con la respuesta de la **Columna B**, como corresponda:

Columna A	Columna B
Piezo-canales	Genera inhibición a nivel medular.
Receptores nicotínicos de ACh	Genera tres tipos de inhibición: rápida, lenta e intermedia.
Receptores de glicina	Son regulados por el sistema renina-angiotensina-aldosterona.
Receptores de GABA _A	Su activación involucra a STIM-Orai
ASIC	Permiten el paso de distintos iones, predominantemente Na ⁺ y no dependen de voltaje ni ligando.
ENaC	Su activación impide la producción de GABA.
5-HT ₃	Son activados por nucleótidos y permeables a Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ y Cl ⁻ .
SOC	Canal de tipo trimérico.
Canales de fuga de Na ⁺ no selectivos	Son permeables al Na ⁺ e insensibles al voltaje.
Receptores P2X	Se localizan con una gran densidad en el área postrema.

5. Dibujo de la activación de un canal 5-HT₃ y la vía de señalización que se activa.



Referencias

- Akaike, A., & Izumi, Y. (2018). Overview. En *Nicotinic Acetylcholine Receptor Signaling in Neuroprotection* (pp. 1-15). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-8488-1_1.
- Alexander, S., Mathie, A., Peters, J., Veale, E., Striessnig, J., Kelly, E., Armstrong, J. F., Faccenda, E., Harding, S., Pawson, A., Sharman, J., Southan, C., & Davies, J. (2019). Ion channels. *The Concise Guide to Pharmacology 2019/20: Ion Channels*. <https://www.guidetopharmacology.org/GRAC/FamilyDisplayForward?familyId=689>.
- Altier, C. (2012). GPCR and Voltage-Gated Calcium Channels (VGCC) Signaling Complexes (pp. 241–262). https://doi.org/10.1007/978-94-007-4765-4_13.
- Armstrong, C. M., & Hille, B. (1998). Voltage-Gated Ion Channels and Electrical Excitability. *Neuron*, 20(3), 371–380. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80981-2](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80981-2).
- Béchade, C., Sur, C., & Triller, A. (1994). The inhibitory neuronal glycine receptor. *BioEssays*, 16(10), 735 – 744. <https://doi.org/10.1002/bies.950161008>.
- Belelli, D., Hales, T. G., Lambert, J. J., Luscher, B., Olsen, R., Peters, J. A., Rudolph, U., & Sieghart, W. (2019). GABAA receptors (version 2019.4) in the IUPHAR/BPS. *Guide to Pharmacology Database*. IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology CITE, 2019(4). <https://doi.org/10.2218/gtopdb/F72/2019.4>.
- Bernstein, J. (1902). Untersuchungen zur Thermodynamik der bioelektrischen Ströme. *Pflüger Archiv Für Die Gesamte Physiologie Des Menschen Und Der Thiere*, 92(10 – 12), 521 – 562. <https://doi.org/10.1007/BF01790181>.
- Bhattacharyya, S., Biou, V., Xu, W., Schlüter, O., & Malenka, R. C. (2009). A critical role for PSD-95/AKAP interactions in endocytosis of synaptic AMPA receptors. *Nature Neuroscience*, 12(2), 172 – 181. <https://doi.org/10.1038/nn.2249>.
- Blackiston, D. J., McLaughlin, K. A., & Levin, M. (2009). Bioelectric controls of cell proliferation: Ion channels, membrane voltage and the cell cycle. *Cell Cycle*, 8(21), 3527 – 3536. <https://doi.org/10.4161/cc.8.21.9888>.
- Boengler, K., & Schulz, R. (2017). Connexin 43 and Mitochondria in Cardiovascular Health and Disease (pp. 227 – 246). https://doi.org/10.1007/978-3-319-55330-6_12.

- Boscardin, E., Alijevic, O., Hummler, E., Frateschi, S., & Kellenberger, S. (2016). The function and regulation of acid-sensing ion channels (ASICs) and the epithelial Na⁺ channel (ENaC): IUPHAR Review 19. *British Journal of Pharmacology*, 173(18), 2671–2701. <https://doi.org/10.1111/bph.13533>.
- Bowery, N. G., Hudson, A. L., & Price, G. W. (1987). GABAA and GABAB receptor site distribution in the rat central nervous system. *Neuroscience*, 20(2), 365 – 383. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(87\)90098-4](https://doi.org/10.1016/0306-4522(87)90098-4).
- Breitinger, U., & Breitinger, H.-G. (2020). Modulators of the Inhibitory Glycine Receptor. *ACS Chemical Neuroscience*, 11(12), 1706 – 1725. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.0c00054>.
- Brink, P. R., Valiunas, V., & White, T. W. (2020). Lens Connexin Channels Show Differential Permeability to Signaling Molecules. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), 6943. <https://doi.org/10.3390/ijms21186943>.
- Brown, D. (2017). The Discovery of Water Channels (Aquaporins). *Annals of Nutrition and Metabolism*, 70(Suppl. 1), 37 – 42. <https://doi.org/10.1159/000463061>.
- Capogna, M., & Pearce, R. A. (2011). GABAA, slow: causes and consequences. *Trends in Neurosciences*, 34(2), 101 – 112. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.10.005>.
- Carattino, M. D., & Montalbetti, N. (2020). Acid-sensing ion channels in sensory signaling. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 318(3), F531 – F543. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00546.2019>.
- Catterall, W. A. (1993). Structure and function of voltage-gated ion channels. *Trends in Neurosciences*, 16(12), 500 – 506. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(93\)90193-P](https://doi.org/10.1016/0166-2236(93)90193-P).
- Chandrashekar, J., Kuhn, C., Oka, Y., Yarmolinsky, D. A., Hummler, E., Ryba, N. J. P., & Zuker, C. S. (2010). The cells and peripheral representation of sodium taste in mice. *Nature*, 464(7286), 297 – 301. <https://doi.org/10.1038/nature08783>.
- Charles, R.P., Guitard, M., Leyvraz, C., Breiden, B., Haftek, M., Haftek-Terreau, Z., Stehle, J.C., Sandhoff, K. & Hummler, E. (2008). Postnatal Requirement of the Epithelial Sodium Channel for Maintenance of Epidermal Barrier Function. *Journal of Biological Chemistry*, 283(5), 2622 – 2630. <https://doi.org/10.1074/jbc.M708829200>.
- Colledge, M., Dean, R. A., Scott, G. K., Langeberg, L. K., Haganir, R. L., & Scott, J. D. (2000). Targeting of PKA to Glutamate Receptors through a MAGUK-AKAP Complex. *Neuron*, 27(1), 107–119. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)00013-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)00013-1).

- Collingridge, G. L., Olsen, R. W., Peters, J., & Spedding, M. (2009). A nomenclature for ligand-gated ion channels. *Neuropharmacology*, 56(1), 2–5. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.06.063>.
- Darmani, N. A., Zhong, W., Chebolu, S., & Mercadante, F. (2015). Differential and additive suppressive effects of 5-HT₃ (palonosetron) and NK1 (netupitant) receptor antagonists on cisplatin-induced vomiting and ERK1/2, PKA and PKC activation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 131, 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.02.010>.
- Davies, P., Hales, T. G., Jensen, A. A., & Peters, J. A. (2019). ZAC (version 2019.4) in the IUPHAR/BPS. Guide to Pharmacology Database. IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology CITE, 2019(4). <https://doi.org/10.2218/gtopdb/F83/2019.4>.
- de Lera Ruiz, M., & Kraus, R. L. (2015). Voltage-Gated Sodium Channels: Structure, Function, Pharmacology, and Clinical Indications. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(18), 7093–7118. <https://doi.org/10.1021/jm501981g>.
- Deval, E., & Lingueglia, E. (2015). Acid-Sensing Ion Channels and nociception in the peripheral and central nervous systems. *Neuropharmacology*, 94, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.02.009>.
- Doyle, D. A. (1998). The Structure of the Potassium Channel: Molecular Basis of K⁺ Conduction and Selectivity. *Science*, 280(5360), 69–77. <https://doi.org/10.1126/science.280.5360.69>.
- Du Bois-Reymond, E. (1843). Vorläufen Abrifs einer Untersuchung über den sogenannten Froschstrom and über die electromotorischen Fische. *Annalen Der Physik Und Chemie*, 1(1).
- Egleton, R. D., Brown, K. C., & Dasgupta, P. (2009). Angiogenic activity of nicotinic acetylcholine receptors: Implications in tobacco-related vascular diseases. *Pharmacology & Therapeutics*, 121(2), 205–223 <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2008.10.007>.
- Gotti, C., Marks, M. J., Millar, N. S., & Wonnacott, S. (2019). Nicotinic acetylcholine receptors (version 2019.4) in the IUPHAR/BPS. Guide to Pharmacology Database. IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology CITE, 2019(4). <https://doi.org/10.2218/gtopdb/F76/2019.4>.
- Gouaux, E., & MacKinnon, R. (2005). Principles of Selective Ion Transport in Channels and Pumps. *Science*, 310(5753), 1461–1465. <https://doi.org/10.1126/science.1113666>.
- Groome, J. R., & Bayless-Edwards, L. (2020). Roles for Countercharge in the Voltage Sensor Domain of Ion Channels. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00160>.

- Hanukoglu, I., & Hanukoglu, A. (2016). Epithelial sodium channel (ENaC) family: Phylogeny, structure – function, tissue distribution, and associated inherited diseases. *Gene*, 579(2), 95 – 132. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.12.061>.
- Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1952). Movement of Sodium and Potassium Ions During Nervous Activity. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 17, 43–52. <https://doi.org/10.1101/SQB.1952.017.01.007>.
- Jeggle, P., Callies, C., Tarjus, A., Fassot, C., Fels, J., Oberleithner, H., Jaisser, F., & Kusche-Vihrog, K. (2013). Epithelial Sodium Channel Stiffens the Vascular Endothelium In Vitro and in Liddle Mice. *Hypertension*, 61(5), 1053–1059. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.199455>.
- Jurkat-Rott, K., Fauler, M., & Lehmann-Horn, F. (2006). Ion channels and ion transporters of the transverse tubular system of skeletal muscle. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 27(5–7), 275–290. <https://doi.org/10.1007/s10974-006-9088-z>.
- Khan, I., Osaka, H., Stanislaus, S., Calvo, R. M., Deerinck, T., Yaksh, T. L., & Taylor, P. (2003). Nicotinic acetylcholine receptor distribution in relation to spinal neurotransmission pathways. *The Journal of Comparative Neurology*, 467(1), 44–59. <https://doi.org/10.1002/cne.10913>.
- Kim, D. M., & Nimigean, C. M. (2016). Voltage-Gated Potassium Channels: A Structural Examination of Selectivity and Gating. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 8(5), a029231. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a029231>.
- Klabunde, R. E. (2017). Cardiac electrophysiology: normal and ischemic ionic currents and the ECG. *Advances in Physiology Education*, 41(1), 29–37. <https://doi.org/10.1152/advan.00105.2016>.
- Koopmann, T. T., Bezzina, C. R., & Wilde, A. A. M. (2006). Voltage-gated sodium channels: Action players with many faces. *Annals of Medicine*, 38(7), 472–482. <https://doi.org/10.1080/07853890600969072>.
- Kraichely, R., & Farrugia, G. (2007). Mechanosensitive ion channels in interstitial cells of Cajal and smooth muscle of the gastrointestinal tract. *Neurogastroenterology & Motility*, 19(4), 245–252. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2006.00880.x>.
- Kweon, H.-J., & Suh, B.-C. (2013). Acid-sensing ion channels (ASICs): therapeutic targets for neurological diseases and their regulation. *BMB Reports*, 46(6), 295–304. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2013.46.6.121>.
- MacKinnon, R. (1991). New insights into the structure and function of potassium channels. *Current Opinion in Neurobiology*, 1(1), 14–19. [https://doi.org/10.1016/0959-4388\(91\)90005-R](https://doi.org/10.1016/0959-4388(91)90005-R).

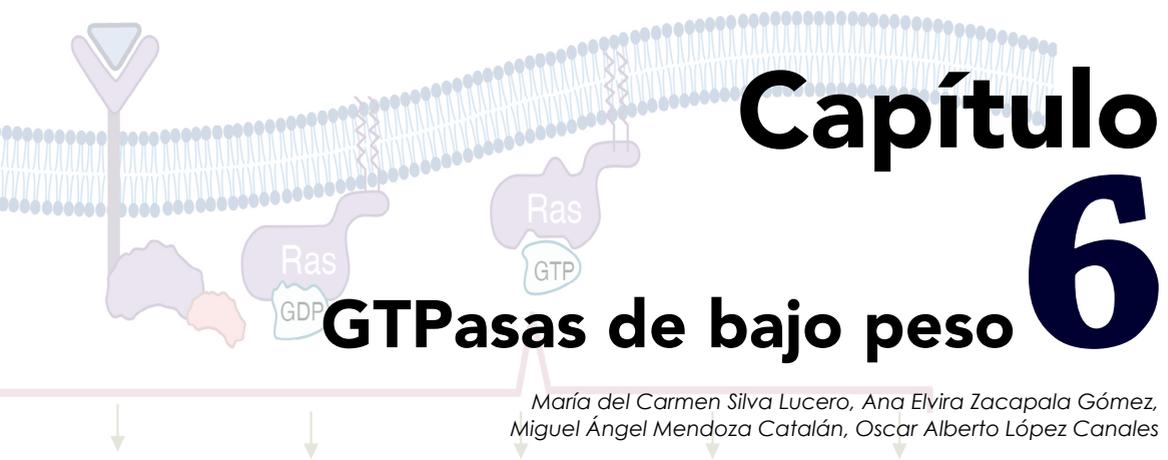
- MacKinnon, R. (2003). Potassium channels. *FEBS Letters*, 555(1), 62–65. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)01104-9](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)01104-9).
- Matteucci, C. (1840). *Essai Sur Les Phenomenes Electriques Des Animaux* (1st ed.). Kessinger Publishing.
- Mazzochi, C., Bubien, J. K., Smith, P. R., & Benos, D. J. (2006). The Carboxyl Terminus of the α -Subunit of the Amiloride-sensitive Epithelial Sodium Channel Binds to F-actin. *Journal of Biological Chemistry*, 281(10), 6528–6538. <https://doi.org/10.1074/jbc.M509386200>.
- Medraño-Fernandez, I., & Sifia, R. (2020). Aquaporins: Gatekeepers in the borders of oxidative stress and redox signaling. In *Oxidative Stress* (167–181). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818606-0.000110>.
- Mikoshiba, K. (2015). Role of IP3 receptor signaling in cell functions and diseases. *Advances in Biological Regulation*, 57, 217–227. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2014.10.001>.
- Morley, B. J., Lorden, J. F., Brown, G. B., Kemp, G. E., & Bradley, R. J. (1977). Regional distribution of nicotinic acetylcholine receptor in rat brain. *Brain Research*, 134(1), 161–166. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(77\)90935-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(77)90935-0).
- Nagelhus, E. A., & Ottersen, O. P. (2013). Physiological Roles of Aquaporin -4 in Brain. *Physiological Reviews*, 93(4), 1543–1562. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2013>.
- Nemecz, Á., Prevost, M. S., Menny, A., & Corringer, P.-J. (2016). Emerging Molecular Mechanisms of Signal Transduction in Pentameric Ligand-Gated Ion Channels. *Neuron*, 90(3), 452–470. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.03.032>.
- Nguyen, L., Rigo, J.-M., Rocher, V., Belachew, S., Malgrange, B., Rogister, B., Leprince, P., & Moonen, G. (2001). Neurotransmitters as early signals for central nervous system development. *Cell and Tissue Research*, 305(2), 187–202. <https://doi.org/10.1007/s004410000343>.
- North, R. A. (2016). P2X receptors. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1700), 20150427. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0427>.
- Nutt, D. (2006). GABAA Receptors: Subtypes, Regional Distribution, and Function. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 02(02). <https://doi.org/10.5664/jcsm.26525>.
- Oyamada, M., Oyamada, Y., & Takamatsu, T. (2005). Regulation of connexin expression. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1719(1–2), 6–23. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2005.11.002>.

- Piovesana, R., Salazar Intriago, M. S., Dini, L., & Tata, A. M. (2021). Cholinergic Modulation of Neuroinflammation: Focus on $\alpha 7$ Nicotinic Receptor. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4912. <https://doi.org/10.3390/ijms22094912>.
- Raimann, F. J., Dröse, S., Bonke, E., Schneider, L., Tybl, E., Wittig, I., Heidler, J., Heide, H., Josipovic, I., Leisegang, M., Brandes, R. P., Roeper, J., Zacharowski, K., & Mersmann, J. (2019). TLR2-Dependent Reversible Oxidation of Connexin 43 at Cys260 Modifies Electrical Coupling After Experimental Myocardial Ischemia/Reperfusion. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 12(5), 478–487. <https://doi.org/10.1007/s12265-019-09887-0>.
- Rossier, B. C., Baker, M. E., & Studer, R. A. (2015). Epithelial sodium transport and its control by aldosterone: the story of our internal environment revisited. *Physiological Reviews*, 95(1), 297–340. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2014>.
- Sansom, M. S. (1991). The biophysics of peptide models of ion channels. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 55(3), 139–235. [https://doi.org/10.1016/0079-6107\(91\)90004-C](https://doi.org/10.1016/0079-6107(91)90004-C).
- Sardón, O., Mintegui, J., Korta, J., & González Pérez-Yarza, E. (2007). Control de la respiración. In E. González Pérez-Yarza, A. Aldasoro Ruiz, J. Korta Murua, K. Mintegui Aranburu, & O. Sardón Prado (Eds.), *La función pulmonar en el niño* (1º, 18–19).
- Scemes, E., Suadicani, S. O., Dahl, G., & Spray, D. C. (2007). Connexin and pannexin mediated cell–cell communication. *Neuron Glia Biology*, 3(3), 199–208. <https://doi.org/10.1017/S1740925X08000069>.
- Schaaf, M. B. E., Keulers, T. G., Vooijs, M. A., & Rouschop, K. M. A. (2016). LC3/GABARAP family proteins: autophagy-(un)related functions. *The FASEB Journal*, 30(12), 3961–3978. <https://doi.org/10.1096/fj.201600698R>.
- Servili, E., Trus, M., Maayan, D., & Atlas, D. (2018). β -Subunit of the voltage-gated Ca²⁺ channel Cav1.2 drives signaling to the nucleus via H-Ras. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(37), E8624–E8633. <https://doi.org/10.1073/pnas.1805380115>.
- Seyfarth, E.-A. (2006). Julius Bernstein (1839–1917): pioneer neurobiologist and biophysicist. *Biological Cybernetics*, 94(1), 2–8. <https://doi.org/10.1007/s00422-005-0031-y>.
- Sigel, E., & Steinmann, M. E. (2012). Structure, Function, and Modulation of GABAA Receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 287(48), 40224–40231. <https://doi.org/10.1074/jbc.R112.386664>.

- Stachlewitz, R. F., Seabra, V., Bradford, B., Bradham, C. A., Rusyn, I., Germolec, D., & Thurman, R. G. (1999). Glycine and uridine prevented -galactosamine hepatotoxicity in the rat: Role of kupffer cells. *Hepatology*, 29(3), 737–745. <https://doi.org/10.1002/hep.510290335>.
- Sun, J., & Nan, G. (2017). The extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway in neurological diseases: A potential therapeutic target (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 39(6), 1338–1346. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.2962>.
- Sun, X., Guo, J. H., Zhang, D., Chen, J., Lin, W. Y., Huang, Y., Chen, H., Huang, W. Q., Liu, Y., Tsang, L. L., Yu, M. K., Chung, Y. W., Jiang, X., Huang, H., Chan, H. C., & Ruan, Y. C. (2018). Activation of the epithelial sodium channel (ENaC) leads to cytokine profile shift to pro-inflammatory in labor. *EMBO Molecular Medicine*, 10(10). <https://doi.org/10.15252/emmm.201808868>.
- Takahashi, T. (2020). Roles of nAChR and Wnt signaling in intestinal stem cell function and inflammation. *International Immunopharmacology*, 81, 106260. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106260>.
- Tamma, G., Valenti, G., Grossini, E., Donnini, S., Marino, A., Marinelli, R. A., & Calamita, G. (2018). Aquaporin Membrane Channels in Oxidative Stress, Cell Signaling, and Aging: Recent Advances and Research Trends. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2018/1501847>.
- Thompson, A. J., & Lummis, S. C. R. (2006). 5-HT3 receptors. *Current Pharmaceutical Design*, 12(28), 3615–3630. <https://doi.org/10.2174/138161206778522029>.
- Tittarelli, A., Navarrete, M., Gleisner, M. A., Gebicke-Haerter, P., & Salazar-Onfray, F. (2020). Connexin-Mediated Signaling at the Immunological Synapse. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10), 3736. <https://doi.org/10.3390/ijms21103736>.
- Trattnig, S. M., Gasiorek, A., Deeb, T. Z., Ortiz, E. J. C., Moss, S. J., Jensen, A. A., & Davies, P. A. (2016). Copper and protons directly activate the zinc-activated channel. *Biochemical Pharmacology*, 103, 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.02.004>.
- Van den Eynden, J. (2009). Glycine and glycine receptor signalling in non-neuronal cells. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2. <https://doi.org/10.3389/neuro.02.009.2009>.
- Varela-Vázquez, A., Carpintero-Fernández, P., Fonseca, E., & Mayán, M. D. (2016). Conexinas y panexinas como nuevas dianas en el diagnóstico y la terapéutica dermatológica. *Piel*, 31(4), 254–262. <https://doi.org/10.1016/j.piel.2015.09.011>.

- Venero, J. L., Vizuete, M. L., Machado, A., & Cano, J. (2001). Aquaporins in the central nervous system. *Progress in Neurobiology*, 63(3), 321–336. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(00\)00035-6](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(00)00035-6).
- Verdier-Sévrain, S., & Bonté, F. (2007). Skin hydration: a review on its molecular mechanisms. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 6(2), 75–82. <https://doi.org/10.1111/j.1473-2165.2007.00300.x>.
- Verkman, A. S. (2012). Aquaporins in Clinical Medicine. *Annual Review of Medicine*, 63(1), 303–316. <https://doi.org/10.1146/annurevmed-043010-193843>.
- Verkman, A., Smith, A., Phuan, P., Tradtrantip, L., & Anderson, M. (2017). The aquaporin-4 water channel as a potential drug target in neurological disorders. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 21(12), 1161–1170. <https://doi.org/10.1080/14728222.2017.1398236>.
- Von Helmholtz, H. (1850). Vorläufige Bericht über die Fortpflanzungsgeschwindigkeit der Nervenreizung. *Arch Anat Physiol*, 1(1), 71–72.
- Wang, J., Ou, S.-W., & Wang, Y.-J. (2017). Distribution and function of voltage-gated sodium channels in the nervous system. *Channels*, 11(6), 534–554. <https://doi.org/10.1080/19336950.2017.1380758>.
- Welch, K. D., Pfister, J. A., Lima, F. G., Green, B. T., & Gardner, D. R. (2013). Effect of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonists and antagonists on motor function in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 266(3), 366–374. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.11.024>.
- Wemmie, J. A., Taugher, R. J., & Kreple, C. J. (2013). Acid-sensing ion channels in pain and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(7), 461–471. <https://doi.org/10.1038/nrn3529>.
- Whitehead, A. K., Erwin, A. P., & Yue, X. (2021). Nicotine and vascular dysfunction. *Acta Physiologica*, 231(4). <https://doi.org/10.1111/apha.13631>.
- Yang, S.-N., & Berggren, P.-O. (2006). The Role of Voltage-Gated Calcium Channels in Pancreatic β -Cell Physiology and Pathophysiology. *Endocrine Reviews*, 27(6), 621–676. <https://doi.org/10.1210/er.2005-0888>.
- Yoshida, Y., & Imai, S. (1997). Structure and Function of Inositol 1,4,5 - Trisphosphate Receptor. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 74(2), 125–137. <https://doi.org/10.1254/jjp.74.125>.
- Zhang, W., Xie, J., & Lai, L. (2019). Correlation Between Allosteric and Orthosteric Sites (89–105). https://doi.org/10.1007/978-981-13-8719-7_5.

- Zhong, W., Hutchinson, T. E., Chebolu, S., & Darmani, N. A. (2014). Serotonin 5-HT₃ Receptor-Mediated Vomiting Occurs via the Activation of Ca²⁺/CaMKII-Dependent ERK1/2 Signaling in the Least Shrew (*Cryptotis parva*). *PLoS ONE*, 9(8), e104718. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104718>.
- Zhu, C., Chen, Z., & Jiang, Z. (2016). Expression, Distribution and Role of Aquaporin Water Channels in Human and Animal Stomach and Intestines. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(9), 1399. <https://doi.org/10.3390/ijms17091399>



Capítulo 6

GTPasas de bajo peso

María del Carmen Silva Lucero, Ana Elvira Zacapala Gómez,
Miguel Ángel Mendoza Catalán, Oscar Alberto López Canales

Contenido temático

- Objetivo
- Introducción
- Superfamilia Ras
 - > Estructura de las GTPasas de la superfamilia Ras
- Subfamilias
 - > Ras
 - > Rho
 - > Rab
 - > Arf
 - > Ran
- Regulación mediante GAPs, GEFs y GDIs
- Preguntas de integración
- Referencias

Objetivo

Explicar la estructura y la función de las GTPasas de bajo peso molecular, el proceso de la transducción de señales de estas moléculas y sus implicaciones fisiológicas.

Introducción

Las GTPasas pequeñas prototipo se identificaron como proteínas codificadas por los oncogenes retrovirales causantes de sarcoma en ratas (Ras). En 1982, fue identificada la expresión de *proteínas similares a Ras* en varios tipos de cáncer, inicialmente se consideró que era la enzima Ras GTPasa mutada; posteriormente, se identificó que presentan una estructura 3D similar a Ras, por lo que se agruparon en una familia. Actualmente, la familia tiene más

de 150 miembros, lo que la convierte en una superfamilia, compuesta de cinco subfamilias, Ras, Rho, Rab, Arf/Sar y Ran según su secuencia, estructura y función.

Las proteínas G monoméricas o GTPasa pequeñas (20 – 25 kDa) son estructuralmente análogas a la subunidad α de las proteínas G heterotriméricas. Las GTPasas pequeñas pueden estar libres en el citosol, en el nucleoplasma o ancladas a membrana en células eucariotas, tienen la capacidad de unirse a GTP y convertir GTP a GDP (forma activa e inactiva), actuando como interruptores moleculares en las células para regular el crecimiento celular, la diferenciación, el movimiento celular, el tráfico de vesículas lipídicas, etc. De manera específica, la subfamilia Ras regula la expresión génica; la subfamilia Rho regula la reorganización del citoesqueleto, la síntesis de la pared celular, la progresión del ciclo celular y la transducción de señales de MAP cinasa; la subfamilia Rab y la subfamilia Sar / Arf regulan el tráfico de vesículas y la formación de clatrina; la subfamilia Ran regula el transporte de carioplasma, la formación de microtúbulos, la formación del aparato de espín mitótico y el ensamblaje de la carioteca después de la división celular.

Superfamilia Ras

La reconstrucción filogenética más reciente de la superfamilia Ras, con base en secuencias completas del genoma humano, confirmó la organización general conocida. La superfamilia Ras está compuesta por más de 150 miembros, que se divide en familias y subfamilias en relación con su estructura, secuencia y función. Las cinco familias principales de GTPasas pequeñas son Ras, Rho, Ran, Rab y Arf, la familia Ras es la raíz de la superfamilia (Figura 6.1). La familia Ras se divide en seis subfamilias (Ras, Ra1, Rap, Rad, Rheb y Rit). La superfamilia Ras (secuencias ortólogas) contiene 167 proteínas humanas: 39 proteínas en la familia Ras, 30 proteínas de la familia Arf, 22 proteínas de la familia Rho, 65 proteínas de la familia Rab y una proteína de la familia Ran, se incluyen 10 secuencias sin clasificar, cinco de estas secuencias solo presentan evidencia de que existen a nivel transcripcional (Tabla 6.1).

Tabla 6.1. Miembros de la superfamilia de Ras.

Familia	Subfamilia	Miembros de la subfamilia
Ras	Ras	E-Ras, N-Ras, H-Ras, K-Ras, M-Ras, R-Ras, R-Ras2, Di-Ras1, Di-Ras2, Di-Ras3, NKIRas1, NKIRas2, RasD1, RasD2, RasL10A, RasL10B, RasL11A, RasL11B, RasL12, Rerg, FLJ22655
	Ra1	Ra1A, Ra1B
	Rap	Rap1A, Rap1B, Rap2A, Rap2B, Rap2C
	Rad	Rad, Gem, Kir, Rem1, Rem2
	Rheb	Rheb, RhebL1
	Rit	Rit1, Rit2, Rin, Ric
Rho		RhoA, RhoB, RhoBTB1, RhoBTB2, RhoBTB3, RhoC, RhoD, RhoF, RhoG, RhoH, RhoJ, RhoQ, RhoU, RhoV, Rnd1, Rnd2, Rnd3, Rac1, Rac2, Rac3, Cdc42, Rac1_isorma_b

Rab	RAB1A, RAB1B, RAB2, RAB3A, RAB3B, RAB3C, RAB3D, RAB4A, RAB4B, RAB5A, RAB5B, RAB5C, RAB6A, RAB6B, RAB6C, RAB7A, RAB7B, RAB7L1, RAB8A, RAB8B, RAB9, RAB9B, RABL2A, RABL2B, RABL4, RAB10, RAB11A, RAB11B, RAB12, RAB13, RAB14, RAB15, RAB17, RAB18, RAB19, RAB20, RAB21, RAB22A, RAB23, RAB24, RAB25, RAB26, RAB27A, RAB27B, RAB28, RAB2B, RAB30, RAB31, RAB32, RAB33A, RAB33B, RAB34, RAB35, RAB36, RAB37, RAB38, RAB39, RAB39B, RAB40A, RAB40AL, RAB40B, RAB40C, RAB41, RAB42, RAB43, RAB20
Arf	ARF1, ARF3, ARF4, ARF5, ARF6, ARL1, ARL2, ARL3, ARL4, ARL5, ARL5C, ARL6, ARL7, ARL8, ARL9, ARL10A, ARL10B, ARL10C, ARL11, ARL13A, ARL13B, ARL14, ARL15, ARL16, ARL17, TRIM23, ARL4D, ARFRP1, ARL13B, ARD1
Ran	RAN

Las proteínas de la familia Ras son componentes casi universales de señalización, se expresan en organismos eucariotas, incluidos vertebrados, invertebrados y levaduras, donde desempeñan funciones críticas en el desarrollo, la proliferación, la diferenciación y la supervivencia (Figura 6.1). H-, K- y N-Ras son las principales isoformas de Ras, son altamente conservadas, pero presentan diferentes funciones biológicas.

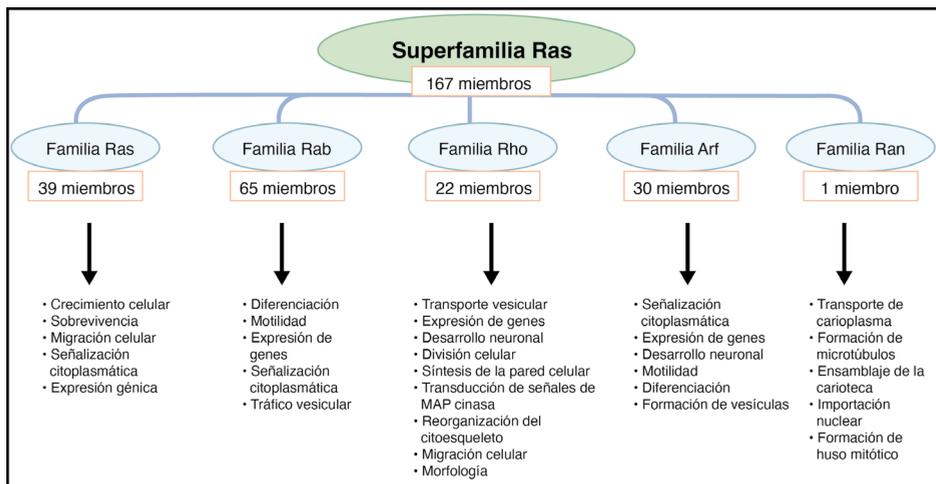


Figura 6.1. Clasificación y función de las familias de GTPasas pequeñas de la superfamilia Ras.

10 GTPasas pequeñas aún no se han clasificado.

Subfamilias

Ras

Las proteínas de la familia Ras tienen un papel esencial en la modulación de una amplia gama de procesos celulares, varias enfermedades humanas son causadas por la desregulación de su señalización, debido a que las interacciones entre proteínas celulares y GTPasas pequeñas son importantes para regular vías de señalización celular, mutaciones y diferencias en sus dominios alteran la dinámica de interacción y, por lo tanto, la regulación en su intercambio entre la forma activa e inactiva. Las patologías asociadas son cáncer, trastornos del desarrollo, alteraciones neurocognitivas y neurodegenerativas, así como trastornos metabólicos y enfermedades cardiovasculares; sin embargo, el cáncer es la patología más relacionada con alteraciones en la GTPasa pequeña Ras, seguida de neurocognitivos y neurodegenerativos.

En relación con trastornos neurocognitivos y neurodegenerativos, Rit1 es capaz de activar a B-Raf/ERK, cascada MAP cinasa p38, complejo de señalización MK2 (Rit GTPase-p38-MK2-AKT 9) y p38-MK2-HSP27-Akt, lo que está asociada al desarrollo y regeneración neural, porque regula la supervivencia celular y promoción del crecimiento; Rit2 incrementa la actividad de la vía Ras/MAPK, AKT/mTOR, Rac, y Stat3 lo que provoca Alzheimer, Huntington, epilepsia, microcefalia, retardo mental, neuropatía tipo V, autismo y síndrome Noonan; Rheb regula la vía mTORc1, interacción con GAPDH, depleción del incremento de los niveles de BACE1, unión con CAD, fosforilación de eIF2a e interacción con PERK asociado con ciclo celular, inhibición de la autofagia, formación del complejo en la membrana lisosomal, que se relacionan con enfermedad de Alzheimer y defectos cognitivos.

En cáncer, las proteínas Ras regulan varias capacidades celulares, como proliferación, invasión, apoptosis, metástasis, organización del citoesqueleto y degradación de la matriz extracelular, a través de diversos mediadores de la transducción, incluido el fibrosarcoma rápidamente acelerado (RAF), proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK), transductor de señal y activador de la transcripción (STAT), fosfoinosítido 3-cinasa (PI3K), proteína cinasa C (PKC) y estimulador de la disociación de nucleótidos de guanina Ral (RalGDS). Cada tipo celular tiene una dependencia distintiva de los efectores KRAS (por ejemplo, RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT o efector RAL vías).

Las proteínas Ras son pequeñas GTPasas unidas a la membrana plasmática que ciclan entre los estados de unión a GDP y GTP como consecuencia de la estimulación de ciertos receptores de la superficie celular, como el receptor del factor de crecimiento epitelial (EGFR). Posterior a la unión del sustrato con el receptor, Ras cambia a una conformación en la que puede unirse y activar proteínas efectoras, favoreciendo diferentes vías de señalización en la membrana de las células, conectando señales extracelulares con eventos intracelulares, la lista de efectores Ras es grande, pero Raf/MAPK y PI3K/AKT son los dos efectores descendentes mejor caracterizados de la señalización Ras (Figura 6.3).

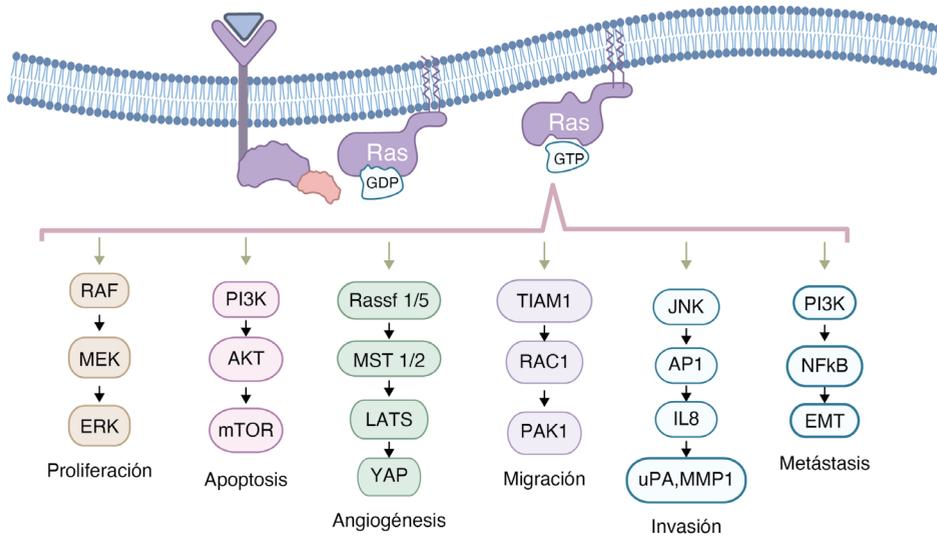


Figura 6.3. Vías de señalización reguladas por la activación de Ras en cáncer.

Elaborada en BioRender.

En las últimas décadas se han desarrollado estrategias terapéuticas relacionadas con las proteínas Ras oncogénicas, las estrategias se relacionan con la fijación y conversión de GDP / GTP, mejora de la hidrólisis / inactivación de GTP, inhibición de las modificaciones postraduccionales de RAS (es decir, farnesilación) y el bloqueo directo de RAS, mediante RAF, MAPK, PI3K y RalGDS. Sin embargo, estas estrategias terapéuticas no han tenido éxito por muchas razones; por ejemplo, aún es un desafío la creación de pequeñas moléculas con blancos selectivos, la generación de la activación de RAS y sus modificaciones postraduccionales, la activación de oncogenes compensatorios en respuesta al bloqueo de RAS, entre otros. Los tumores que portan mutaciones RAS se consideran los más difíciles de tratar y, a menudo, se excluyen del tratamiento con terapias dirigidas. Para superar este problema, estudios recientes han informado que el bloqueo de la unión a la proteína efectora RAS mediante el desarrollo de pan-RAS o la alteración de la dimerización de KRAS puede representar estrategias terapéuticas eficientes, aunque aún no probadas en ensayos clínicos de cáncer. Además, las vacunas de proteína y ADN KRAS han surgido como una nueva estrategia inmunoterapéutica para tratar algunos tipos de cáncer o como opciones de tratamiento adyuvante en la clínica. La administración de tales vacunas mejora la respuesta mediada por linfocitos T citotóxicos, lo que resulta en efectos antitumorales contra KRAS.

Rho

La familia de las Rho GTPasas es parte de la superfamilia Ras. Las Rho GTPasas (Ras homologous) son altamente conservadas y se encuentran en casi todas las células eucariotas. La familia Rho GTPasas en humanos está formada por 20 proteínas que se dividen en ocho subfamilias, que se clasifican en típicas o atípicas según su modo de regulación. Las Rho GTPasas son interruptores moleculares que adoptan diferentes estados conformacionales en respuesta a la unión de GDP o GTP. Las subfamilias Rac, Rho, Cdc42 y RhoF /RhoD se consideran típicas porque actúan como interruptores moleculares, ciclando entre una forma activa unida a GTP y una forma inactiva unida a GDP. Las Rho GTPasas atípicas están predominantemente unidas a GTP, y hasta ahora no hay evidencia de que estén reguladas por GEF o GAP. Sin embargo, al igual que varias proteínas típicas, existe buena evidencia de que las proteínas atípicas están reguladas por otros mecanismos, incluida la expresión y las modificaciones postraduccionales, y que su función involucra dominios adicionales que no se encuentran en las proteínas Rho típicas.

Las Rho GTPasas participan en varios procesos celulares, los cuales incluyen la organización del citoesqueleto de actina y los microtúbulos, la regulación en la expresión de genes, el tráfico vesicular, la progresión en el ciclo celular, morfogénesis celular, polaridad celular y migración.

La migración celular es esencial para el desarrollo y la fisiología animal, y también está asociada con procesos fisiopatológicos, como la inflamación crónica y la metástasis del cáncer. La migración y/o la invasión eficiente requieren la dinámica coordinada de los componentes celulares (lamelopodios, filopodios, adherencias célula-célula, adherencias célula-matriz extracelular, ampollas de membrana y/o invadopodios) y, por lo tanto, estas estructuras están estrechamente reguladas por múltiples mecanismos de señalización. En particular, se ha demostrado que los miembros de la familia Rho de pequeñas GTPasas desempeñan funciones esenciales en la migración e invasión celular, por lo que desempeñan un papel importante en procesos patológicos como la progresión del cáncer, inflamación y fisiológicos, como la reparación de heridas.

Rab

Las Rab GTPasas desempeñan un papel importante en vías específicas de transporte de vesículas y fusión de membranas intracelulares en células eucariotas. Existen numerosas isoformas de Rab en las membranas de diferentes compartimentos celulares. Se han reportado al menos 20 Rabs prototipo que forman seis grupos, los cuales incluyen en el grupo I, Rab1/Ypt1 y Rab8/Sec4, grupo II, Rab5/Ypt51, Rab7/Ypt7 y Rab9/Ypt9, en el grupo III, Rab11/Ypt31, y Rab4/Ypt4 en el grupo IV, Rab6/Ypt6 en el grupo V y Rab28 en el grupo VI. La mayoría de las Rab GTPasas son conservadas; sin embargo, en algunas especies se pierde esta característica.

En el humano se han descrito al menos 66 genes para las Rab y esta expresión tan significativa se debe a la gran complejidad de los sistemas de tráfico intracelular. Históricamente, las Rab GTPasas se han caracterizado mejor en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y en algunas células de mamíferos.

Como bien se ha mencionado, la principal función de las Rab GTPasas es su participación en el transporte vesicular. Estas moléculas una vez activadas y unidas a GTP pueden interactuar temporal y espacialmente con múltiples efectores para facilitar la selección de cargas en las vesículas, el movimiento de vesículas en los filamentos de actina y microtúbulos, y la unión de vesículas al compartimento objetivo para la fusión de membranas. Las Rab GTPasas pueden interactuar con los dominios citoplasmáticos de receptores transmembranales para facilitar su empaquetamiento en vesículas de transporte. En la vía endocítica temprana, Rab5 y Rab21 se unen directamente a la subunidad $\beta 1$ de las integrinas y promueven su endocitosis y reciclaje para remodelar la superficie celular para la migración y la citocinesis. Además, Rab5 también interactúa directamente con el receptor de angiotensina II tipo 1A (AT1AR) para facilitar su tráfico endocítico. En la vía exocítica, se ha reportado que Rab3B se une directamente al receptor polimérico de IgA (pIgR) para modular su transcitosis en células epiteliales polarizadas. Además, algunas Rab están involucradas en el empaquetamiento de proteínas de carga en vesículas de transporte a través de interacciones con proteínas adaptadoras.

La función fundamental de las Rab GTPasas y el tráfico de membranas en la fisiología celular se refleja en diversas enfermedades debidas a mutaciones o expresión alterada de genes Rab. Se sabe que las mutaciones en cinco de los 66 genes Rab humanos (Rab7, Rab23, Rab27, Rab38 y Rab39b) causan trastornos genéticos.

Por ejemplo, las mutaciones en Rab23 están relacionadas con el síndrome de Carpenter, que es un trastorno neurológico de craneosinostosis y malformación de las extremidades. Las mutaciones en Rab27 están relacionadas con el síndrome de Griscelli, un trastorno inmunológico con activación excesiva de linfocitos T y macrófagos llamado *síndrome hemofagocítico*, así como defectos en la pigmentación de la piel. La inactivación de Rab27 por mutaciones bloquea el transporte y la función de los gránulos secretores y los melanosomas y contribuye al síndrome hemofagocítico y albinismo parcial en pacientes de Griscelli. Rab38 es uno de los múltiples genes relacionados con el síndrome de Hermansky-Pudlak causado por melanocitos y plaquetas defectuosos y las mutaciones en Rab39b están asociadas con una forma de retraso mental ligado al cromosoma X.

Arf

Los factores de ribosilación de ADP (Arf) son proteínas de unión a nucleótidos de guanina que regulan el tráfico de membrana y el citoesqueleto. Las Arf GTPasas actúan como interruptores moleculares al alternar entre sus confor-

maciones activas unidas a GTP e inactivas unidas a GDP. La función de Arf depende del cambio entre Arf GDP inactivo y Arf GTP activo. Se logra un ciclo entre las dos formas intercambiando GTP por GDP para formar Arf GTP y luego hidrolizar GTP para volver a Arf GDP. Arf, sin embargo, tienen un intercambio intrínseco bajo y una actividad GTPasa no detectable. Por lo tanto, la función de Arf depende de los factores de intercambio de nucleótidos de guanina (Arf GEF) y las proteínas activadoras de Arf GTPasa (Arf GAP), que impulsan el ciclo de unión e hidrólisis de GTP.

Los seres humanos tienen cinco isoformas, divididas en tres clases: Arf1 y 3 (clase 1), Arf4 y 5 (clase 2) y Arf6 (clase 3). Mientras que los Arf de clase I y II se localizan principalmente en y alrededor del aparato de Golgi, Arf6 se encuentra predominantemente en la membrana plasmática y en un subconjunto de endosomas que alteran el microambiente de la membrana.

Las Arf GTPasas son capaces de modular directamente la síntesis de fosoinositidos locales, lo que tiene un impacto en varias proteínas reguladoras de actina. Los Arf también se han implicado en la activación indirecta de Rho GTPasas. Arf6 puede modular la actividad de Rac al controlar la disponibilidad de los componentes de las balsas lipídicas, debido a su papel en el reciclaje endosomal, que ha demostrado ser fundamental en la unión y propagación de células dependientes de la edad de anclaje.

Además, se ha demostrado que la inhibición de la actividad de Arf tiene un impacto directo en la alteración de la membrana dependiente de Rac, la fagocitosis y la migración de células de cáncer de mama. También se ha demostrado que las proteínas Arf regulan a la baja actividad de Rho GTPasas. En las membranas de Golgi, Arf1 regula negativamente la actividad de Cdc42 al reclutar ARH-GAP21, cdc42 GAP. Otro aspecto interesante, que refuerza aún más la noción de que las Arf GTPasas coordinan la regulación del citoesqueleto de actina, es la interacción entre Arf GAP y Rho GEF. El ejemplo más conocido de este modo único de remodelación de actina es la interacción entre Arf GAP GIT1 y β -Pix a Rac GEF.

Ran

La Ran GTPasa (proteína nuclear relacionada con Ras) forma parte de la superfamilia Ras. Como todas las GTPasas, Ran alterna entre un estado activo asociado a GTP e inactivo unido a GDP. Sin embargo, Ran carece del motivo CAAX en su C-terminal, una característica de otras GTPasas pequeñas que asegura una localización en la membrana plasmática y, en gran medida, circula entre el núcleo y el citoplasma. Los eucariotas generalmente codifican un solo ortólogo de Ran.

Ran es una pequeña GTPasa que controla el intercambio nucleocitoplasmático de macromoléculas a través de la envoltura nuclear y controla la progresión del ciclo celular mediante la regulación de la polimerización de microtúbulos y la formación del huso mitótico. La función clásica de Ran es regular el ciclo de importación y exportación nuclear. Los GEF y GAP esta-

blecen un gradiente de Ran activado, tras la ruptura de la envoltura nuclear que acompaña a la división celular, un gradiente Ran GTP, impulsado por una alta proximidad RCC1/Ran GEF a los cromosomas, promueve y mantiene el ensamblaje del huso.

Ran también se ha identificado como una proteína esencial en la formación de la envoltura nuclear en eucariotas. Este mecanismo depende de la importina- β , que regula el ensamblaje de otros complejos importantes en este proceso, como Nup107-Nup160. En el transporte nucleocitoplasmático, Ran se desplaza a través de la envoltura nuclear mediante los poros nucleares. Se concentra en el núcleo por un mecanismo de importación activo donde genera una alta concentración de Ran GTP por intercambio de nucleótidos. Controla el ensamblaje y desensamblaje de una variedad de complejos que se forman entre las proteínas de unión a Ran y la carga celular para mantener un transporte nuclear rápido.

Ran se ha relacionado con el cáncer a diferentes niveles, desde el inicio de la enfermedad hasta la metástasis; actualmente Ran es considerada como una proteína clave en la progresión metastásica. Ran se sobreexpresa en una gran variedad de tumores, como el de mama y el renal, en los cuales se asocia con invasión local, metástasis y supervivencia reducida del paciente. Investigaciones recientes destacan la relación significativa entre la expresión de Ran y la aparición y progresión del cáncer, por lo que el desarrollo de un compuesto que disminuya los niveles endógenos de Ran en la célula tendría efectos antimetástáticos y podría conducir al desarrollo de nuevos tipos de terapias contra el cáncer.

Regulación mediante GAPs, GEFs y GDIs

La mayoría de las proteínas G en general, tanto las monoméricas como las heterotriméricas, funcionan como interruptores moleculares que pueden encontrarse en dos formas en la célula: en forma activa cuando están unidas a GTP (nucleótidos de guanosina trifosfato), o en forma inactiva cuando se unen a GDP (guanosa difosfato). Los reguladores canónicos de este ciclo de activación/inactivación de las proteínas G son tres familias de proteínas accesorias conocidas como *factores de intercambio de nucleótidos de guanina* (GEF, por sus siglas en inglés) que llevan la proteína G a un estado activo, las proteínas activadoras de GTPasa (GAP), que estimulan la inactivación de la proteína G, y los inhibidores de la disociación de nucleótidos de guanina (GDI), que mantienen a las proteínas G en un estado inactivo (Figura 6.4).

Debido a la capacidad intrínseca para hidrolizar el GTP, un mecanismo que evita la actividad constitutiva, las proteínas G también son conocidas como GTPasas; sin embargo, esta capacidad de hidrólisis de GTP es lenta, por lo que debe ser catalizada por la interacción con proteínas GAP específicas, las cuales aceleran la hidrólisis del GTP, conduciendo la proteína G a un estado inactivo. Se han descrito varias familias de GAP específicas para distintas subfamilias de proteínas G. El mecanismo de interacción entre las GT-

Pasas y GAP puede ser distinto en función de cada subfamilia; por ejemplo, en las familias de GAP para las GTPasas Ras, Rho y Arf, se sabe que un anillo de arginina y glutamina sobre la estructura de las GAP es necesario para regular el ataque nucleofílico a la molécula de GTP, induciendo la hidrólisis; probablemente este mecanismo de acción es también utilizado por otras subfamilias de GAP.

Por otra parte, las proteínas GEF interactúan con la GTPasa unida a GDP formando un complejo de baja afinidad, estimulan la disociación del GDP, lo que genera un complejo de alta afinidad GEF/GTPasa libre de nucleótido, permitiendo la unión de GTP disponible en el citosol, que normalmente se encuentra en concentraciones relativamente elevadas, lo que estimula la activación de la GTPasa; esta unión de GTP produce nuevamente un complejo de baja afinidad, por lo que eventualmente el GEF será liberado, generando la forma activa de la GTPasa, la cual adopta una conformación estructural que permite la interacción con proteínas efectoras, incluyendo proteínas adaptadoras, cinasas, proteínas de unión a actina, entre otras, lo que conduce a diversas respuestas celulares, como cambios en la proliferación celular, homeostasis o reorganización del citoesqueleto, dependiendo del estímulo y el tipo célula. De forma similar a las GAP, cada subfamilia de GTPasas tiene sus propios GEF específicos.

Los GDI solo han sido encontrados para las subfamilias de GTPasas Rho y Rab. Estas proteínas inhiben la liberación del GDP unido a la proteína G, manteniéndolas en citosol en un estado inactivo, además de prevenir su localización en la membrana plasmática. Se han identificado tres mecanismos de acción para los GDI (Figura 6.4):

- a) Se unen a la forma inactiva de la GTPasa y evitan el intercambio de nucleótidos.
- b) Se unen a la GTPasa activa y evitan la hidrólisis intrínseca del GTP, por lo que mantienen la GTPasa en su forma activa.
- c) Se unen al sitio de unión de la GTPasa a la membrana plasmática, por lo que la mantienen a la proteína en el citosol.

En las GTPasas Rho, se ha observado que los GDI se unen inicialmente al dominio N-terminal, en el dominio *switch 1* de la GTPasa, inhibiendo el intercambio de GDP por GTP; posteriormente, el GDI promueve la disociación de la GTPasa de la membrana plasmática.

Además del importante papel de GAP, GEF y GDI en la regulación de la actividad de las proteínas G, las modificaciones postraduccionales son fundamentales para el funcionamiento de las GTPasas, incluso algunas proteínas G consideradas como *GTPasas atípicas* no dependen del intercambio GTP/GDP, ya que las proteínas se mantienen constitutivamente unidas a GTP, por lo que su regulación no depende de GEF y GAP, sino de modificaciones postraduccionales como fosforilación, ubiquitinación o adiciones lipídicas (farnesilación, geranilación, palmitoilación). Por ejemplo, en las GTPasas Rho se ha demostrado que la adición de lípidos es fundamental para la loca-

lización subcelular de la proteína (membrana plasmática), mientras que la fosforilación afecta tanto la actividad como la localización subcelular de la GTPasa, la sumoilación regula la actividad y la ubiquitinación modula la concentración de la proteína en la célula.

Las modificaciones postraduccionales también regulan la función de GEF, GAP y GDI. La actividad y niveles proteicos de GEF y GAP son regulados frecuentemente por fosforilación y ubiquitinación, respectivamente. La fosforilación puede tener un efecto positivo o negativo sobre la actividad de la proteína, dependiendo del tipo de GTPasa. Del mismo modo, la actividad de GDI también puede ser regulada por fosforilación, que generalmente disminuye su afinidad por la GTPasa, lo que permite su disociación y la subsecuente activación de la proteína G; sin embargo, en otros casos la fosforilación puede estabilizar el complejo GTPasa/GDI, un efecto también inducido por la sumoilación, lo que inhibe la señalización de la GTPasa. Por lo mencionado anteriormente, los mecanismos de regulación de la actividad de las GTPasas dependen del contexto celular, del tipo de GTPasa, de los reguladores GEF, GAP y GDI, así como de las modificaciones postraduccionales y, seguramente, de la comunicación cruzada entre rutas de señales estimuladas por las GTPasas y sus reguladores, lo que explica su importante y amplia participación en múltiples procesos celulares.

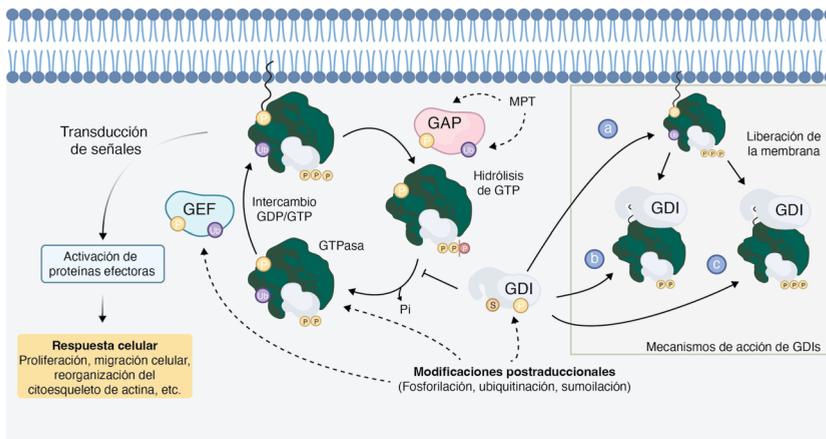


Figura 6.4. Regulación de las GTPasas.

Los reguladores canónicos del intercambio de nucleótidos GTP/GDP son los GEF, GAP y GDI. Los GEF promueven el intercambio de GDP por GTP, llevando a la GTPasa a un estado activo. Las GAP aceleran la hidrólisis de GTP, dejando a la GTPasa en un estado inactivo unidas a GDP. Los GDI inhiben la actividad de las GTPasas mediante tres mecanismos: a) inducen la liberación de la GTPasa de la membrana plasmática; b) se unen a la GTPasa inactiva y evitan el intercambio de nucleótidos; c) se unen a la GTPasa activa y evitan la hidrólisis del GTP. La actividad de las GTPasas, así como de sus reguladores GEF, GAP y GDI, puede ser regulada positiva o negativamente por modificaciones postraduccionales como fosforilación (P), ubiquitinación (Ub) y sumoilación.

Preguntas de integración

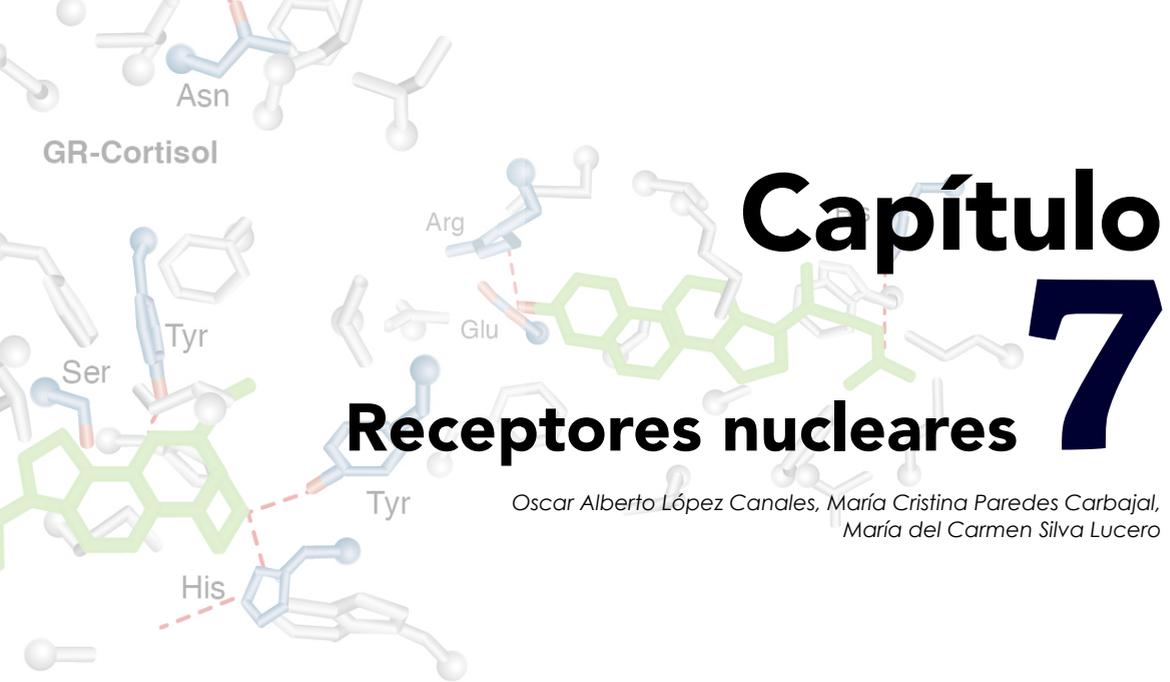
1. ¿Cuál es la estructura común de las proteínas Ras?
2. ¿Cuáles son las patologías relacionadas con las proteínas Ras?
3. ¿Cuál es el compartimento subcelular en el que se expresan las GTPasas de bajo peso molecular?
4. Explique por qué las GTPasas de bajo peso molecular juegan un papel fundamental en el desarrollo de enfermedades como el cáncer.
5. Mencione cuál es el mecanismo de activación e inactivación de las GTPasas de bajo peso molecular.

Referencias

- Arazola Sastre, A., Luque Montoro, M., Gálvez-Martín, P., Lacerda, H. M., Lucia, A., Llaveró, F., & Zugaza, J. L. (2020). Small GTPases of the Ras and Rho families switch on/off signaling pathways in neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6312.
- Chen, C. C., Er, T. K., Liu, Y. Y., Hwang, J. K., Barrio, M. J., Rodrigo, M. E., García-Toro, & Herreros-Villanueva, M. (2013). Computational analysis of KRAS mutations: implications for different effects on the KRAS, p. G12D and p. G13D mutations. *PloS one*, 8(2), e55793.
- Goitre, L., Trapani, E., Trabalzini, L., & Retta, S. F. (2014). The Ras superfamily of small GTPases: the unlocked secrets. *Ras signaling*, 1-18.
- Gray J. L., Von Delft F. & Brennan P. E. (2020). Targeting the Small GTPase superfamily through their regulatory proteins. *Angew Chem Int Ed* 59, 6342–6366. Doi: 10.1002/anie.201900585.
- Hernández-Alcoceba, R., Del Peso, L., & Lacal, J. C. (2000). The Ras family of GTPases in cancer cell invasion. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 57(1), 65-76.
- Hodge, R. G., & Ridley, A. J. (2016). Regulating Rho GTPases and their regulators. *Nature Reviews, Molecular Cell Biology* 17. doi:10.1038/nrm.2016.67.
- Homma, Y., Hiragi, S., & Fukuda, M. (2021). Rab family of small GTPases: an updated view on their regulation and functions. *The FEBS Journal* 288, 36–55, doi:10.1111/febs.15453.

- Humphries, B., Wang, Z., & Yang, C. (2020). Rho GTPases: big players in breast cancer initiation, metastasis and therapeutic responses. *Cells*, 9, 2167; doi:10.3390/cells9102167.
- Karp, G. (2014). *Biología celular y molecular: conceptos y experimentos*. 7a edición. McGraw Hill.
- Lee, S. H., Kunz, J., Lin, S. H., & Yu-Lee, L. Y. (2007). 16-kDa prolactin inhibits endothelial cell migration by down-regulating the Ras-Tiam1-Rac1-Pak1 signaling pathway. *Cancer Research*, 67(22), 11045-11053.
- Liu, F., Yang, X., Geng, M., & Huang, M. (2018). Targeting ERK, an Achilles' Heel of the MAPK pathway, in cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 8(4), 552-562.
- Machin, P. A., Tsonou, E., Hornigold, D. C., Welch, H. C. E. (2021). Rho Family GTPases and Rho GEFs in Glucose Homeostasis. *Cells*, 10, 915. <https://doi.org/10.3390/cells10040915>.
- Murali, A., & Rajalingam, K. (2013). Small Rho GTPases in the control of cell shape and mobility. *Cell Mol Life Sci*. Doi: 10.1007/s00018-013-1519-6.
- Neely, A., & Hidalgo, P. (2014). Structure-function of proteins interacting with the $\alpha 1$ pore-forming subunit of high-voltage-activated calcium channels. *Frontiers in Physiology*, 5, 209.
- Qu, L., Pan, C., He, S. M., Lang, B., Gao, G. D., Wang, X. L., & Wang, Y. (2019). The Ras superfamily of small GTPases in non-neoplastic cerebral diseases. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 12, 121.
- Rojas, A. M., Fuentes, G., Rausell, A., & Valencia, A. (2012). The Ras protein superfamily: evolutionary tree and role of conserved amino acids. *Journal of Cell Biology*, 196(2), 189-201.
- Saad, M. I., Rose-John, S., & Jenkins, B. J. (2019). ADAM17: an emerging therapeutic target for lung cancer. *Cancers*, 11(9), 1218.
- Sanchez-Laorden, B., Viros, A., Girotti, M. R., Pedersen, M., Saturno, G., Zambon, A., Niculescu-Duvaz, D., Turajlic, S., Hayes A., Gore, M., Larkin, J., Lorigan, P., Cook, M., Springer, C. & Marais, R. (2014). BRAF inhibitors induce metastasis in RAS mutant or inhibitor-resistant melanoma cells by reactivating MEK and ERK signaling. *Science signaling*, 7(318), ra30-ra30.
- Sears, R., & Gray, J. W. (2017). Epigenomic inactivation of RasGAPs activates RAS signaling in a subset of luminal B breast cancers. *Cancer discovery*, 7(2), 131-133.

- Shutes, A., & Der, C. J. (2004). Small GTPases. *Encyclopedia of Biological Chemistry*, 48-54.
- Slack, C. (2017). Ras signaling in aging and metabolic regulation. *Nutrition and healthy aging*, 4(3), 195-205.
- Song, S., Cong, W., Zhou, S., Shi, Y., Dai, W., Zhang, X., Wang, B., He & Zhang, Q. (2019). Small GTPases: Structure, biological function and its interaction with nanoparticles. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(1), 30-39.
- Soriano, O., Alcón-Pérez, M., Vicente-Manzanares, M. & Castellano, E. (2021). The Crossroads between RAS and RHO Signaling Pathways in Cellular Transformation, Motility and Contraction. *Genes*, 12(6), 819.
- Vetter, I. R. (2014). The structure of the G domain of the Ras superfamily. In *Ras Superfamily Small G Proteins: Biology and Mechanisms 1* (25-50). Springer, Vienna.
- Vicente-Soler, J., Soto, T., Franco, A., Cansado, J. & Madrid, M. (2021). The Multiple Functions of Rho GTPases in Fission Yeasts. *Cells*, 10, 1422. <https://doi.org/10.3390/cells10061422>.



Capítulo 7

Receptores nucleares

*Oscar Alberto López Canales, María Cristina Paredes Carbajal,
María del Carmen Silva Lucero*

Contenido temático

- Objetivos
- Introducción
 - > Mecanismo de acción general de los receptores nucleares
 - > Clasificación
 - > Nomenclatura NC-IUPHAR
 - > Características generales de las subfamilias
- Estructura de los receptores nucleares
 - > Región A/B o dominio N-terminal (NTD)
 - > Dominio de unión al ADN (DBD)
 - > Dominio de bisagra
 - > Dominio de unión al ligando (LDB)
 - > Región F
- Relación estructura función
 - > Formación de monómeros, homodímeros y heterodímeros
 - > Formación de complejos receptor-correguladores
- Transducción de señales de los receptores nucleares
 - > Unión del ligando
 - > Activación de los receptores nucleares
 - > Transporte a través de los poros nucleares
 - > Unión a los elementos de respuesta
 - > Interacción con los correguladores
- Regulación
 - > Modificadores postraduccionales
 - > Fosforilación
 - > Sumoilación

- > Acetilación
- > Ubiquitinación
- > O-glucosaminilación
- > Degradación
- Papel fisiológico
 - > Fibratos
 - > Tiazolidinedionas
 - > Corticoesteroides
 - > Moduladores selectivos de receptores de estrógenos
- Preguntas de integración
- Referencias

Objetivos

Explicar las relaciones existentes entre la estructura y la función de los receptores nucleares que determinan la transducción de una señal externa para regular la expresión genética de las proteínas diana.

Introducción

La familia de los receptores nucleares (RN) está compuesta por un grupo particular de factores de transcripción (FT) que, a diferencia del resto, pueden unirse y ser modulados por una variedad de ligandos lipofílicos, desempeñando un papel esencial en el desarrollo embrionario, la reproducción, el mantenimiento de fenotipos celulares, el metabolismo, la inflamación y la muerte celular, de tal manera que la desregulación en su expresión se asocia a diversas patologías como el cáncer, la inflamación crónica, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares. La descripción del primer receptor de esta familia se llevó a cabo en 1985 con técnicas de clonación; a partir de ese momento, el repertorio de receptores se ha ampliado hasta incluir 48 miembros en los seres humanos. La mayoría de los RN están regulados endógenamente por ligandos lipofílicos, tales como las hormonas esteroideas, los retinoides y los fosfolípidos; sin embargo, esta familia de receptores también contiene miembros *huérfanos* para los que aún no se ha reconocido un ligando.

Mecanismo de acción general de los receptores nucleares

De manera breve, la vía de transducción de señales de estos receptores empieza con la unión del ligando que atraviesa la membrana por difusión simple, lo cual induce cambios conformacionales en el receptor, esto, a su vez, provoca la translocación del receptor hacia el núcleo para poder unirse a secuencias específicas de ADN en todo el genoma, conocidas como *elementos de respuesta* (ER). Una vez que el receptor activado se une al ER, las proteínas correguladoras de la cromatina y la maquinaria transcripcional son reclutadas hacia el ADN para activar o reprimir la expresión del gen diana. Existen miles de genes controlados por estos receptores, lo que hace que su regulación juegue un papel fundamental en su función. Durante los últimos años, nuestro conocimiento de la familia de los RN se ha ampliado significativamente, gracias a los avances en las metodologías estructurales de los

dominios de los receptores y de los complejos que forman, así como a la identificación de nuevas proteínas correguladoras que modulan la actividad de estos receptores. Estos avances han permitido el desarrollo de sustancias que permiten regular la función de estos receptores; sin embargo, debido a la gran cantidad de genes que regulan y el hecho de que muchos fármacos no son altamente específicos para un solo tipo de receptor, los fármacos dirigidos a los RN tienden a tener efectos adversos. Aún queda un largo camino para comprender todos los mecanismos que guían la regulación de los RN. Comprender de manera más detallada cada una de las etapas involucradas en la vía de transducción de señal de estos receptores permitirá allanar el camino para la implementación de terapias más seguras.

Clasificación

A la fecha, se ha intentado clasificar a los RN de diferentes maneras. Algunos criterios toman en consideración el ligando que activa cada receptor; sin embargo, esta tarea se dificulta cuando se considera la formación de heterodímeros conformados por monómeros de diferentes receptores, también se ha propuesto la clasificación por su unión a la proteína chaperona Hsp90, siendo el grupo 1 en el que se une y el grupo 2 el que no tiene esta proteína; si bien esta clasificación funcional es importante para evidenciar un nivel de regulación, nuevamente nos enfrentamos a un problema, ya que no son considerados varios miembros al no conocerse su ligando y, por lo tanto, su unión a dicha proteína. De manera muy general a nivel funcional, los RN se pueden dividir en dos subfamilias principales: los identificados como receptores de hormonas esteroideas y los receptores de hormonas no esteroideas. Los receptores de hormonas esteroideas funcionan normalmente como dímeros y se encuentran comúnmente en el citoplasma en estado basal en un complejo con proteínas chaperonas, que se liberan al unirse el ligando. La migración al núcleo y la interacción con otros reguladores de la transcripción permiten regular la expresión génica. Por otro lado, los receptores de hormonas no esteroideas suelen encontrarse normalmente en el núcleo en un estado no ligado e interactúan con otros receptores nucleares para formar heterodímeros, así como con otros reguladores de la transcripción, lo que provoca cambios en la expresión tras la unión del agonista.

Nomenclatura NC-IUPHAR

Dada esta complejidad de la familia de RN, ha resultado útil desarrollar una clasificación basada en las secuencias de los receptores nucleares, utilizando la sistemática molecular. La filogenia de la familia de receptores nucleares define siete subfamilias, cada una de las cuales agrupa varios genes parálogos. Este sistema también es útil para el establecimiento de una nomenclatura que pueda evitar el uso de numerosos nombres para el mismo receptor. En este nuevo sistema de clasificación, cada receptor nuclear se describe con las letras NR, por sus siglas en inglés, y un identificador de tres dígitos, este denota la subfamilia a la que pertenece un determinado receptor (indicado por el primer dígito, un número arábigo), el grupo (letras mayúsculas) y el gen

individual (números arábigos). Por ejemplo, el receptor humano de la hormona tiroidea alfa, que pertenece a la subfamilia I grupo A y que es el primer gen descrito de ese grupo, se denomina NR1A1. En la Tabla 7.1. se muestra esta clasificación de forma más detallada. Este sistema es lo bastante flexible como para integrar receptores nucleares de otras especies, así como secuencias generadas a partir de proyectos genómicos para los que aún no se dispone de datos experimentales. Esta nomenclatura, propuesta en 1999, ha sido aprobada por los principales grupos del sector y por el Comité de Nomenclatura de Receptores y Clasificación de Medicamentos de la Unión Internacional de Farmacología Básica y Clínica (NC-IUPHAR).

Tabla 7.1. Clasificación de la familia de receptores nucleares humanos

Subfamilia	Grupo	Nombre común	Abreviatura común	NC-IUPHAR	Nombre del Gen	Ligando
0	B	Región crítica congénita de hipoplasia suprarrenal sensible a la dosis en el cromosoma X, Gen 1	DAX1	NROB1	NROB1	Huérfano
		Asociado heterodimérico corto	SHP	NROB2	NROB2	Huérfano
1	A	Receptor de la hormona tiroidea- α	TR α	NR1A1	THRA	Hormona tiroidea
		Receptor de la hormona tiroidea- β	TR β	NR1A2	THRB	Hormona tiroidea
	B	Receptor de ácido retinoico- α	RAR α	NR1B1	RARA	Ácido retinoico
		Receptor de ácido retinoico- β	RAR β	NR1B2	RARB	Ácido retinoico
		Receptor de ácido retinoico- γ	RAR γ	NRTB3	RARG	Ácido retinoico
	C	Receptor activado por el proliferador de peroxisomas- α	PPAR α	NR1C1	PPARA	Ácidos grasos, fibratos.
		Receptor activado por el proliferador de peroxisomas- β	PPAR β	NR1C1	PPARD	Ácidos grasos
		Receptor activado por el proliferador de peroxisomas- γ	PPAR γ	NR1C1	PPARG	Ácidos grasos, prostaglandina J2
	D	Erb- α reverso	REV-ERB α	NR1D1	NR1D1	Grupo hemo
Erb- β reverso		REV-ERB β	NR1D2	NR1D2	Grupo hemo	
F	Receptor huérfano relacionado con el ácido retinoico α	ROR α	NR1F1	RORA	Colesterol, colesterol sulfato	
	Receptor huérfano relacionado con el ácido retinoico β	ROR β	NR1F2	RORB	Ácido retinoico	
	Receptor huérfano relacionado con el ácido retinoico γ	ROR γ	NR1F3	RORC	Ácido retinoico	

	H	Receptor X farnesinoide- α	FXR α	NR1H4	NR1H4	Ácidos biliares
		Receptor X farnesinoide- β	FXR β	NR1H5	NR1H5P	Lanosterol
		Receptor X hepático- α	LXR α	NR1H3	NR1H3	Oxisteroles
		Receptor X hepático- β	LXR β	NR1H2	NR1H2	Oxisteroles
	I	Receptor de la vitamina D	VDR	NR1I1	VDR	1 α ,25-Dihidroxitamina D3
		Receptor X de embarazo	PXR	NR1I2	NR1I2	Xenobióticos
		Receptor de andróstano constitutivo	CAR	NR1I3	NR1I3	Xenobióticos
2	A	Factor nuclear de los hepatocitos-4- α	HNF4 α	NR2A1	HNF4A	Ácidos grasos
		Factor nuclear de los hepatocitos-4- γ	HNF4 γ	NR2A2	HNF4G	Ácidos grasos
	B	Receptor de retinoides X- α	RXR α	NR2B1	RXRA	Á. 9-Cis retinoico
		Receptor de retinoides X- β	RXR β	NR2B2	RXRB	Á. 9-Cis retinoico
		Receptor de retinoides X- γ	RXR γ	NR2B3	RXRG	Á. 9-Cis retinoico
	C	Receptor testicular 2	TR2	NR2C1	NR2C1	Huérfano
		Receptor testicular 4	TR4	NR2C2	NR2C2	Huérfano
	E	Receptor huérfano homólogo sin cola	TLX	NR3E1	NR3E1	Huérfano
		Receptor nuclear específico de las células fotorreceptoras	PNR	NR2E3	NR2E3	Huérfano
	F	Factor de transcripción del promotor río arriba de la ovoalbúmina de pollo α	COUP-TF α	NR2F1	NR2F1	Huérfano
		Factor de transcripción del promotor río arriba de la ovoalbúmina de pollo β	COUP-TF β	NR2F1	NR2F1	Huérfano
		Factor de transcripción del promotor río arriba de la ovoalbúmina de pollo γ	COUP-TF γ	NR2F1	NR2F1	Huérfano
3	A	Receptor de estrógenos α	ER α	NR3A1	ESR1	Estrógenos
		Receptor de estrógenos β	ER β	NR3A2	ESR2	Estrógenos
	B	Receptor relacionado con estrógeno α	ERR α	NR3B1	ESRRA	Huérfano
		Receptor relacionado con estrógeno β	ERR β	NR3B2	ESRRB	Dietilestilbestrol, Tamoxifeno
		Receptor relacionado con estrógeno γ	ERR γ	NR3B3	ESRRG	Dietilestilbestrol, Tamoxifeno
	C	Receptor de glucocorticoides	GR	NR3C1	NR3C1	Glucocorticoides
		Receptor de mineralocorticoides	MR	NR3C2	NR3C2	Mineralocorticoides y glucocorticoides

		Receptor de progesterona	PR	NR3C3	PGR	Progesterona
		Receptor de andrógenos	AR	NR3C4	AR	Andrógenos
4	A	Factor de crecimiento nervioso 1B	NGF1-B	NR4A1	NR4A1	Huérfano
		Factor Nurr 1	NURR1	NR4A2	NR4A2	Ácidos grasos insaturados
		Receptor huérfano derivado de neuronas 1	NOR-1	NR4A3	NR4A3	Huérfano
5	A	Factor esteroideogénico 1	SF-1	NR5A1	NR5A1	Fosfolípidos
		Receptor homólogo hepático 1	LRH-1	NR5A2	NR5A2	Fosfolípidos
6	A	Factor nuclear de células germinales	GCNF	NR6A1	NR6A1	Huérfano

Características generales de las subfamilias

Las características más destacadas de cada subfamilia son las siguientes:

Subfamilia 0: Los miembros de este grupo son únicos entre los RN ya que en sus estructuras solo tienen el dominio de unión al ligando (LBD, ver más adelante en el capítulo), que se pliega de manera similar como el resto de los RN. Sus LBD también contienen motivos que se ven comúnmente en los coactivadores de RN para regular la actividad.

Subfamilia 1: Estos receptores están regulados por una serie de moléculas de señalización lipofílicas, como la hormona tiroidea, los ácidos grasos, los ácidos biliares y los esteroides, lo que los hace reguladores importantes del metabolismo.

Subfamilia 2: Se ha demostrado mediante estudios estructurales que todos estos receptores se unen a los ácidos grasos. Sin embargo, no está claro si estos ligandos desempeñan un papel en la regulación funcional impulsada por el ligando, como se observa en otras clases de RN. El RXR reviste especial importancia, ya que forma complejos heterodiméricos con muchos otros RN y es el único receptor del grupo con una función conocida de *regulación*.

Subfamilia 3: Este grupo comprende los RE, que son reguladores clave de una serie de procesos metabólicos, reproductivos y de desarrollo. Las hormonas derivadas del colesterol, como el cortisol y el estrógeno, regulan los RE a través de la unión directa.

Subfamilia 4: Los miembros de este grupo son indispensables para el desarrollo y el mantenimiento de las neuronas.

Subfamilia 5: Aunque por lo general en la bibliografía previa todavía se clasifican como *receptores huérfanos*, la evidencia sugiere que estas proteínas están reguladas por fosfolípidos. LRH-1 y SF-1 son vitales para el desarrollo y el metabolismo.

Subfamilia 6: Este grupo contiene solo un receptor que permanece en su propia categoría debido a una diferencia crítica en su LBD; no contiene una función activadora HR (AF-H) y se sabe que impulsa el silenciamiento de genes.

Estructura de los receptores nucleares

A pesar de la diversidad en el tamaño, la forma y las cargas de los ligandos activadores, casi todos los miembros de la familia de receptores nucleares comparten una estructura común. A excepción de los receptores atípicos SHP y DAX, la estructura general está formada por cinco dominios: A, B, C, D y E (Figura 7.1). Cada uno de estos subdominios desempeña un papel específico en la función del receptor, partiendo del extremo N-terminal al C-terminal. La región A/B comprende el primer dominio de activación transcripcional (AF-1), más adelante se encuentra la región C donde se ubica el dominio de unión al ADN (DBD). La región D contiene una secuencia de localización nuclear llamada *NLS*, además de actuar como bisagra entre la región C y E, para favorecer los cambios conformacionales de los RN. Más cercana al C-terminal se ubica la región E, que contiene el dominio de unión al ligando (LBD) y un segundo dominio de función de activación transcripcional (AF-2). Por último, algunos RN presentan una región F relacionada con la modulación de su actividad. El tamaño de los RN puede variar, pero en general se encuentran entre los 66 y los 100 kDa. A continuación, se describen con más detalle cada una de las regiones.

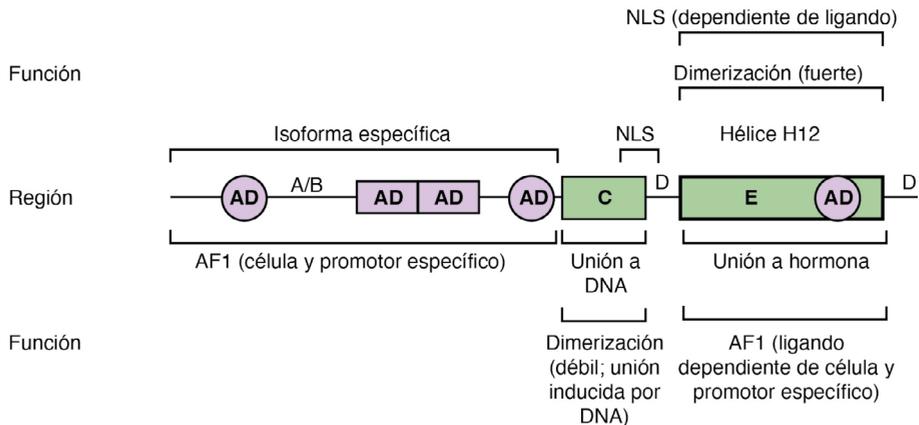


Figura 7.1. Estructura general de los receptores nucleares.

Región A/B o NTD funciona como región reguladora, permitiendo la especificidad de las isoformas; Región C o DBD permite la unión del receptor al elemento de respuesta dentro del ADN; Región D o bisagra brinda la capacidad de adaptarse a un espacio físico y darle movimiento al receptor; Región E o LBD es el sitio donde se une el ligando; Región F presente en algunos receptores y permite regular su función. AD (dominio de activación); AF1 (función de activación 1); NLS (secuencia de señalización nuclear).

Región A/B o dominio N-terminal (NTD)

El NTD es el dominio que ha sido más difícil de analizar, ya que es altamente desordenado, por lo que es poco susceptible para realizarle un análisis estructural de cristalografía. Además, es el dominio más variado dentro de los RN debido a que hay una gran disparidad en el tamaño de este dominio, pudiendo ocupar casi la mitad de la secuencia de aminoácidos en el receptor de mineralocorticoides (MR), o solo unos pocos aminoácidos, como en el receptor de la vitamina D (VDR) (Figura 7.2).

La región A/B contiene la secuencia de aminoácidos para la función activadora 1 (AF1), que tiene como función interactuar con una variedad de proteínas correguladoras de forma específica para cada célula y promotor. En todos los NR, la mayor parte del dominio está desordenado; sin embargo, el NTD del receptor de glucocorticoides (GR) puede adoptar una estructura de alfa-hélice cuando los correguladores están unidos. Esta región también da lugar a múltiples isoformas a través de corte y empalme alternativo, como se ha descrito en el receptor de hormona tiroidea (TR) y el GR. Por último, esta región es el objetivo de varias modificaciones postraduccionales, como la sumoilación, la acetilación y la fosforilación, de las cuales se hablará más adelante en este capítulo. Estas modificaciones tienen efectos diversos, tanto para activar como para reprimir la transcripción.

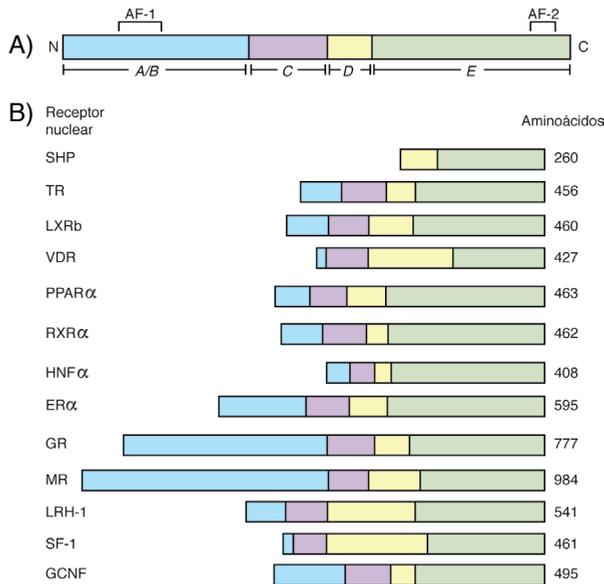


Figura 7.2. Comparación del dominio NTD en diferentes receptores nucleares.

En el inciso A se muestra la estructura típica de un receptor nuclear genérico. En el inciso B se observa la diferencia en los diferentes dominios, especialmente en el dominio A/B que permite la regulación y diferencia entre isoformas del mismo receptor.

Dominio de unión al ADN (DBD)

Esta región es la más conservada entre todos los receptores nucleares. Estructuralmente el DBD tiene dos subdominios, cada uno con cuatro residuos de cisteína que coordinan iones de zinc para crear el motivo canónico de dedo de zinc de unión al ADN. Cada dedo de zinc va seguido de una hélice anfipática y un bucle peptídico. El primer subdominio contiene la hélice lectora de ADN, que interactúa con el surco principal para realizar interacciones base-específicas con el ADN. La hélice del segundo subdominio realiza contactos inespecíficos con el esqueleto del ADN. El bucle peptídico de este subdominio contiene la caja distal (caja D), que contiene residuos para la dimerización del receptor. Algunos RN, como el LRH-1 y el GCNF, contienen una extensión C-terminal del DBD (CTE) que hace contactos adicionales específicos de base dentro del surco menor del ADN (Figura 7.3).

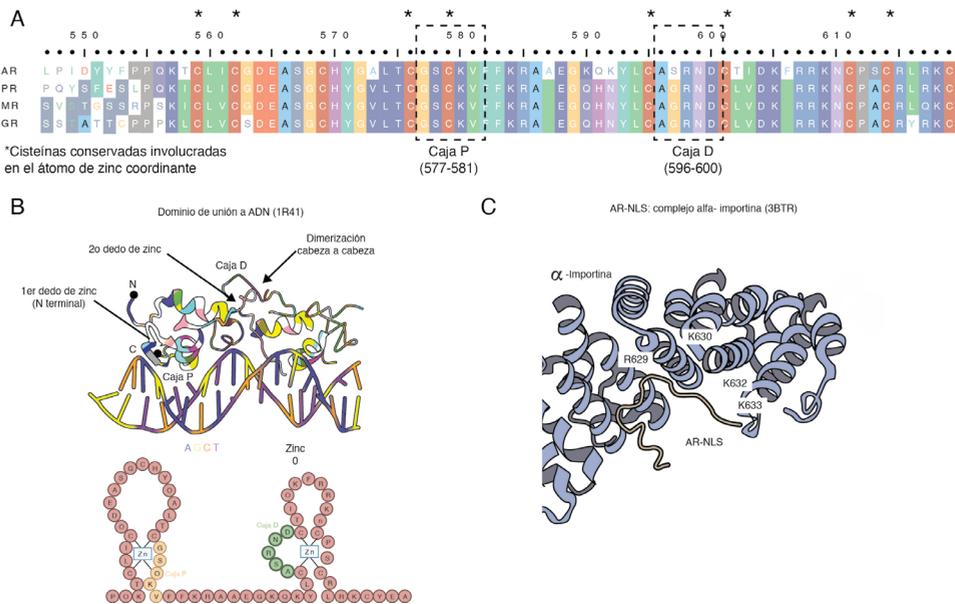


Figura 7.3. Secuencias y estructura del dominio de unión al ADN.

En el inciso A se muestran las secuencias consenso del DBD de cuatro receptores nucleares, se observan las cisteínas involucradas en la unión con los iones de zinc para su unión al ADN. En los incisos B y C se aprecia la estructura tridimensional de la interacción del receptor con su respectiva secuencia de ADN.

Dominio de bisagra

La región bisagra permite la unión flexible entre el DBD y el LBD. Esta región es la que tiene menos similitud de secuencia y tamaño entre los RN. Al igual que el NTD, esta región también es un lugar para las proteínas reguladoras. La bisagra también puede contener una señal de localización nuclear (NLS).

Dominio de unión al ligando (LDB)

El LBD es un complejo dominio de señalización alostérica que no solo se une a los ligandos, sino que también interactúa directamente con las proteínas correguladoras. Este dominio estructuralmente conservado suele contener 11 α -hélices y cuatro β -plegadas que se pliegan en tres capas paralelas para formar un tipo sándwich alfa-helicoidal. Este plegamiento crea un bolsillo o espacio hidrofóbico de unión al ligando (LBP) en la base del receptor. La superposición de las estructuras del LBD de los RN revela que la parte superior del receptor es más conservada entre los diferentes RN, mientras que la base, que contiene el LBP es más variable. Esta variabilidad entre los RN en la región de unión al ligando les permite reconocer diferentes tipos de ligandos. El LBD contiene otra secuencia de función de activación llamada AF-2, que está compuesta por las hélices 3, 4 y 12. Se ha demostrado que la hélice 12 o la hélice de función de activación (AF-H) es conformacionalmente dinámica tras la unión del ligando, alterando la orientación de la AF-2 para facilitar la interacción con diferentes proteínas correguladoras (Figura 7.4).

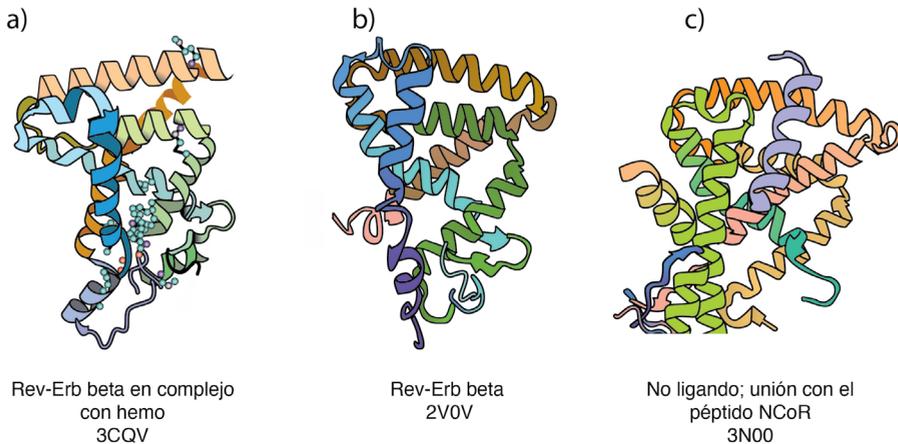


Figura 7.4. Estructura del LBD.

En el inciso A se observa la estructura del LBD unido a un grupo hemo. En los incisos B y C se muestra el LBD sin ligando.

Región F

Por último, en cuanto a la estructura general de estos receptores, se destaca la región F, ya que no todos los RN poseen esta secuencia, de tal manera que es el dominio del que menos se conoce su estructura y función. Sin embargo, en los receptores que sí la presentan, como el HNF4 α , se ha demostrado que pueden reprimir la activación del receptor al bloquear el AF-2 que se encuentra dentro del LBD, impidiendo de esta manera la entrada de los respectivos coactivadores.

Relación estructura función

Una vez revisado con detalle la estructura de los RN, no es de sorprender lo importante que es mantener estos dominios estructuralmente estables, ya que de ello depende la función de todos los receptores. Es importante mencionar que estos dominios trabajan en conjunto para realizar la transducción de una señal externa a la célula hasta el núcleo de esta, para poder regular la expresión de diferentes genes diana. Para lograr esto, es indispensable que el ligando sea capaz de unirse al receptor que, a diferencia del resto de las otras familias de receptores revisadas en esta obra, no se encuentran en la membrana celular sino en el citoplasma o en el núcleo, esto se traduce en una diferencia importante en el tipo de aminoácidos que componen a estos receptores, ya que no requieren de regiones lipofílicas para mantenerse estables, pero sí para interactuar con el ligando. En la sección anterior de este capítulo se mencionaron las regiones que constituyen a los RN, dejando ver la función general de estos dominios. Además que el nombre es bastante claro al respecto, de tal manera que en esta sección se pretende relacionar la estructura completa del receptor y sus interacciones con otros receptores.

Formación de monómeros, homodímeros y heterodímeros

Hasta el momento, solo se ha abordado a los RN como monómeros y si bien generalmente se encuentran así en solución, esto cambia cuando se activan y se unen al ADN, ya que normalmente forman complejos de orden superior, tanto con otros receptores como con moléculas correguladoras. Los RN pueden ser monoméricos en el ADN, por ejemplo, el factor esteroideogénico 1 (SF-1), pero es más frecuente encontrarlos como homodímeros, como sucede con el ER o en complejos heterodiméricos con el RXR y el THR o el VDR. Esto aumenta el tamaño y la complejidad general de los RN, lo que permite acceder a nuevas superficies para las modificaciones postraduccionales o la unión de correguladores. El LRH-1, el NGF1-B y el SF-1 se encuentran entre los pocos RN que se unen al ADN como monómeros. Estos receptores utilizan el CTE dentro de sus DBD para facilitar contactos adicionales con el ADN dentro del surco menor, ampliando su interacción con el ADN. Los miembros de la subfamilia SR suelen formar homodímeros. La estructura del LBD del ER muestra que H8, H9, H10 y los bucles 8 y 9 de cada monómero interactúan para formar un homodímero. Esto contrasta con el dímero del GR, que muestra una interfaz de dímero única que no se ve en otros RN. Por último, el resto de la superfamilia de RN suele formar heterodímeros con el RXR. De forma similar a la estructura del ER, la interfaz de dímero se forma entre H7, H9, H10, H11 y los bucles 8 y 9.

Formación de complejos receptor-correguladores

Investigaciones recientes han ayudado a entender de manera más detallada el funcionamiento de estos RN, dejando claro que existe una gran cantidad de factores, generalmente componentes de complejos transcripcionales multiproteicos, que median la función de los RN. Entre ellos, se encuentra la familia de proteínas del factor intermediario de la transcripción/coactivador

de receptores nucleares/coactivador de receptores de esteroides (TIF/NCoA/SRC) p160; la arginina metiltransferasa-1 asociada al coactivador (CARM1); la proteína de unión a E1A 300 (EP300, también conocida como p300/CBP); el factor asociado a p300/CBP (PCAF) y las histonas acetil-transferasas (HAT). Algunas de ellas pueden formar complejos estables en promotores afines, pero no necesariamente en solución; las proteínas remodeladoras de la cromatina dependientes de ATP, como el factor Switch (SWI-SNF) y la holoenzima de la ARN polimerasa II (TFIID) y los complejos mediadores. Además, se ha descrito que otras numerosas proteínas individuales regulan la función de los receptores nucleares. En consecuencia, los modelos de regulación transcripcional se han vuelto cada vez más complejos y específicos para cada tejido y receptor. Esto queda claro en el del promotor pS2 regulado por estrógenos, que tiene un patrón sorprendente de asociación ciclo-temporal de una multitud de factores de transcripción (Figura 7.5). Más adelante en este capítulo, se retomará de forma más detallada la participación de los corre reguladores en la vía de transducción de señales de los RN.

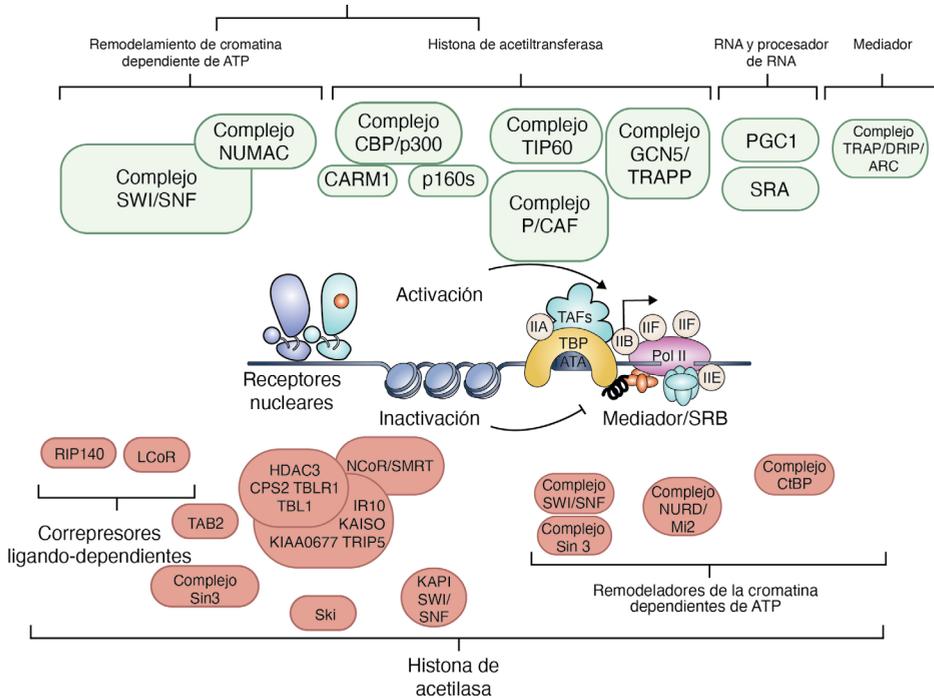


Figura 7.5. Complejos coactivadores y correpresores formados por la unión del receptor nuclear.

La unión de los receptores nucleares permite el reclutamiento de moléculas activadoras y represoras que depende de la activación de las histonas acetiltransferasas y deacetilasas, respectivamente.

Transducción de señales de los receptores nucleares

La vía de transducción de señal de los RN se ha enfocado en la regulación que ejercen estos sobre la expresión de los genes blanco, mediada por la activación del receptor al unirse a su ligando correspondiente, conocida como la *vía genómica o clásica*. Sin embargo, la visión actual es un poco más compleja, ya que se ha demostrado que estos receptores pueden tener efectos sobre la expresión de los genes de manera independiente de ligando, mientras que la respuesta mediada por la unión del ligando puede resultar en activación, represión, depresión o transrepresión, además de presentar efectos no genómicos al localizarse en la membrana y desencadenar cascadas de señalización al igual que lo hacen los GPCR, activando segundos mensajeros y la consecuente activación de cinasas o vías que dependen del calcio intracelular (Figura 7.6). A continuación, se describen de manera detallada los pasos que se encuentran involucrados en la vía clásica de los RN.

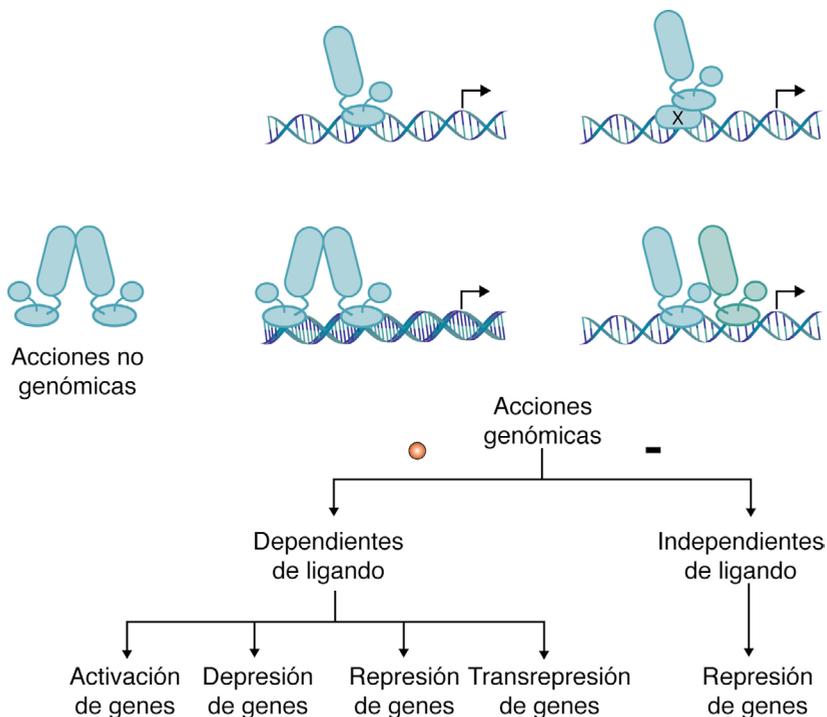


Figura 7.6. Efectos de la activación de los receptores nucleares.

La activación de los receptores nucleares puede desencadenar efectos no genómicos mediados probablemente por segundos mensajeros. Los efectos genómicos dependen de la unión del ligando y pueden provocar activación, depresión, represión o transrepresión de los genes blanco dependiendo de las moléculas correguladoras que se recluten.

Unión del ligando

El primer paso para iniciar la vía genómica de los RN es la unión directa del ligando al receptor que se encuentra dentro de la célula, los cuales son una variedad de pequeñas moléculas lipofílicas, como los esteroides, la hormona tiroidea, los retinoides y los lípidos, que tienen características diferentes a los ligandos de otros receptores, al tener la necesidad de atravesar la membrana de forma independiente al receptor por medio de difusión simple en la mayoría de los casos (Figura 7.7). Este fenómeno tiene implicaciones importantes en la especificidad de la señal, ya que en teoría todas las células de nuestro organismo serían susceptibles a la entrada de estos ligandos, lo que podría explicar la falta de especificidad en los tratamientos que manipulan estos receptores. Más adelante en este capítulo, se plantearán ejemplos de su manipulación terapéutica y de las posibles soluciones para su utilización más segura.

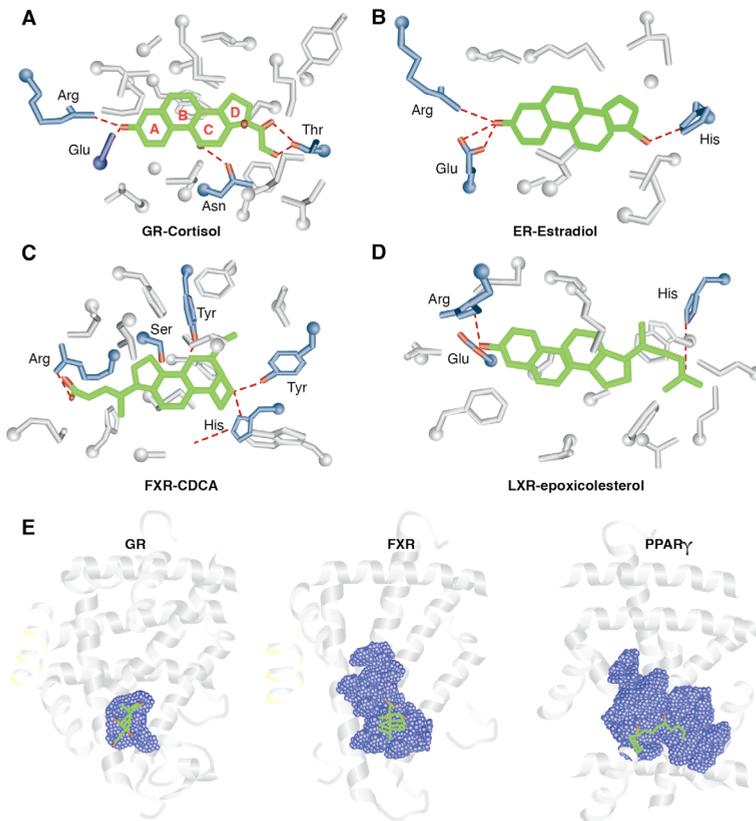


Figura 7.7. Estructura de los principales ligandos y su interacción con el LBD.

En los incisos del A al D se muestran los ligandos de origen lipídico que se unen a los aminoácidos hidrofóbicos del LBD. En el inciso E se muestra la interacción del ligando en tres tipos de receptores nucleares.

De los 48 RN descritos en el humano, la mitad tiene ligandos conocidos y la otra mitad está clasificada como ligandos *huérfanos* o ligandos *huérfanos adoptados*, lo que significa que se ha identificado un probable ligando (ver Tabla 7.1). En ausencia de ligando, los RN tienden a ser inestables, la unión del ligando aumenta, en gran medida, la estabilidad del LBD. Esta estabilización, entre otros factores, facilita la unión de los correguladores. Los ligandos se unen al receptor dentro del LBP en la base del LBD. Esta secuencia está compuesta por un aproximado de 75% de residuos hidrofóbicos, pero también contiene residuos polares críticos que realizan interacciones clave de enlace de hidrógeno con el ligando. Estos enlaces de hidrógeno ayudan a posicionar el ligando en la orientación correcta (Figura 7.7).

A manera de ejemplo, los ligandos endógenos de los SR están compuestos por un andamiaje rígido de cuatro anillos fusionados, que posiciona varios donantes y aceptores de enlaces de hidrógeno para interactuar con el receptor. Los SR utilizan una glutamina conservada en H3 y una arginina en H5 para bloquear el anillo A del ligando en su lugar. Un ejemplo sorprendente de la importancia de estas redes de enlaces de hidrógeno en la LBP se observa en los ligandos FXR y LXR; aunque son similares, estos ligandos se unen en orientaciones completamente opuestas debido a la red de enlaces de hidrógeno disponible dentro de la LBP. Estas diferencias aseguran que los ligandos naturales se unan al receptor correcto. La selección del ligando se consigue, además, gracias a la gran diferencia en el tamaño de los bolsillos de unión del ligando entre los RN. Por ejemplo, los volúmenes de los bolsillos LBP de los SR tienden a ser de 400-600 Å³ y de 700-850 Å³ para los FXR y LXR, y de casi 1300 Å³ para los PPAR. El volumen del bolsillo suele corresponder al tamaño del ligando, lo que sugiere que un componente significativo de la selección del ligando proviene del impedimento estérico.

Activación de los receptores nucleares

Es importante recordar que los RN suelen encontrarse en forma inactiva en el citoplasma, unidos a moléculas chaperonas que los mantienen estables y con alta afinidad por el ligando, esto se debe a que después de su síntesis, los RN deben pasar por un proceso de maduración asistido por la proteína de choque térmico antes de ser receptivos para la unión del ligando. Durante la maduración, los RN se unen primero a la Hsp70 para después ser transferidos a la Hsp90 a través de la proteína organizadora de la Hsp (Hop), que se une a ambas chaperonas a través de dos dominios separados de repetición de tetratricopéptidos (TPR). Los dominios TPR son estructuras solenoides α -helicoidales que consisten en tres o más repeticiones de tetratricopéptidos en tándem, cada una de las cuales contiene una secuencia altamente degenerada de 34 aminoácidos. El complejo RN-Hsp90 se estabiliza aún más en su forma unida al ATP por p23. La presencia de ATP debilita la afinidad de Hsp90 por Hop, permitiendo así el reclutamiento de otras proteínas que son conocidas como inmunofilinas. Finalmente, este proceso de ensamblaje y maduración produce un complejo inactivo NR-Hsp90 grande y oligomérico con alta afinidad de unión a los ligandos.

La unión del ligando regula la asociación y disociación de Hsp90 con el RN, alterando la estructura de este y afectando así las propiedades superficiales del receptor y activándolo para su internalización al núcleo. Esta teoría de inactivación fue comprobada en modelos en que esta asociación impedía la unión al ADN; además, esta teoría fue apoyada por la noción de que la delección del dominio de unión al ligando (LBD) genera receptores constitutivamente activos que no forman complejos oligoméricos estables con Hsp90 *in vitro*, lo que sugiere que la interacción con Hsp90 es responsable de la función represora de los LBD no ligados.

Transporte a través de los poros nucleares

Tras la activación de los RN por la unión del ligando, estos adquieren la conformación necesaria para ser transportados hacia el núcleo a través de los poros nucleares embebidos en la membrana nuclear. Estos poros están constituidos por más de 100 proteínas llamadas de forma genérica *nucleoporinas* (NUPS), siendo las más importantes para el transporte de los RN las que tienen repetidos de fenilalanina-glicina (FG). Este proceso de entrada del RN al núcleo se conoce como *importación nuclear* y requiere de proteínas específicas llamadas importinas α y β que reconocen, dentro del receptor, a las llamadas secuencias de localización nuclear (NLS), lo que provoca un aumento de la cantidad de factores de transcripción dentro del núcleo y, por lo tanto, regulación en la expresión de los diferentes genes blanco. Por otro lado, la salida hacia el citoplasma es un proceso llamado *exportación nuclear*, que requiere la participación de proteínas llamadas *exportinas*, las más importantes son la exportina CRM-1 y la calreticulina (CRT), que reconocen a las secuencias de exportación nuclear (NES) (Figura 7.8).

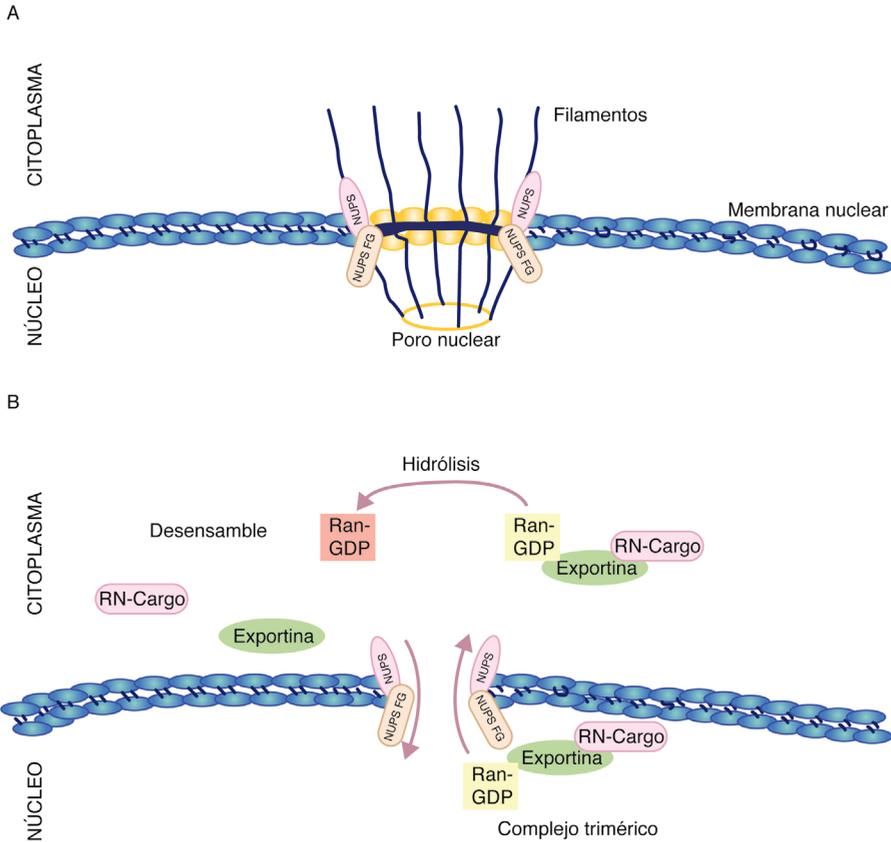


Figura 7.8. Estructura del poro nuclear por el cual son transportados los receptores nucleares.

El poro nuclear está constituido por filamentos nucleares y citoplasmáticos, además de nucleoporinas ricas en repetidos de fenilalanina y glicina (NUPS FG). En el inciso B se muestra la formación del complejo trimétrico entre la exportina, el receptor nuclear y la proteína Ran-GTP, necesario para la salida del receptor del núcleo y la subsecuente hidrólisis de Ran-GTP para liberar el receptor al citoplasma.

Unión a los elementos de respuesta

Ya dentro del núcleo, los RN deben unirse al ADN mediante el DBD para modular la expresión de los genes diana, al permitir el reclutamiento de los diferentes correguladores. Esta unión es altamente específica gracias a los elementos de respuesta (ER), que son secuencias consenso dentro de la región promotora de los genes diana (Figura 7.9).

Los DBD de los receptores nucleares se unen a una variedad de ER, cuyas secuencias de nucleótidos pueden adoptar la forma de un palíndromo, una repetición directa o sitios monoméricos extendidos. Estos palíndromos contienen dos repeticiones AGGACA que pueden estar separadas por una

región espaciadora que varía en longitud. Se ha demostrado que la longitud de este espaciador modula alostéricamente a los receptores estrogénicos, dando lugar a diferentes resultados transcripcionales. Sin embargo, la longitud del espaciador más común es de solo 3 pb. Los receptores que se unen a las repeticiones directas incluyen el heterodímero RXR-RAR, el GCNF y el VDR. Estas secuencias están compuestas por dos sitios AGGTCA separados por una secuencia espaciadora de 0 a 5 pb de longitud. Por último, LRH-1 y SF-1 son ejemplos de receptores que se unen a secuencias monoméricas extendidas. Estos ER contienen un sitio AGGTCA, así como una secuencia rica en A/T directamente río arriba.

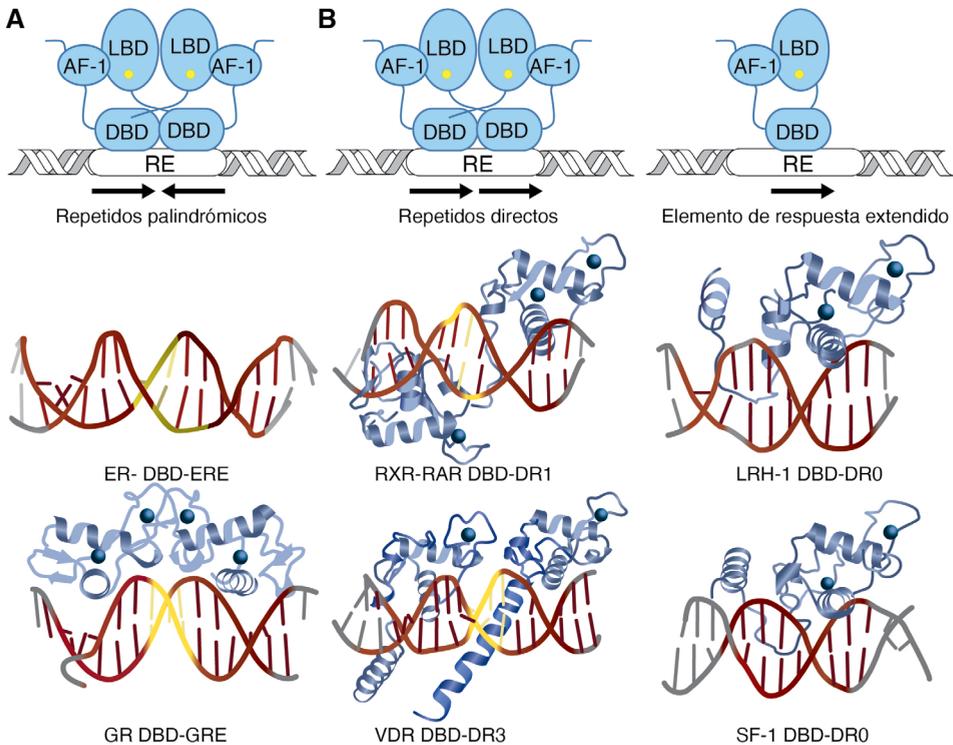


Figura 7.9. Representación esquemática de los elementos de respuesta.

La disposición de los elementos de respuesta puede cambiar dependiendo del tipo de receptor al cual se unen. En el inciso A se muestran los repetidos palíndricos a los que se une el receptor de estrógenos y glucocorticoides. En el inciso B del receptor de vitamina D se muestran repetidos directos en el ADN. En el inciso C se muestra un solo elemento de respuesta extendido como el que utiliza el receptor del factor esteroidogénico 1.

Interacción con los correguladores

Por último, como se había mencionado anteriormente, la respuesta genómica final de los RN sobre la expresión puede ser de activación, represión, depresión o transrepresión. Esta variación en la respuesta se debe a los diferentes correguladores que son reclutados y dependen directamente de la estirpe celular y el RN que esté llevando la señal. Además, se ha visto que existen cambios temporales dentro de la misma célula, lo que dificulta predecir el efecto en todo el organismo.

Actualmente se han descrito más de 200 moléculas que pueden funcionar como correguladores, que se dividen en dos categorías principales: coactivadores y correpresores. Estos interactúan directamente con los NR en las secuencias AF-1 y AF-2. Dado que el AF-1 se encuentra dentro del NTD no estructurado, no se tiene actualmente información estructural sobre estas interacciones. Sin embargo, casi todas las estructuras de los LBD de los RN están cristalizadas con fragmentos de dominios de interacción de los RN y con los correguladores en la superficie AF-2 (Figura 7.10). Las proteínas coactivadoras interactúan con los RN a través de una hélice alfa, que contiene un motivo corto LXXLL (L- leucina, X- cualquier aminoácido). Este motivo interactúa con la superficie AF-2 del RN. Los residuos de leucina del corregulador se encuentran dentro del surco hidrofóbico de la superficie AF-2 y los extremos del péptido helicoidal se mantienen generalmente en su lugar por una abrazadera de carga, formada por una lisina en el H3 del RN y un glutamato en el H12 que tapan el dipolo de la hélice. Los correpresores contienen motivos conservados (L/I)XX(I/V)I o LXXX(I/L)XXX(I/L) (denominados *cajas CoRNR*) (L- leucina, I- isoleucina, X- cualquier aminoácido).

La discriminación entre la unión del coactivador o del correpresor se ha relacionado con la flexibilidad conformacional de H12. El modelo propuesto actualmente para el reclutamiento de estos correguladores es el modelo de estabilización dinámica que sugiere que H12 no está en una posición fija, sino que es dinámico. La unión del ligando estabiliza la hélice en una conformación más fija. En la Figura 7.10 se representa el cambio que sufren estos correpresores bajo el estímulo de un ligando y ubiquitinación.

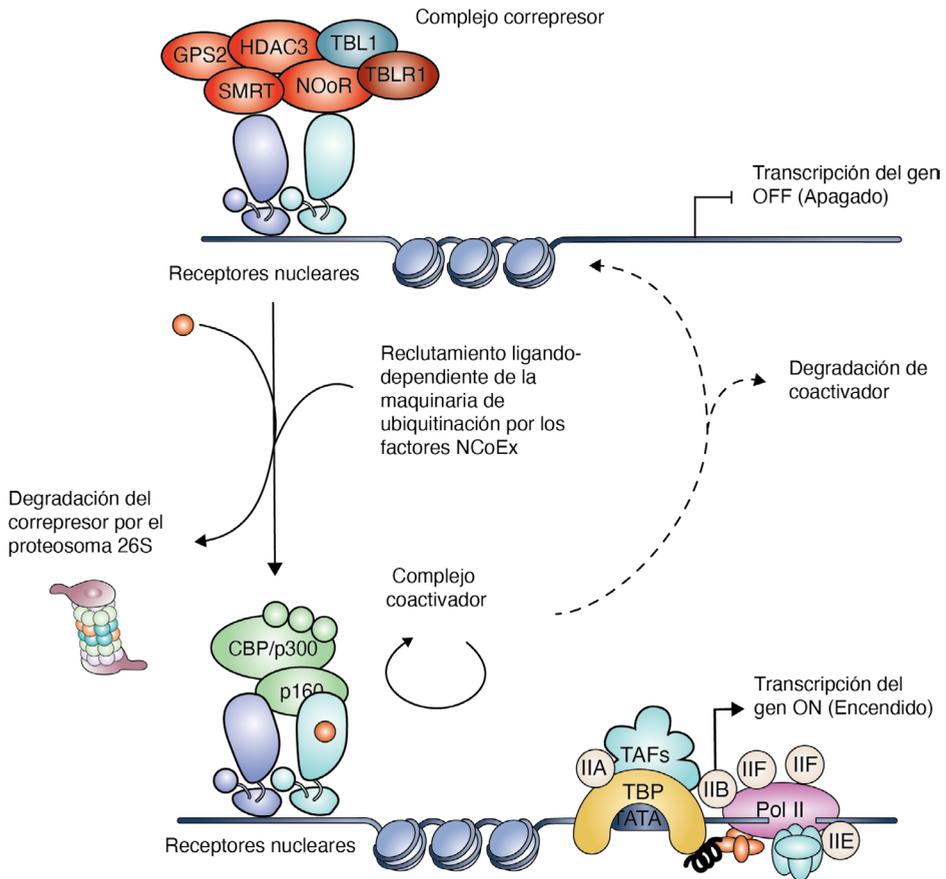


Figura 7.10. Reclutamiento de coreguladores.

Las moléculas del complejo correpresor que mantiene apagada la transcripción genética pueden ser reemplazadas por un complejo coactivador por la presencia del ligando, el cual inicia la señal para la degradación del complejo correpresor por vía del proteosoma 26S.

Regulación

La regulación en la función de estos receptores es indispensable para el correcto funcionamiento fisiológico. Debido a esto, los RN están sometidos a una amplia variedad de mecanismos regulatorios, como pueden ser las modificaciones postraduccionales, la degradación, la estabilidad y el bloqueo de la dimerización, así como por la propia exportación nuclear. Es tan amplia la variedad de RN, que en esta sección se tomarán como referencia los datos que se han reportado para la regulación de los PPAR, en particular los PPAR γ , ya que son los más estudiados, asumiendo que la mayoría de los mecanismos aplican a otros tipos de RN.

Modificaciones postraduccionales

Las modificaciones postraduccionales comprenden todos los cambios que sufren las proteínas después de ser sintetizadas y sirven normalmente para regular la función de dichas proteínas. Estas modificaciones suelen ser reversibles y regulables por estímulos homólogos (provenientes de la misma vía de señalización) o heterólogos (provenientes de otras vías de señalización).

Fosforilación

Numerosos reportes han demostrado que PPAR γ se fosforila tras la estimulación de la vía activada por la MAPK. Una variedad de estímulos como los factores de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento transformante β (TGF β), la insulina, la prostaglandina F_{2a} (PGF₂ a) o el estrés celular, desencadenan la fosforilación de PPAR γ , a través de la activación de las cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK) 1/2 o p38/c-Jun N-terminal cinasa (JNK). El sitio de fosforilación se encuentra en la serina 112 de PPAR γ 2 situado en la región AF-1 dentro de un sitio de consenso para MAPK. El papel funcional de la serina 112 fosforilada (S112ph) es evidente por la disminución de la actividad transcripcional de PPAR γ . El evento de fosforilación no afecta la estabilidad de la proteína PPAR γ ni reduce su actividad de unión al ADN. En su lugar, S112ph inhibe la función de transactivación de PPAR γ mediante el reclutamiento de correpresores o la liberación de coactivadores.

En 2010 se describió un nuevo sitio de fosforilación de PPAR γ (S273ph), se descubrió que la serina 273 se encuentra dentro del motivo consenso de la CDK5 y se fosforila fácilmente por la forma activada de esta cinasa. Al igual que en el caso de S112, la pérdida de fosforilación en S273 tuvo efectos activadores en PPAR γ , pero las consecuencias biológicas exactas fueron muy distintas: no aumentó la actividad adipogénica global de PPAR γ , sino que aumentó un subconjunto específico de genes diana que promueven la sensibilidad a la insulina. Está claro que S112 y S273 no son los únicos residuos fosforilados en PPAR γ , ya que se han identificado otros sitios fosforilados (S133 y T296). Además, recientemente se describió que la fosforilación de Y78, regulada por el protooncogén SRC, tirosina cinasa no receptora (c-SRC) y la proteína-tirosina fosfatasa 1B (PTP-1B) es importante para la regulación de los genes implicados en la expresión de citocinas y quimiocinas (Figura 7.11).

Sumoilación

La sumoilación de PPAR γ con SUMO1, que se describió por primera vez en 2004 fue el residuo de lisina K107 en PPAR γ 2, situado dentro de un motivo de consenso de sumoilación. Mediante el análisis de las células que expresan el mutante K107R, se descubrió que la falta de sumoilación de K107 en PPAR γ se correlacionaba con la activación transcripcional de los genes diana de PPAR γ , y con una mayor adipogénesis. Estos estudios definieron claramente la sumoilación de K107 como una marca represiva para PPAR γ , aunque el mecanismo exacto aún está por dilucidarse.

Una publicación más reciente demostró que PPAR γ también puede ser el objetivo de la modificación por SUMO2 e identificó K63, K94, K98 y K107 en PPAR γ 2 como sitio blanco, de los cuales, los tres primeros sitios se encuentran dentro de un motivo de consenso de sumoilación invertido. La sumoilación en cualquiera de las dos posiciones es perjudicial para la transactivación de PPAR γ . La maquinaria enzimática que interviene en la sumoilación y desumoilación de PPAR γ consiste en la enzima conjugadora de ubiquitina 9 (UBC9, E2 ligasa), el inhibidor proteico de STAT activado (PIAS1/PIASx β , E3 ligasa) y la proteasa específica de SUMO 2 (SENP2, proteasa) (Figura 7.11).

Acetilación

En 2010, se observó por primera vez que PPAR γ puede ser una diana de acetilación de lisina, pero fue hasta el 2012 que otro informe ofreció una visión más detallada de su función biológica. Se identificaron cinco residuos de lisina acetilados en la posición K98, K107, K218, K268 y K293, de los cuales, dos (K268ac y K293ac) podían bloquearse mediante la administración de rosiglitazona o mediante la activación de la desacetilasa dependiente de NAD sirtuina-1 (SIRT1). La desacetilación de ambos residuos, tal y como se observa en los modelos de ganancia de función de SIRT1, tiene efectos metabólicos beneficiosos, lo que conduce al oscurecimiento del tejido adiposo blanco y a la sensibilización a la insulina. Mecánicamente, esto se logró mediante la modulación del reclutamiento de cofactores. En concreto, la desacetilación de K293 favorece la unión del activador adipogénico PRDM16, mientras que la acetilación de K268 y K293 potencia la interacción con el correpresor NCoR. Otro enfoque de espectrometría de masas condujo a la identificación de un total de nueve sitios putativos de acetilación en PPAR γ 1 (incluidos los residuos de lisina correspondientes a K218 y K268 en PPAR γ 2), de los cuales K154 y K155 (K184 y K185 en PPAR γ 2) fueron caracterizados con más detalle. Los mutantes K154/K155A y K154/K155Q mostraron un potencial lipogénico muy reducido en comparación con la proteína silvestre (Figura 7.11).

Ubiquitinación

Recientemente, se han identificado a SIAH2 y MKRN1 como ligasas E3 de PPAR γ , dirigidas a la degradación vía proteosoma de PPAR γ . La actividad de MKRN1 se dirigió principalmente hacia K184 y K185. Se reportó una función inusual de la ubiquitinación de PPAR γ en otras dos publicaciones: en ellas se demuestra que las ligasas E3 que contienen el motivo tripartito 23 (TRIM23) y la célula precursora neural regulada por el desarrollo 4 (NEDD4) confieren una poliubiquitinación atípica a PPAR γ (formación de cadenas de poliubiquitina no mediada por K48), lo que conduce a una menor degradación vía proteosoma y a la estabilización de PPAR γ (Figura 7.11).

O-glucosaminilación

Se ha propuesto que el azúcar N-acetilglucosamina se une por un enlace betaglicosídico a la serina y treonina y actúa como un sensor de nutrien-

tes, vinculando la transducción de señales y la expresión génica al estado metabólico. Por lo tanto, es interesante que se haya descrito que PPAR γ 1 puede modificarse en T54 (correspondiente a T84 de PPAR γ 2), lo que provoca una disminución de su función transactivadora (Figura 7.11).

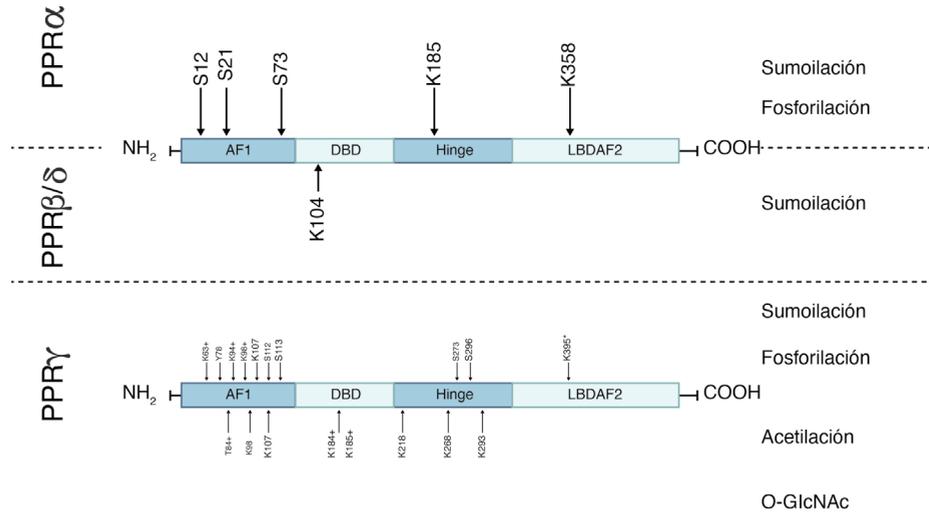


Figura 7.11. Modificaciones postraduccionales de los PPAR.

Se muestra el resumen de los posibles sitios de regulación de los receptores PPAR γ .

Degradación

La degradación de proteínas endógenas está marcada por la ubiquitinación y subsecuente procesamiento en el proteosoma. Los RN pueden ser sometidos a estos procesos; sin embargo, es importante hacer notar que es un proceso más costoso energéticamente para la célula, ya que requiere sintetizar nuevos receptores a diferencia de la regulación postraduccionales descrita anteriormente. No obstante, se ha comprobado que es habitual que los RN activados por ligando sean marcados para degradación y no solo eso, también los correceptores, los coactivadores de la familia SRC, el CBP y el E6-AP también son ubiquitinados. Es posible que la vía del proteosoma sea necesaria para intercambiar los complejos coactivadores entre la iniciación y la elongación de la transcripción.

La hipótesis mencionada anteriormente sobre la degradación del receptor-coactivador sugiere que el recambio del complejo receptor-coactivador es frecuente y continuo, requiriendo cada nuevo complejo concentraciones suficientes de ligando hormonal para ocupar el receptor, un suministro adecuado de receptor (o de receptor recién sintetizado) y una concentración

suficiente de coactivador, para mantener una expresión adecuada del gen diana ante los niveles hormonales apropiados. La regulación descendente (a la baja) o desensibilización es el sello distintivo del sistema endocrino y sirve como un mecanismo importante para evitar la sobreestimulación celular por parte de las hormonas.

Papel fisiológico

La variedad de funciones que conocemos de los ligandos que se unen a estos RN deja en evidencia la relevancia de estos, ya que participan en casi todos los aspectos de la fisiología humana, además del papel de estos receptores en la etiología de muchas enfermedades cuando no funcionan de forma adecuada. Es claro que una comprensión detallada de estos sistemas tiene implicaciones importantes, no solo para entender los aspectos fisiológicos, sino también para la comprensión y el desarrollo de nuevos tratamientos farmacológicos. Actualmente estos tratamientos se ocupan de forma limitada debido a los efectos adversos que han llegado a presentar, sobre todo por la falta de especificidad del tejido. A continuación, se describen algunos ejemplos de estrategias terapéuticas que manipulan la función normal de estos RN.

Fibratos

Los fibratos, tales como el fenofibrato, el clofibrato, el bezafibrato, el ciprofibrato y el gemfibrozilo son un grupo de fármacos que se han utilizado por mucho tiempo para el tratamiento de dislipidemias aterogénicas y que recientemente se han propuesto como una alternativa para el tratamiento de pacientes con diabetes tipo II y con síndrome metabólico, debido a que han demostrado tener efectos cardioprotectores. Los fibratos pertenecen a una clase de fármacos que ejercen sus efectos mediante la activación de RN, específicamente el receptor activado por el proliferador de peroxisomas- α (PPAR α) y, en menor medida, los subtipos PPAR β y PPAR γ .

La unión de los fibratos a los PPAR α provoca que estos factores de transcripción se activen y puedan unirse a sus respectivos elementos de respuesta para regular la expresión de diferentes genes diana, los cuales se relacionan directamente con proteínas y enzimas clave en el metabolismo energético, especialmente en el catabolismo de los ácidos grasos. Esta expresión estimula la oxidación de los ácidos grasos libres en el hígado, reduciendo así la síntesis hepática de lipoproteínas ricas en triglicéridos. Por otro lado, además de reducir la síntesis de triglicéridos, la activación de PPAR α favorece el catabolismo de estos al aumentar la expresión del gen de la lipoproteína lipasa (LPL), enzima responsable de hidrolizar los triglicéridos y los fosfolípidos de las lipoproteínas ricas en triglicéridos en el plasma. Un efecto adicional de los fibratos que activan PPAR α es la inhibición de la síntesis de apolipoproteína C-III (ApoC-III). Dado que la ApoC-III retrasa el catabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, su inhibición constituye otro mecanismo por el cual los activadores de PPAR α reducen la concentración de triglicéridos en plasma.

Los fibratos regulan los niveles de colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL-C), aunque se desconocen los mecanismos precisos, se ha propuesto que estos fármacos aumentan la expresión de las dos principales apolipoproteínas de las HDL, la ApoA-I y la ApoA-II. En general, el aumento de la ApoA-II en plasma es mayor que el de la ApoA-I. Esto da lugar a un aumento de la concentración de partículas de HDL que contienen tanto ApoA-I como ApoA-II, pero una disminución de las que contienen solo ApoA-I. Otra hipótesis sobre el aumento de HDL-C, incluye un incremento del flujo de colesterol celular, secundario a una inducción de la expresión de ABCA1. Los fibratos también reducen los niveles de LDL-C, sobre todo en personas con niveles elevados de LDL-C, sin embargo, tienen poca actividad reductora del LDL-C cuando los niveles de triglicéridos plasmáticos son elevados. Los fibratos también aumentan el tamaño de las partículas de LDL y disminuyen la concentración de restos de lipoproteínas ricas en triglicéridos, finalmente, se ha reportado una disminución directa en la inflamación de la pared arterial. Estos últimos efectos son potencialmente antiaterogénicos y parecen estar mediados por todos los fibratos por igual, lo que los convierte en excelentes alternativas para el tratamiento cardioprotector que requieren los pacientes con síndrome metabólico y diabetes. En la Figura 7.12 se muestra un resumen de los efectos mediados por este grupo de fármacos.

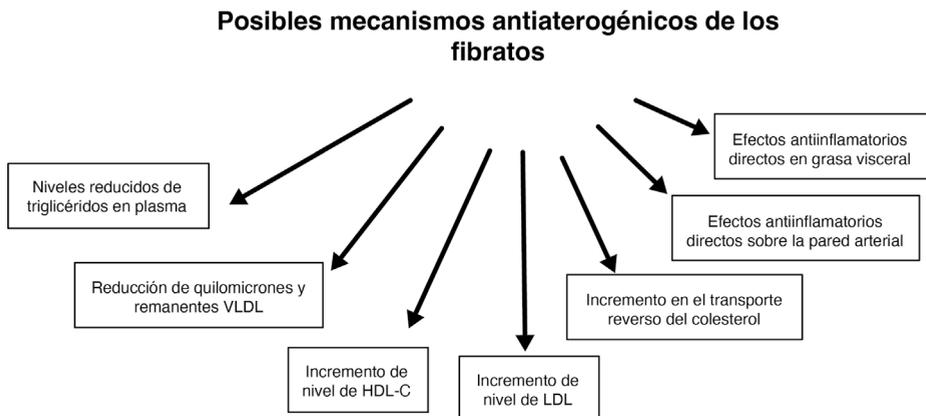


Figura 7.12. Efectos cardioprotectores de los fibratos.

Se muestran los posibles mecanismos por los cuales los fibratos han demostrado tener efectos antiaterogénicos.

Tiazolidinedionas

Durante los últimos años, la diabetes mellitus tipo II (DM-II) se ha mantenido como una enfermedad altamente prevalente, que requiere tratamiento tanto farmacológico como no farmacológico. Actualmente los tratamientos farmacológicos convencionales más utilizados incluyen la insulina y los antidiabéticos orales, tales como las sulfonilureas, las biguanidas, las tiazolidinedionas

(TZD) y los inhibidores de la α -glucosidasa. Dentro de estos grupos destacan las TZD al ser uno de los grupos más recientes con efectos sensibilizadores a la insulina, y que actúan a través de la estimulación de los receptores nucleares PPAR γ .

La unión de las TZD a los PPAR γ puede producir tanto una transactivación como una transrepresión de los genes diana. En el proceso de transactivación, la unión de estos compuestos produce la heterodimerización de PPAR γ con el receptor de retinoides X (RXR) y, por lo tanto, el reconocimiento de los elementos de respuesta al proliferador de peroxisomas (PPRE) en la región promotora de los genes diana. Además, los cambios conformacionales de los PPAR γ dan lugar al reclutamiento de cofactores y coactivadores. Estos coactivadores interactúan con los receptores nucleares de forma dependiente del ligando e influyen en el conjunto de genes transcritos, como son FABP4, PLIN2, LPL, ADIPOQ y CEBPA. Los PPAR γ pueden reprimir la expresión del gen diana, mediante una retroalimentación negativa sobre otras vías de transducción de señales, como el factor nuclear kappa-B (NF- κ B), de manera independiente de la unión al ADN. Las acciones de sensibilización a la insulina mediadas por las TZD se han descrito como un modo de acción directo o indirecto sobre las células, mediante el aumento en el almacenamiento de lípidos y la diferenciación de adipocitos (Figura 7.13).

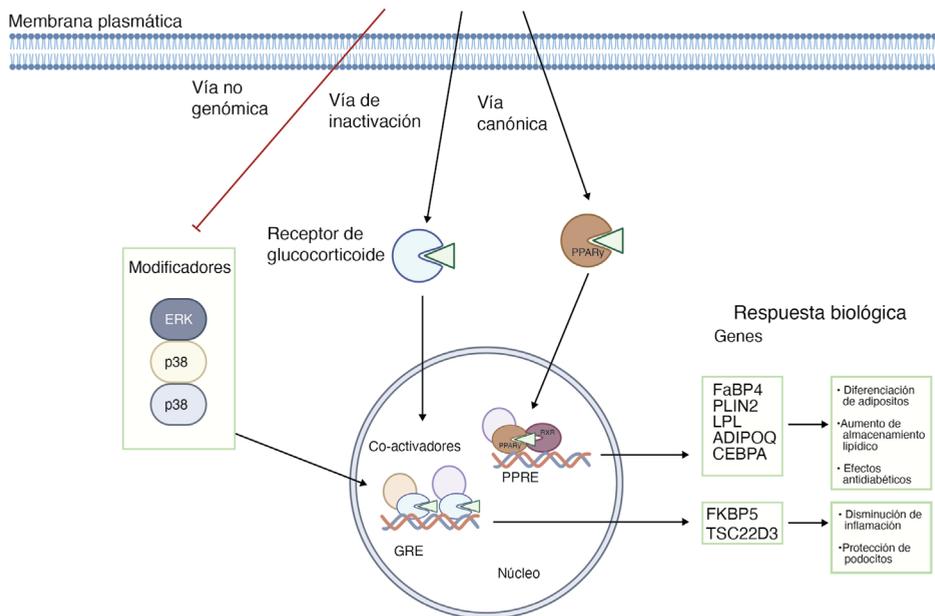


Figura 7.13. Mecanismo de acción de las tiazolidinedionas.

Las tiazolidinedionas se unen principalmente a los receptores PPAR γ , los cuales al ser activados se transportan al núcleo uniéndose a los elementos de respuesta de PPAR (PPRE), provocando la activación de los genes blanco, implicados en los efectos antidiabéticos.

Las TZD se habían colocado como una buena alternativa para el tratamiento de DM-II, debido a su capacidad de estimular a los PPAR γ . Como resultado de esto, reducen la síntesis hepática de glucosa, aumentan la utilización periférica de la glucosa y mejoran el metabolismo de los lípidos. Las TZD aumentan predominantemente la eliminación de glucosa estimulada por insulina en el músculo esquelético. Los efectos antidiabéticos de las TZD se atribuyen unánimemente a su acción agonista sobre el receptor activado por el proliferador de peroxisomas PPAR γ , que se expresa predominantemente en las células grasas. A través de la activación de este receptor nuclear, las TZD modulan la expresión génica, desencadenan la diferenciación de los adipocitos e inducen la remodelación del tejido adiposo, que se asocia con cambios en la salida de señales de los adipocitos. Se cree que las señales derivadas del tejido adiposo, incluidos los ácidos grasos libres y las hormonas peptídicas (adiponectina, resistina, leptina y factor de necrosis tumoral- α) median en la mejora de la eliminación de glucosa del músculo esquelético inducida por TZD.

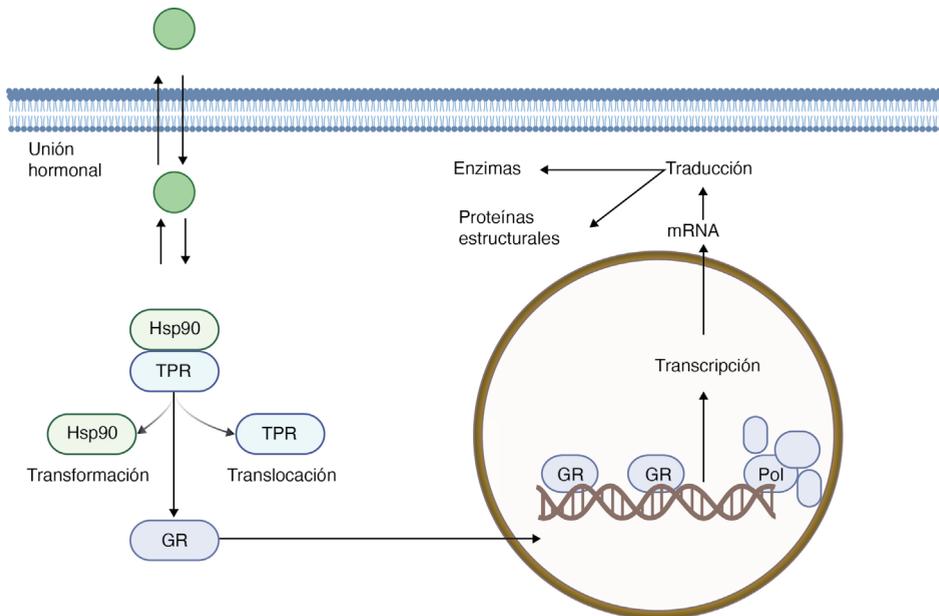
Consecuentemente, se mejora el efecto de la insulina endógena para mantener los niveles normales de glucosa en sangre. Lamentablemente, las TZD utilizadas en la clínica, como la troglitazona, la pioglitazona y la rosiglitazona generan efectos colaterales graves, como hepatotoxicidad, retención de líquidos e incremento del peso corporal. Debido a estos inconvenientes, la troglitazona y la rosiglitazona fueron prohibidas por la FDA y la pioglitazona fue retirada más adelante por el riesgo de provocar cáncer de vejiga.

Corticosteroides

Los corticosteroides son una clase de hormonas esteroides liberadas por la corteza suprarrenal, que incluye a los glucocorticoides y los mineralocorticoides; sin embargo, el término *corticosteroides* suele referirse a los glucocorticoides tanto naturales como sintéticos, con potentes efectos inmunosupresores. Estos fármacos se han convertido en un referente clínico para el tratamiento de numerosas enfermedades inflamatorias y autoinmunes, entre otras, el asma, el shock séptico, la artritis reumatoide, la enfermedad inflamatoria intestinal y la esclerosis múltiple. Desafortunadamente, los beneficios terapéuticos de los glucocorticoides se ven limitados debido a los efectos adversos que se asocian a las dosis altas o al uso crónico. Estos efectos adversos pueden incluir osteoporosis, atrofia cutánea, diabetes, obesidad abdominal, glaucoma, cataratas, retraso del crecimiento e hipertensión y el Síndrome de Cushing.

El efecto de los corticosteroides se ha descrito tanto por mecanismos genómicos como no genómicos, en este capítulo nos centraremos en los primeros. Los efectos genómicos de los glucocorticoides están mediados por el receptor de glucocorticoides (GR). En ausencia del ligando, el GR se encuentra predominantemente en el citoplasma formando un complejo multiproteico que incluye proteínas chaperonas como Hsp90, Hsp70 y P23 e

inmunofilinas como FKBP51 y FKBP52. Este complejo mantiene el GR en una conformación de alta afinidad que favorece la unión del ligando. Al unirse al ligando, el GR experimenta un cambio conformacional que provoca la disociación de las proteínas chaperonas. Esto conduce a una reorganización estructural del GR exponiendo las dos señales de localización nuclear, y el GR unido al ligando se transloca rápidamente al núcleo a través de los poros nucleares. Una vez dentro del núcleo, el GR se une directamente a los elementos de respuesta a los glucocorticoides (GRE) y estimula la expresión de los genes diana (Figura 7.14). El GR se une al GRE como un dímero y cada secuencia está ocupada por un receptor, la unión del GR con el GRE induce cambios conformacionales en el GR que conducen al reclutamiento coordinado de los complejos correguladores que influyen en la actividad de la ARN polimerasa II, provocando la activación de la transcripción o la represión de los genes como los que codifican para la anexina 1, proteína cremallera de leucina inducida por glucocorticoides (GILZ) y proteína cinasa activada por mitógenos fosfatasa 1 (MKP-1).



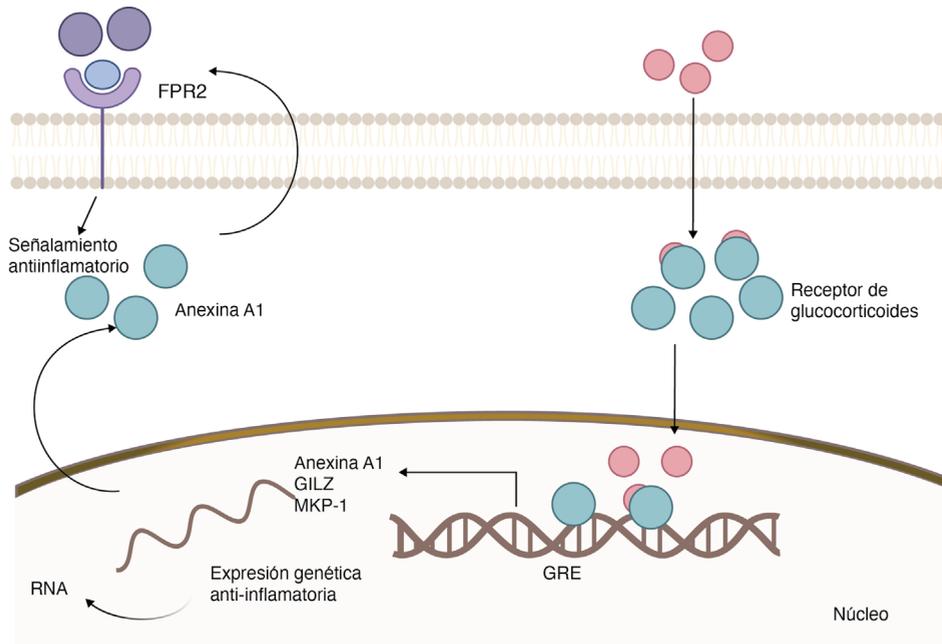


Figura 7.14. Mecanismo de acción de los glucocorticoides.

Los glucocorticoides difunden libremente por la membrana celular para unirse a su receptor, el cual está unido a la proteína Hsp90 y a TPR, la unión del ligando provoca su activación y translocación hacia el núcleo donde se unen a su elemento de respuesta (GRE), provocando la expresión de la anexina, la cual tiene efectos antiinflamatorios.

La regulación transcripcional del GR, al igual que la mayoría de los RN, también es modulada por el reclutamiento de coactivadores, que provocan las modificaciones postraduccionales de histonas. Esta propiedad ayuda a alterar la estructura de la cromatina y el reclutamiento de otros cofactores, lo que hace que la cromatina sea más accesible para los factores generales de transcripción y el complejo de la ARN polimerasa en el promotor del gen objetivo. La identidad de los corre reguladores que contribuyen a la transactivación del GR se ha incrementado en los últimos años hasta alcanzar cientos de ellos. Algunos de los corre reguladores del GR bien estudiados son las proteínas de la familia SRC, los complejos SWI/SNF, NCoR1 y SMRT.

Moduladores selectivos de receptores de estrógenos

La señalización celular de los estrógenos está mediada por dos receptores de estrógenos (RE), el RE α (NR3A1) y el RE β (NR3A2), ambos pertenecientes a la familia de los RN. La identificación del segundo RE ha planteado una compleja vía de señalización de los estrógenos y ha ayudado a explicar la acción

de los estrógenos en los tejidos que no expresan el NR3A1. Además, se han descrito diversas variantes de corte y empalme para ambos subtipos de receptores expresados en diferentes tejidos, lo que dificulta aún más predecir el efecto de los estrógenos naturales, impidiendo su uso terapéutico específico.

Con la intención de tener efectos más selectivos y favorables en los tejidos, actualmente se ha desarrollado una variedad de antagonistas sintéticos de los estrógenos, algunos de ellos se utilizan clínicamente para revertir los efectos promotores del crecimiento de los estrógenos en el cáncer de mama. El término *modulador selectivo del receptor de estrógeno* (SERM, por sus siglas en inglés) describe los ligandos sintéticos del RE que muestran una farmacología selectiva de los tejidos, ya que pueden funcionar como antagonistas, oponiéndose a la acción de los estrógenos en determinados tejidos o pueden hacerlo como agonistas en otros órganos (Tabla 7.2).

Tabla 7.2. Efectos selectivos de los SERM en diferentes tejidos

Compuesto	Cerebro	Mama	Vasculatura	Hueso	Útero
Estrógenos	+	+	+	+	+
Tamoxifeno	+	-	+	+	+
Raloxifeno	ND	-	+	+	-
Droloxifeno	ND	-	+	+	-
Toremifeno	ND	-	+	+	+
Fitoestrógenos	+	ND	+	ND	+

Brevemente, la capacidad de estos SERM de modular de forma diferencial la respuesta a los estrógenos se debe a la capacidad que tienen de reclutar diferentes correguladores al ser activos los RE por sus ligandos y llevados a su respectivo elemento de respuesta a estrógenos (ERE), dentro de los promotores de los genes diana o pueden interactuar con otros complejos de factores de transcripción, como Fos/Jun (elementos de respuesta a AP-1) o SP-1 (motivos SP-1 ricos en GC) e influir en la transcripción de genes, cuyos promotores no albergan ERE. La activación dependiente del ligando desencadena el reclutamiento de una variedad de correguladores al receptor en un complejo que altera la estructura de la cromatina y facilita el reclutamiento de la maquinaria transcripcional de la ARN polimerasa II (Pol II). Curiosamente, en determinados contextos de tipos celulares y promotores, el 4-hidroxitamoxifeno y el raloxifeno, que funcionan como antagonistas en los ERE, pueden comportarse como agonistas a través de estas vías indirectas. RE β , pero no RE α , en presencia de 17- β estradiol puede oponerse a las acciones de 4-hidroxitamoxifeno y raloxifeno en un ensayo de gen reportero.

Es importante mencionar que la diferencia en el efecto final de los estrógenos depende, en gran medida, de los correguladores que sean

reclutados al ERE. En general, se dividen en coactivadores, como la familia SRC (P160) y correpresores, como los de la clase I CoRNR-box. Sin embargo, también participan muchas otras proteínas en la señalización de los RE. Se ha demostrado que existen coactivadores y correpresores en complejos proteícos multifuncionales y aunque se han identificado los componentes de varios complejos, se sabe poco sobre los procesos que controlan el reclutamiento de los factores de transcripción. Un modelo sugiere que están presentes distintos complejos coactivadores y correpresores en un estado preformado y son reclutados al sitio de transcripción dependiendo del estado del receptor nuclear.

Preguntas de integración

En 1999 se estableció la propuesta de la NC-IUPHAR para la nomenclatura de los receptores nucleares. Mencione cuántas subfamilias existen. ¿Qué representa cada término en el nombre NR3A2 y a qué receptor se refiere?

Esquematice en orden de N-terminal a C-terminal los dominios que componen de forma general a la mayoría de los receptores nucleares. Además, mencione brevemente la función de cada uno de ellos.

En el laboratorio se desarrolló un receptor (una variante del receptor androgénico), que tenía una mutación dentro de la región LBP, específicamente en la región AF-H, que provocaba un plegamiento erróneo de esta región. ¿Qué implicaciones tendría esta mutación en la respuesta celular al ser comparada con la del receptor silvestre?

Explique la forma en que son reclutados los corre reguladores y qué determina si es coactivador o correpresor el que debe unirse.

Mencione cuál es el fundamento de por qué es útil el tratamiento de tamoxifeno en el cáncer de mama y cómo se han logrado reducir los efectos adversos de estos compuestos. Es importante mencionar cuál es el efecto de los estrógenos endógenos en el cáncer de mama y qué diferencia hay con estos SERM.

Referencias

- Barter, P. J., & Rye, K. A. (2008). Is there a role for fibrates in the management of dyslipidemia in the metabolic syndrome? *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 28(1), 39-46.
- Brunmeir, R., & Xu, F. (2018). Functional Regulation of PPARs through Post-Translational Modifications. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), 1738.

- Gronemeyer, H., Gustafsson, J. A., & Laudet, V. (2004). Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11), 950-964.
- Heldring, N., Pike, A., Andersson, S., Matthews, J., Cheng, G., Hartman, J., Tujague, M., Ström, A., Treuter, E., Warner, M., & Gustafsson, J. A. (2007). Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. *Physiological Reviews*, 87(3), 905-931.
- Lazar, M. A. (2017). Maturing of the nuclear receptor family. *Journal of Clinical Investigation*, 127(4), 1123-1125.
- Nandur, R., Kumar, K., & Villablanca, A. C. (2004). Cardiovascular Actions of Selective Estrogen Receptor Modulators and Phytoestrogens. *Preventive Cardiology*, 7(2), 73-79.
- Nanjan, M. J., Mohammed, M., Prashantha Kumar, B. R., & Chandrasekar, M. J. N. (2018). Thiazolidinediones as antidiabetic agents: A critical review. *Bioorganic Chemistry*, 77, 548-567.
- Ramamoorthy, S., & Cidlowski, J. A. (2016). Corticosteroids: Mechanisms of Action in Health and Disease. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 42(1), 15-31.
- Tao, Y. J., & Zheng, W. (2011). Chaperones and the maturation of steroid hormone receptor complexes. *Oncotarget*, 2, 104-106.
- Weikum, E. R., Liu, X., & Ortlund, E. A. (2018). The nuclear receptor superfamily: A structural perspective. *Protein Science*, 27(11), 1876-1892.



Contenido temático

- Objetivo
- Introducción
- Receptores acoplados a proteínas G y receptores tirosina cinasa (RTK)
 - > Activación de los RTK mediante la activación de los GPCR
 - > Activación de los receptores GPCR mediante la activación de los RTK
- Receptores acoplados a proteínas G y receptores tipo canales iónicos
- Receptores tirosina cinasa (RTK) y receptores iónicos
- Receptores nucleares y receptores de tirosina cinasa (RTK)
- Preguntas de integración
- Referencias

Objetivos

Este capítulo tiene como objetivo brindar un panorama general sobre el entrecruzamiento de las diferentes vías de señalización comentadas en los capítulos anteriores, ya sea en condiciones fisiológicas o patológicas, haciendo énfasis en las moléculas efectoras de regulación en dicho cruce.

Introducción

Las células son expuestas simultáneamente a varias señales extracelulares. El correcto mantenimiento de la fidelidad del sistema de transducción intracelular resulta en la adecuada amplificación de respuestas biológicas

específicas. La exacta selección de moléculas efectoras ante un estímulo es crucial y conducirá a una apropiada respuesta fisiológica. Sin embargo, las moléculas efectoras *río abajo* en el sistema de transducción intracelular están sujetas a una regulación compleja, dictada por la activación e inactivación de una o varias vías de señalización.

El término *Crosstalk* hace referencia al entrecruzamiento entre dos o más vías de señalización derivadas de la activación de un receptor, ya sea por la unión específica de su ligando o por su activación derivada de algún evento secundario. Una vía de señalización puede entrecruzarse con otra vía de señalización en condiciones fisiológicas, sin embargo, a menudo ocurre bajo condiciones patológicas y en su mayoría es un evento célula-tejido específico. En este capítulo se revisan algunos ejemplos sobre el entrecruzamiento de algunas vías de señalización.

Receptores acoplados a proteínas G y receptores tirosina cinasa (RTK)

Existe un entrecruzamiento de vías de señalización entre los receptores acoplados a proteínas G (G-protein-coupled receptor, GPCR) en la superficie celular y los receptores de tirosina cinasa (RTK), que actúa como mecanismo ubicuo de amplificación de las respuestas de señalización iniciadas. Debido a que este cruce de vías puede ocurrir después de la activación de cualquiera de los dos receptores, se ha denominado *transactivación bidireccional* (Pyne & Pyne, 2011).

Activación de los RTK mediante la activación de los GPCR

Este mecanismo de transactivación provee una explicación para las propiedades mitogénicas de varios ligandos de los GPCR como neurotransmisores y hormonas. La transactivación depende del tipo celular y del tipo de GPCR que haya sido activado, produciéndose así una amplia variedad de posibles combinaciones para activar los RTK. La transactivación de los RTK se puede llevar a cabo por mecanismos dependientes e independientes del ligando.

Mecanismo dependiente de ligando

Algunos ligandos de receptores acoplados a proteínas G, tales como el ácido lisofosfatídico, angiotensina II, trombina, bradicinina y la endotelina tienen efecto estimulador del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Esta activación del EGFR dependiente de GPCR involucra la estimulación de metaloproteinasas unidas a la membrana, las cuales a través de la escisión proteolítica extracelular del pro-HB-EGF (forma latente que atraviesa la membrana de este factor de crecimiento) inducen la liberación extracelular de un ligando análogo, el EGF unido a heparina (HB-EGF). Producto de la unión entre HB-EGF y EGFR se produce la respuesta mitogénica característica de los receptores tirosina cinasa mediada por la vía Raf/MEK/ERK1/2 (Pierce *et al.*, 2001).

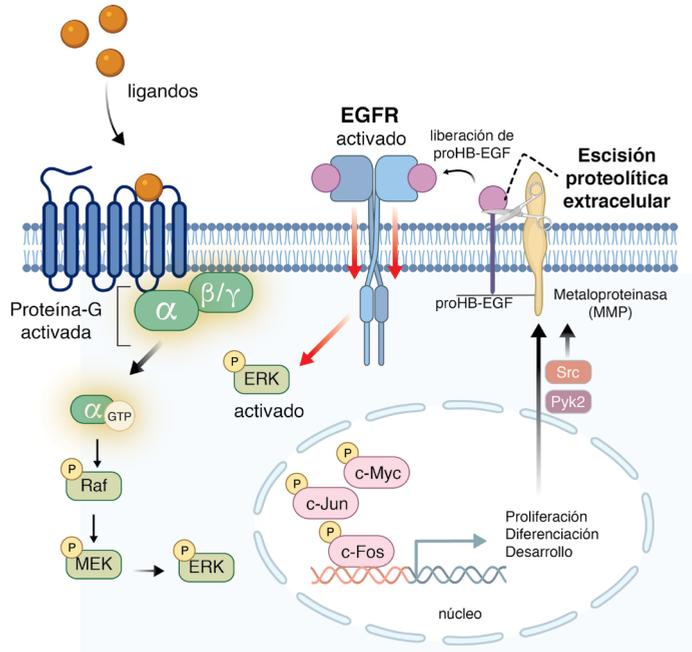


Figura 8.1. Mecanismo dependiente de ligando en el entrecruzamiento entre los receptores GPCR y RTK.

La unión del ligando a su receptor causa la acción efectora de la subunidad α de la proteína G asociada al receptor, la cual enciende río abajo la señalización Raf/MEK/ERK. Una vez activada, ERK se transloca al núcleo y activa factores de transcripción diana como son c-Jun, c-Myc y c-Fos, relacionados con la proliferación y desarrollo celular. Moduladores celulares derivados de esta actividad transcripcional en conjunto con las cinasas Src y Pyk2 estimulan la escisión proteolítica extracelular del pro-HB-EGF por acción de la metaloproteína. El proHB-EGF liberado extracelularmente puede actuar como ligando y unirse al receptor EGFR para inducir su respuesta mitogénica dependiente de ERK.

Como se ha mencionado anteriormente, la unión del ligando a los GPCRs produce la separación de sus subunidades α , β y γ , las cuales son capaces de actuar sobre otras moléculas efectoras. La subunidad α de la proteína G ($G\alpha$) unida al GTP puede activar el efector terciario de la vía de señalización de las MAPK, MAP3K, también conocida como Raf. La proteína Raf activa el efector secundario MAP2K, MEK que, a su vez, activa a ERK1/2, una de las principales MAPK. Cabe mencionar que en levaduras la activación de las MAPK es mediante el dímero G $\beta\gamma$ (Dohman & Slessareva, 2006). Una vez activada ERK1/2 se traslada al núcleo donde fosforila y regula sus proteínas blanco (factores de transcripción c-Myc, c-Jun, c-Fos y Elk-1) relacionados con la proliferación, diferenciación y desarrollo. La activación de MAPK derivada de la unión del ligando con las GPRC involucra otros mediadores, tales como Src y Pyk2, los cuales también son los responsables de la estimulación de las

metaloproteinasas encargadas de la activación de los RTK dependiente de ligando mediante la activación del factor de transcripción AP-1 (Yang *et al.*, 2017) (Figura 8.1).

La mayoría de las investigaciones realizadas sobre la transactivación en dirección a la activación de los RTK son principalmente hechas en fibroblastos y cardiomiocitos, lo cual sugiere que podría tener un papel fundamental en enfermedades como la hipertrofia cardíaca y el cáncer (Asakura *et al.*, 2002; Gschwind *et al.*, 2002; Pai *et al.*, 2002.)

Mecanismo independiente de ligando

La transactivación del EGFR a través de la activación de GPCR independiente de ligando no involucra la participación de las metaloproteinasas y ocurre con la participación directa de las cinasas Src y Pyk2, las cuales son activadas en la señalización río abajo por la activación de los GPCR. Experimentos en fibroblastos embrionarios revelan que Pyk2 forma un complejo con Src, el cual fosforila directamente el EGFR en respuesta a la activación de GPCR (Andreev *et al.*, 2001). Particularmente, la activación del receptor GPCR β -2 adrenérgico modula la función del EGFR mediante la fosforilación directa por Src en los residuos Tyr845 y Tyr1101. (Biscardi *et al.*, 1999; Drube *et al.*, 2006). Además del efecto co-activador de Pyk2 al unirse al EGFR y promover la migración celular, se ha observado que, en respuesta a la activación del receptor de trombina (PAR1), se favorece la regulación transcripcional de la metaloproteinasa-9 mediante la activación de la vía EGFR/PI3K/Akt/ERK1/2/AP-1 (Yang *et al.*, 2017). Estos datos revelan que la función de las proteínas Src y Pyk2 en respuesta a la activación de los GPCR tiene una relevante regulación sobre el efecto mitogénico de los EGFR (Figura 8.2).

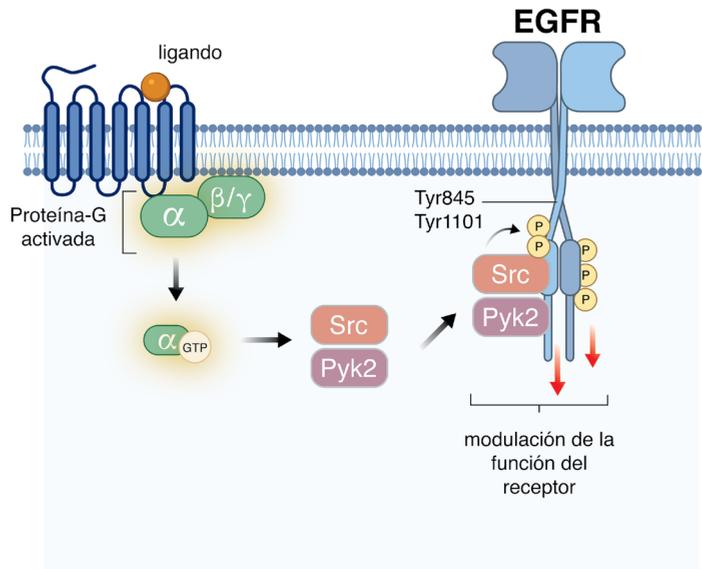


Figura 8.2. Mecanismo independiente de ligando en el entrecruzamiento entre los receptores GPCR y RTK.

La activación de los receptores GPCR por la unión de su ligando activa las cinasas Src y Pyk2 por acción de la subunidad α de la proteína G asociada al receptor. Las cinasas Src y Pyk2 modulan la función del receptor al formar un complejo y fosforilar los residuos Tyr845 y Tyr1101 del dominio intracelular del receptor EGFR.

El entrecruzamiento de vías de señalización entre los GPCR y los RTK no se limita únicamente a la activación de los EGFR, puede ocurrir transactivación de los receptores Trk en respuesta a la activación de GPCR. La activación de los receptores TrkA y TrkB se ha observado en células PC12 y en neuronas de hipocampo, respectivamente, en respuesta al tratamiento con adenosina (Lee & Chao, 2001). La adenosina actúa como neuromodulador sobre los receptores de adenosina $2A$ (A_{2A}) que pertenece a la familia de los GPCR. Dicha transactivación de los receptores Trk es mediada por la cinasa Src, promoviendo el efecto neurotrófico a la adenosina con la subsecuente activación de las MAPK (Figura 8.3).

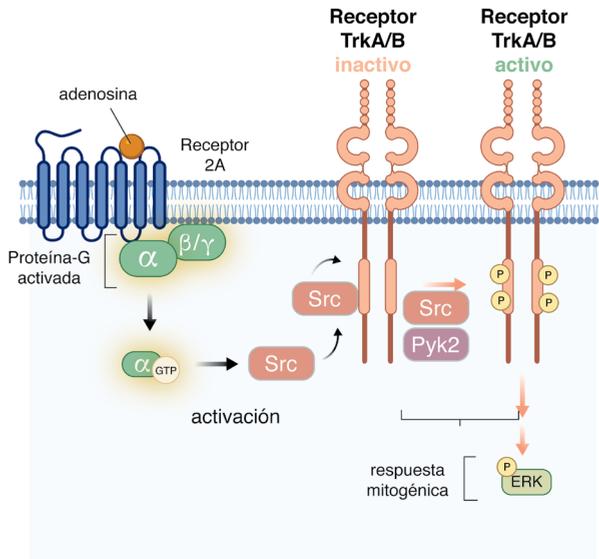


Figura 8.3. Mecanismo independiente de ligando en el entrecruzamiento entre los receptores GPCR y TrkA/B.

La adenosina activa la subunidad α de la proteína G asociada al receptor de adenosina-2A (R2A), lo que causa la activación de la cinasa Src que fosforila directamente a los receptores TrkA en células PC12 y a los receptores TrkB en neuronas de hipocampo. La activación de los receptores TrkA/B se lleva a cabo sin la unión de su ligando, y causa la respuesta mitogénica en respuesta a la activación de los receptores GPCR mediante la activación de ERK.

Mecanismo alternativo

Por otra parte, se ha propuesto una interacción entre ambos receptores, formando un complejo en la membrana plasmática llamado signalosoma, en el cual la proximidad entre ambos receptores tiene influencia sobre la señalización del otro receptor. Dentro de este tipo de interacción entre receptores encontramos, por ejemplo, el entrecruzamiento de señalización entre el receptor de tirotrina (TSHR), que es un GPCR, y el receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF1R), que es un RTK (Krieger *et al.*, 2019, 2020). Krieger *et al.* (2019, 2020) mediante cultivos de fibroblastos/preadipocitos orbitarios de pacientes con la enfermedad de Graves y de tirocitos humanos obtenidos del lóbulo contralateral de pacientes en cirugía por cáncer de tiroides, reportaron que los receptores TSHR y IGF1R co-localizan 40 μm uno del otro, de una manera independiente de ligando. Señalaron que el complejo preformado tiene un incremento en la secreción de ácido hialurónico (HA) en células tratadas simultáneamente con TSH e IGF1, respecto a las tratadas por un solo ligando. A su vez, observaron un aumento en la fosforilación de ERK1/2 y que la actividad del complejo es dependiente de la estabilización de la proteína β -arrestina (Figura 8.4)

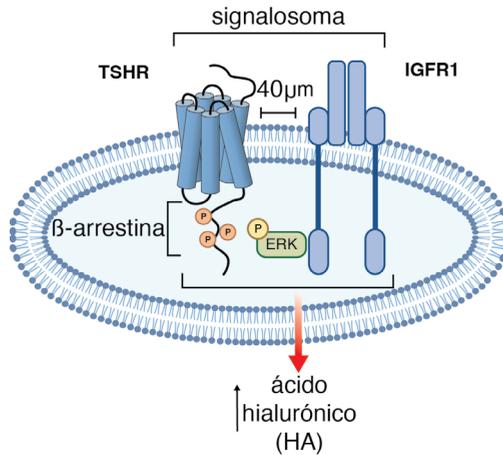


Figura 8.4. Mecanismo alternativo en el entrecruzamiento entre los receptores GPCR y TRK. El receptor TSHR (GPCR) y el receptor IGFR1 (TRK) forman un complejo llamado signalosoma (guardando una distancia de 40 μm entre ellos), necesario para un incremento en la secreción de ácido hialurónico, en un mecanismo que requiere la activación de ERK y la participación de la proteína β -arrestina.

Este tipo de entrecruzamiento puede significar un hallazgo para el diseño de una terapia combinada para el hipertiroidismo y oftalmopatía observada en la enfermedad de Graves en lugar de una terapia única dirigida a IGFR1 o de una terapia única dirigida a TSHR.

Activación de los receptores GPCR mediante la activación de los RTK

Como ya mencionamos anteriormente, la transactivación es un fenómeno bidireccional, por lo que también ocurre la activación de los GPCR en respuesta a la activación de los RTK.

La síntesis y acumulación extracelular de sus ligandos es necesaria para la transactivación de los GPCR mediante la estimulación de los RTK, para ello está involucrada i) la regulación transcripcional y ii) la activación enzimática dictada por los RTK. Un ejemplo de mecanismo dependiente de la regulación transcripcional es la que ocurre entre el receptor 5 de quimiocina (CCR5) y el receptor del factor de crecimiento similar a la insulina tipo-1 (IGFR1) (Mira *et al.*, 2001). Adicionalmente, el CCR5 es un objetivo traslacional para la recuperación neuronal en accidentes cerebrovasculares (ECV) y daño cerebral traumático, siendo el gen de CCR5 el primero asociado a la recuperación del ECV en humanos (Joy *et al.*, 2019).

En células de carcinoma de mama de humano, la activación de IGFR1 conduce a la estabilización y al incremento de la transcripción del mRNA de RANTES, también conocida como *ligando de quimiocina-5* (CCL5). En linfocitos-T, la regulación transcripcional de RANTES es mediante el factor de

transcripción RFLAT-1 (Nikolcheva *et al.*, 2002). Una vez sintetizado, RANTES es secretado al espacio extracelular donde actúa como ligando de CCR5 y mediante la señalización de la subunidad G_i se promueve la migración celular (Mira *et al.*, 2001) (Figura 8.5).

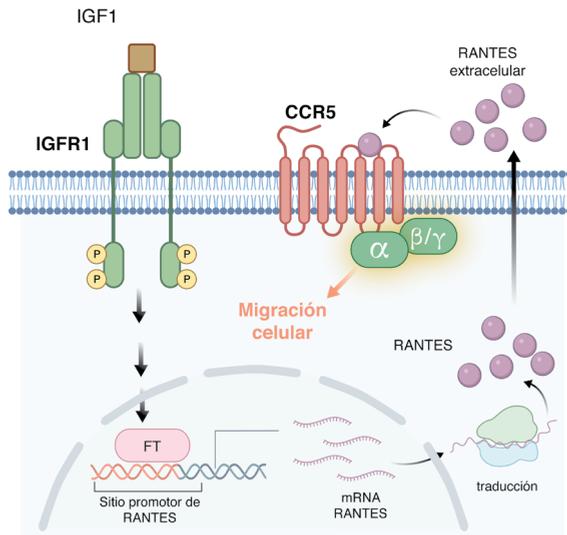


Figura 8.5. Entrecruzamiento entre los receptores RTK y los GPCR dependiente de la regulación transcripcional.

La unión de IGF1 al receptor IGFR1 induce un incremento en la síntesis de RNAm de RANTES en un proceso que involucra un factor de transcripción desconocido (FT). Posterior a la traducción ribosomal, la proteína RANTES es secretada al espacio extracelular para unirse al receptor CCR5 y favorecer la migración celular mediante activación de la señalización río abajo dirigida por la subunidad α de la proteína G.

El entrecruzamiento entre las vías de señalización de los GPCR y RTK ocurre también por activación enzimática. El receptor de esfingosina-1 fosfato ($S1P_1R$) puede señalar río abajo en respuesta de la activación de los receptores PDGFR, RTKA e IGF-1R (Toman *et al.*, 2004). La esfingosina-1 fosfato (SP1) es un producto metabólico de los esfingolípidos en la membrana celular y su acción de ligando con $S1P_1R$ regula procesos fisiológicos esenciales, tales como el tráfico de células inmunitarias adaptativas, el desarrollo vascular y la homeostasis (Cartier y Hla, 2019).

En condiciones basales la concentración de SP1 se mantiene en un balance entre su estado fosforilado (estado activo) por acción de la esfingosina cinasa-1 (SphK1) y su degradación/desactivación por acción catalítica de la S1P liasa y S1P fosfatasa, respectivamente. Sin embargo, la unión del factor de crecimiento derivado de plaqueta (PDGF) a su receptor (PDGFR) estimula la translocación a la membrana celular y la activación de la SphK1,

incrementando los niveles intracelulares de SP1 para su próxima secreción extracelular (Hobson *et al.*, 2001). Una vez secretada, SP1 se une a su receptor blanco (S1P₁R) para activar la señalización río abajo mediada por la G_i que incluye la inhibición de adenilato ciclasa (AC) y la activación de las vías PI3K/Akt y ERK1/2. Una transactivación similar se observó en las líneas celulares HEK293 y PC12 por la activación de los receptores IGF1R y RTKA, respectivamente (Toman *et al.*, 2004) (Figura 8.6).

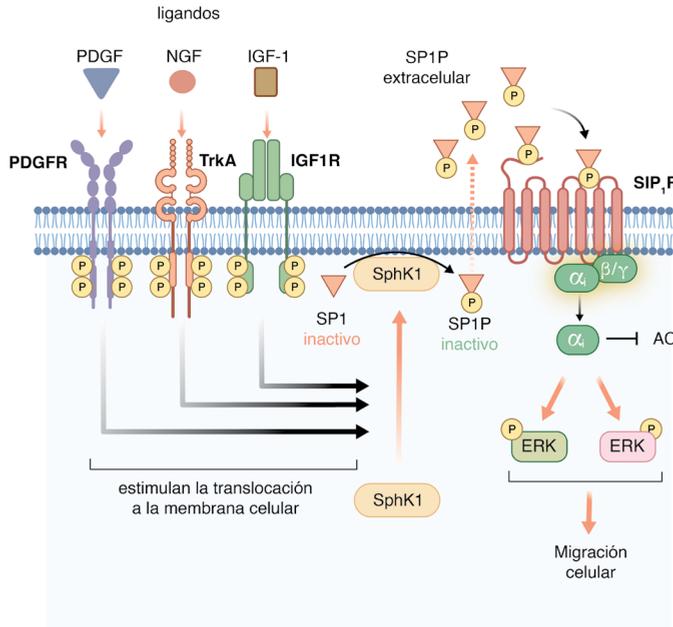


Figura 8.6. Entrecruzamiento entre los receptores RTK y los GPCR dependientes de actividad enzimática.

La unión de los ligandos PDGF, NGF e IGF-1 a sus receptores RTK correspondientes (PDGFR, RTKA y IGF1R, respetivamente) estimula la translocación de la enzima esfingosina-1 (SphK1) hacia la membrana celular, incrementando los niveles intracelulares de la esfingosina-1 fosfato (SP1P, forma activa). Una vez secretada, la SP1P se une a su receptor blanco S1P₁R para iniciar la señalización dirigida por la subunidad α de la proteína G, inhibiéndola adenilato ciclasa (AD) y activando las vías de ERK y AKT para favorecer la migración celular.

Receptores acoplados a proteínas G y receptores tipo canales iónicos

Cerca de 40% de los fármacos aprobados por la FDA tienen como blanco terapéutico a los GPCR o a los receptores con función de canal iónico (Overington *et al.*, 2006). Este dato sugiere que la activación de ambos receptores tiene una repercusión fisiológica crucial en el correcto mantenimiento y funcionalidad de las células. Estos dos blancos terapéuticos guardan una regulación mutua, ya sea por interacción física o por entrecruzamiento de sus vías de señalización río abajo tras su activación. A continuación, se mencionarán algunos puntos de regulación de los receptores con función de canal iónico en respuesta a la activación de algunos GPCR.

SNC

El glutamato es el principal neurotransmisor excitatorio en el SNC y actúa como ligando tanto de un grupo de GPCR (receptores metabotrópicos, mGluR), así como de receptores de tipo canal iónico (iGluR). Debido a que ambos tipos de receptores se co-expresan a un mismo nivel subcelular, un entrecruzamiento entre las señalizaciones derivadas de su activación es un escenario probable, desencadenando una cooperatividad, sumación o supresión de señales, así como cambios sutiles en el patrón de señalización espacio/temporal.

En neuronas corticales, la activación de los mGlu1 ($G_{\alpha q}$ PCR) puede potenciar la respuesta de los receptores NMDA (iGluR) al incrementar la fosforilación de sus subunidades GluN2A y GluN2B mediante la inducción de la activación dependiente de Ca^{2+} - calmodulina de las cinasas Pyk2 y Src (Heidinger *et al.*, 2002). Un efecto similar se observó en neuronas de la región CA3 del hipocampo al estimular los mGlu5 ($G_{\alpha q}$ PCR) involucrando la participación de la proteína cinasa C (PKC) y Src (Benquet *et al.*, 2002). Estos datos sugieren que la activación de los mGluR acoplados a la $G_{\alpha q}$ tienen un efecto potenciador sobre los receptores NMDA (Figura 8.7a). Sin embargo, la activación de los mGluR también puede inhibir la actividad de los receptores NMDA. En neuronas de la corteza prefrontal, la activación de mGluR7 ($G_{\alpha o}$ PCR) inhibe las corrientes de Ca^{2+} en los receptores NMDA mediante la participación de la b-arrestina y ERK1/2. La activación del mGluR7 ($G_{\alpha o}$ PCR) ocasiona la activación de β -arrestina, la cual recluta las proteínas efectoras de la vía de señalización de ERK1/2. Posteriormente, mediante la participación de las proteínas Ras (Nebl *et al.*, 2004), se induce la activación de la proteína cofilina (un factor de despolarización de actina) mediante su desfosforilación en el residuo Ser3 y así generar la desestabilización en los filamentos de actina. La perturbación de los procesos dinámicos de actina

en la zona postsináptica causan la disociación de la proteína PSD-95 con la subunidad NR1 del receptor NMDA, interrumpiendo así la entrada de Ca^{2+} a la célula (Gu *et al.*, 2012) (Figura 8.7b).

Un efecto similar es observado con la activación del receptor de serotonina 5HT1A que al igual que los mGluR7 son $G_{i/o}$ PCR (Yuen *et al.*, 2005). Debido a que la ablación de mGluR7 conduce a una variedad de síntomas conductuales relacionados con la anomalía de la corteza prefrontal, tales como deterioro de la memoria de trabajo y reducción de la ansiedad y la depresión, la comprensión de las vías de señalización derivadas de su activación representa un avance en el desarrollo terapéutico de algunos trastornos mentales.

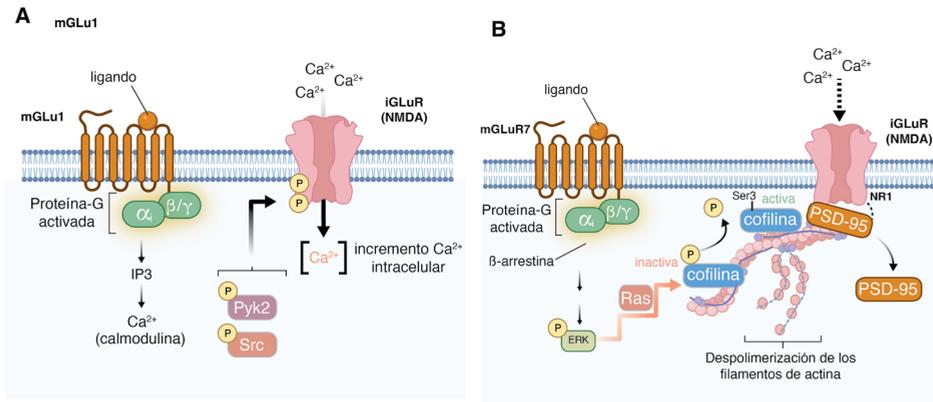


Figura 8.7. Entrecruzamiento de los GPCR y los receptores tipo canal iónico (NMDA).

En A, la unión del ligando a los receptores mGlu1 conduce la activación de IP3 mediante la subunidad α_6 del receptor, que, a su vez, activa las proteínas Pyk2 y Src mediante un incremento en los niveles de Ca^{2+} - dependientes de calmodulina. Las cinasas Pyk2 y Src son capaces de fosforilar los receptores NMDA favoreciendo un incremento en las corrientes de entrada de Ca^{2+} . En B, la activación de los receptores mGluR7 (que contienen la subunidad $\alpha_{i/o}$) induce un incremento en la activación de ERK dependiente de la proteína β -arrestina. Posteriormente en un proceso que involucra la participación de la proteína Ras, se induce la activación de la proteína cofilina mediante una desfosforilación de su residuo Ser3. La despolimerización de los filamentos de actina causa una disociación entre la proteína PSD-95 en la densidad postsináptica y los receptores NMDA, lo cual interrumpe la entrada de Ca^{2+} a la célula.

Otra manera por la cual los mGluR regulan a los receptores NMDA es mediante el reclutamiento de proteínas que interaccionan con el receptor en la densidad postsináptica. Por ejemplo, la activación del receptor muscarínico M1 o del receptor mGluR5 conduce a la activación de PKC, que activa a Pyk2 que, a su vez, activa la cinasa Src, la cual se dirige a un motivo fosfotirosina cerca del C-terminal de la subunidad GluN2B del receptor NMDA. Esta unión potencia la actividad del receptor NMDA al aumentar el tráfico del receptor hacia la superficie de la membrana (MacDonald *et al.*, 2007).

La fosforilación de los receptores NMDA por las diferentes cinasas activadas en respuesta a la activación de los mGluR conduce a tres resultados funcionales dependiendo de la subunidad NMDAR y de qué residuos son fosforilados: i) facilitación de las corrientes iónicas dependientes de NMDA; ii) supresión de las corrientes iónicas dependientes de NMDA y iii) cambios en la expresión del receptor NMDA. En la Tabla 1 se resumen las modificaciones que ocurren en los receptores NMDA y el efecto que tienen en la función del receptor.

Tabla 1. Modificaciones de los receptores NMDA causadas por la activación de los GPCR

Receptor	Proteína G	Efeotor (es)	Subunidad de NMDA	Modificación (fosforilación)	Función	Referencia
PAC1R	G _s	PKA/Fyn	GluN2B	Tyr1474	Potenciar actividad	(Yaka <i>et al.</i> , 2003)
PAC1R	G _s	Src	GluN2A	Tyr416	Potenciar actividad	(K. Yang <i>et al.</i> , 2012)
D1R	G _s	Fyn	GluN2B	Tyr420	Potenciar actividad	(K. Yang <i>et al.</i> , 2012)
mGlu1	G _q	PKC _γ	GluN1	Ser890	Interrupción en la agrupación	(Sánchez-Pérez y Felipo, 2005)
mGluRI/II	G _{q/i}	PKC	GluN2A	Ser1416	Unión a la proteína CaMKII	(Gardoni <i>et al.</i> , 2001)
mGluR5	G _q	CamKII	GluN2B	Ser1303	Potenciar actividad	(Jin <i>et al.</i> , 2013)

Receptores tirosina cinasa (RTK) y receptores iónicos

Como se ha mencionado anteriormente, los receptores NMDA son altamente distribuidos en el SNC y su participación en el desarrollo neuronal y la plasticidad sináptica depende del tipo de subunidades que los componen y de las modificaciones postraduccionales que ocurren en sus dominios intracelulares. En la sección anterior mencionamos que la activación de los GPCR (mGluR) causa fosforilaciones en algunas subunidades de los NMDAR, regulando su función de canal iónico. Esta capacidad de modificar la función de los NMDAR se ha reportado por la activación de algunos RTK. En células granulares de cerebelo, la función de los NMDAR es crítica para su desarrollo, y la presencia de factores de crecimiento es esencial para su supervivencia en los periodos de apoptosis a los cuales están sometidos durante su desarrollo (Contestabile, 2002). Además, la activación de los IGF1R regula la función de los NMDAR en el cerebelo. Demostraron que la proteína cinasa-B (PKB) fosforila, directamente la subunidad GluNR2C en el residuo Ser1096, en respuesta a la activación de los IGF1R, y que dicha fosforilación es requerida para la unión de la proteína 14-3-3ε. La familia de las proteínas 14-3-3ε es altamente expresada en cerebro y actúan como módulos de unión a fosfoproteínas regulando una amplia gama de actividades celulares, incluida la localización subcelular de proteínas diana (Shikano *et al.*, 2006). En este caso, su asociación con los NMDAR resultó en una mayor expresión del receptor en la superficie celular (Figura 8.8).

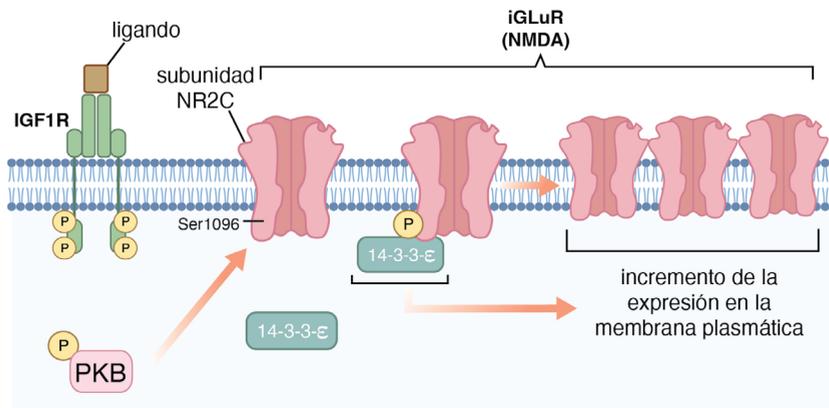


Figura 8.8. Entrecruzamiento entre los RTK y NMDA.

La activación de los receptores IGF1R induce un incremento en la fosforilación del residuo Ser1096 de la subunidad NRC2 de los receptores NMDA mediada por la activación de la PKB. La fosforilación en la subunidad NRC2 favorece la interacción con la proteína 14-3-3ε que actúa como adaptador para señales intracelulares que promoverán el tráfico hacia la superficie celular de receptores NMDA que contienen la conformación NR1/NR2C y que estén ensamblados correctamente.

Receptores nucleares y receptores de tirosina cinasa (RTK)

Los receptores para esteroides son comúnmente clasificados como factores de transcripción activados por ligando y aunque los mecanismos por los cuales se unen al ligando dimerizan y reclutan moléculas co-regulatorias que están bien establecidas, su respuesta fisiológica vinculada a la activación de otras vías de señalización sigue en intensa investigación.

En tejidos de proliferación celular asociados a la reproducción, como útero y mama, moléculas mitógenas, como son el estrógeno, el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF), desempeñan un papel crucial en el crecimiento de tumores. Derivado de esta relación mitogénica, existe evidencia que demuestra interacciones funcionales entre la señalización del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1R) y los receptores de estrógenos α (ERα).

Se ha descrito la translocación nuclear y actividad transcripcional del ERα en ausencia de ligando al estimular la activación del EGFR en células de cáncer de mama de humano (Bunone *et al.*, 1996). Dicha activación del ERα ocurre por la fosforilación en el residuo Ser118 en el dominio AF1 del ERα como blanco de las MAPK activadas río abajo en respuesta a la activación del EGFR (Figura 8.9). Un efecto similar se observó en el residuo Ser60 de los ERβ tras la activación de la vía Ras/Raf/MEK/ERK dependiente del EGFR (Tremblay *et al.*, 1997). Otro mecanismo de regulación transcripcional específica de los ERα se produce por la fosforilación en el residuo Ser 167 en el dominio AF1 por

la proteína Rsk2 (otro efector terciario de las MAPK), producto de la estimulación con EGF, que además involucra una interacción alostérica entre Rsk2 y el dominio de unión a la hormona (ligand-binding domain, LBD) del receptor ERα (Clark *et al.*, 2001) (Figura 8.9). Por su parte, el IGF1R participa en la regulación transcripcional del ERα a través de la vía de señalización Akt/PI3K, la cual fosforila los residuos Ser104, 106, 118 y 167 del dominio AF1 del ERα en células de cáncer de mama de humano (Martin *et al.*, 2000).

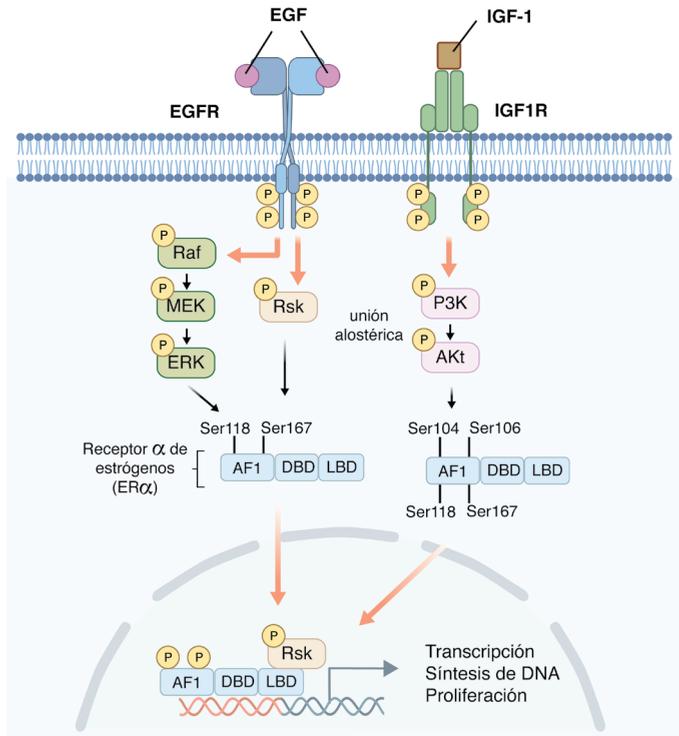


Figura 8.9. Entrecruzamiento de los RTK y los receptores nucleares.

La activación de los receptores EGFR activa la señalización Raf/MEK/ERK que fosforila el residuo Ser118 del dominio AF1 del receptor de estrógenos-α (ERα). Adicionalmente, la activación de los EGFR induce la fosforilación del residuo Ser167 del mismo dominio mediante la actividad de la proteína cinasa Rsk, la cual se une alostéricamente al dominio C-terminal de unión al ligando (LBD) de los ERα. Por su parte, la activación del receptor IGF1R enciende la vía de señalización de PI3K/Akt que fosforila los residuos Ser104- 106- 118- 167 del dominio AF1 de los ERα. En ambos casos, en respuesta a la activación de los EGFR e IGF1R, los ERα se translocan al núcleo para unirse a su sitio promotor e inducir la transcripción de genes relacionados con la síntesis de ADN y proliferación celular.

Como se ha mencionado anteriormente, debido a que varias cinasas activadas (en respuesta a la activación de RTK) translocan el núcleo, modificando y activando factores de transcripción, incluidos los ER, la activación de estas cinasas puede regular la expresión de ciertos genes relacionados a la proliferación celular y a la regulación del ciclo celular, tales como c-fos, c-myc y ciclina-D1 y así participar activamente en la progresión de la proliferación celular descontrolada.

Una proteína que desempeña un papel fundamental para la integración en el entrecruzamiento de ambas vías de señalización es c-Src. Como hemos mencionado con anterioridad, la actividad mitogénica de los RTK está en función de su correcta activación a través de la fosforilación de sus residuos intracelulares mediada por cinasas, tales como c-Src. Varios estudios sugieren una interacción física entre la proteína c-Src y los ER α y ER β .

En células de cáncer de mama de humano, se ha descrito la formación de un complejo entre el ER α , la proteína c-Src, la subunidad p85 de la cinasa PI3K y la proteína de citoesqueleto p130Cas en respuesta al tratamiento con 17 β -estradiol (E2) (Cabodi *et al.*, 2004). Esta respuesta mitogénica de los ER ocurre en tiempos cortos de tratamiento con E2 e incrementa la actividad enzimática de c-Src y ERK1/2, y está asociada con el incremento en la expresión del gen ciclina-D1, sugiriendo un estado de progresión del ciclo celular dependiente de estrógenos (Cabodi *et al.*, 2004). Se ha confirmado que la formación de este complejo, en este tipo de células sujetas al tratamiento con E2, se une y activa al IGF1R, sugiriendo así la translocación del complejo proteico a la membrana plasmática. Debido a que el ER α no tiene dominio intrínseco transmembranal, se ha propuesto que la proteína Shc funge como un translocador del complejo proteico hacia la membrana, favoreciendo su unión al IGF1R (Song *et al.*, 2004).

Como se ha mencionado en capítulos anteriores, los motivos de fosfotirosina producto de la activación de los RTK actúan como lugares de unión de alta afinidad para proteínas citoplasmáticas que contienen el dominio Src homólogo 2 (SH2). La formación de este complejo comprende algunas proteínas que contienen el dominio SH2, tales como la cinasa Src, la subunidad p85 de la PI3K y la proteína 2 unida al receptor del factor de crecimiento (GRB2). Otra proteína con dominio SH2 es GRB2, la cual se asocia con el factor de intercambio de nucleótidos de guanina (*son of sevenless*, SOS) y que reconoce los residuos fosfotirosina cuando se activa el RTK, causando que SOS active la proteína Ras catalizando la sustitución de GDP por GTP y ejecute la señalización río abajo por activación de RTK.

La demostración de que los esteroides activan vías de señalización en periodos de tiempo cortos y de que los receptores unidos a sus ligandos forman complejos de señalización multiproteicos sugiere que la comunicación entre las vías de señalización de los RTK y los receptores nucleares para esteroides ocurre, es funcional y que toma lugar tanto en el citoplasma como

en el núcleo. Estas intersecciones guardan una gran relevancia en la manipulación y en el diseño de estrategias terapéuticas para cánceres dependientes o independientes de esteroides que surgen en estas células.

Preguntas de integración

1. Realiza un esquema que ilustre el posible entrecruzamiento de señalización en un cultivo celular de cardiomiocitos tratados con endotelina-1 y EGF.
2. ¿La activación de los receptores RTK en respuesta a la activación de los GPCR es un mecanismo dependiente o independiente de ligando?
3. ¿Cuál es la diferencia entre la activación por actividad enzimática del receptor S1P1R y la activación del receptor EGFR?
4. Sugiere los ligandos que tendrías que adicionar a una línea celular de fibroblastos para estudiar la activación de JNK y p38 (proteínas que pertenecen a la familia de las MAPK).

Referencias

- Andreev, J., Galisteo, M. L., Kranenburg, O., Logan, S. K., Chiu, E. S., Okigaki, M., Cary, L. A., Moolenaar, W. H. & Schlessinger, J. (2001). Src and Pyk2 mediate G-protein-coupled receptor activation of epidermal growth factor receptor (EGFR) but are not required for coupling to the mitogen-activated protein (MAP) kinase signaling cascade. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(23), 20130–20135. <https://doi.org/10.1074/jbc.M102307200>.
- Asakura, M., Kitakaze, M., Takashima, S., Liao, Y., Ishikura, F., Yoshinaka, T., Ohmoto, H., Node, K., Yoshino, K., Ishiguro, H., Asanuma, H., Sanada, S., Matsumura, Y., Takeda, H., Beppu, S., Tada, M., Hori, M. & Higashiyama, S. (2002). Cardiac hypertrophy is inhibited by antagonism of ADAM12 processing of HB-EGF: Metalloproteinase inhibitors as a new therapy. *Nature Medicine*, 8(1), 35–40. <https://doi.org/10.1038/nm0102-35>.
- Benquet, P., Gee, C. E. & Gerber, U. (2002). Two distinct signaling pathways upregulate NMDA receptor responses via two distinct metabotropic glutamate receptor subtypes. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(22), 9679–9686.

- Biscardi, J. S., Maa, M. C., Tice, D. A., Cox, M. E., Leu, T. H. & Parsons, S. J. (1999). C-Src-mediated phosphorylation of the epidermal growth factor receptor on Tyr845 and Tyr1101 is associated with modulation of receptor function. *The Journal of Biological Chemistry*, 274(12), 8335–8343. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.12.8335>.
- Bunone, G., Briand, P. A., Miksicek, R. J. & Picard, D. (1996). Activation of the unliganded estrogen receptor by EGF involves the MAP kinase pathway and direct phosphorylation. *The EMBO Journal*, 15(9), 2174–2183.
- Cabodi, S., Moro, L., Baj, G., Smeriglio, M., Di Stefano, P., Gippone, S., Surico, N., Silengo, L., Turco, E., Tarone, G. & Defilippi, P. (2004). P130Cas interacts with estrogen receptor alpha and modulates non-genomic estrogen signaling in breast cancer cells. *Journal of Cell Science*, 117 (Pt 8), 1603–1611. <https://doi.org/10.1242/jcs.01025>.
- Cartier, A. & Hla, T. (2019). Sphingosine 1-phosphate: Lipid signaling in pathology and therapy. *Science (New York, N.Y.)*, 366(6463), eaar5551. <https://doi.org/10.1126/science.aar5551>.
- Clark, D. E., Poteet-Smith, C. E., Smith, J. A. & Lannigan, D. A. (2001). Rsk2 allosterically activates estrogen receptor alpha by docking to the hormone-binding domain. *The EMBO Journal*, 20(13), 3484–3494. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.13.3484>.
- Contestabile, A. (2002). Cerebellar granule cells as a model to study mechanisms of neuronal apoptosis or survival in vivo and in vitro. *Cerebellum (London, England)*, 1(1), 41–55. <https://doi.org/10.1080/147342202753203087>.
- Dohlman, H. G. & Slessareva, J. E. (2006). Pheromone signaling pathways in yeast. *Science's STKE: Signal Transduction Knowledge Environment*, cm6. <https://doi.org/10.1126/stke.3642006cm6>.
- Drube, S., Stirnweiss, J., Valkova, C. & Liebmann, C. (2006). Ligand-independent and EGF receptor-supported transactivation: Lessons from beta2-adrenergic receptor signalling. *Cellular Signalling*, 18(10), 1633–1646. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2006.01.003>.
- Gardoni, F., Bellone, C., Cattabeni, F. & Di Luca, M. (2001). Protein kinase C activation modulates alpha-calmodulin kinase II binding to NR2A subunit of N-methyl-D-aspartate receptor complex. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(10), 7609–7613. <https://doi.org/10.1074/jbc.M009922200>.

- Gschwind, A., Prenzel, N. & Ullrich, A. (2002). Lysophosphatidic acid-induced squamous cell carcinoma cell proliferation and motility involves epidermal growth factor receptor signal transactivation. *Cancer Research*, 62(21), 6329–6336.
- Gu, Z., Liu, W., Wei, J. & Yan, Z. (2012). Regulation of N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) receptors by metabotropic glutamate receptor 7. *The Journal of Biological Chemistry*, 287(13), 10265–10275. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.325175>.
- Heidinger, V., Manzerra, P., Wang, X. Q., Strasser, U., Yu, S.-P., Choi, D. W. & Behrens, M. M. (2002). Metabotropic glutamate receptor 1-induced upregulation of NMDA receptor current: Mediation through the Pyk2/ Src-family kinase pathway in cortical neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(13), 5452–5461. <https://doi.org/20026565>.
- Hobson, J. P., Rosenfeldt, H. M., Barak, L. S., Olivera, A., Poulton, S., Caron, M. G., Milstien, S. & Spiegel, S. (2001). Role of the sphingosine-1-phosphate receptor EDG-1 in PDGF-induced cell motility. *Science (New York, N.Y.)*, 291(5509), 1800–1803. <https://doi.org/10.1126/science.1057559>.
- Jin, D.-Z., Guo, M.-L., Xue, B., Mao, L.-M. & Wang, J. Q. (2013). Differential regulation of CaMKII α interactions with mGluR5 and NMDA receptors by Ca²⁺ in neurons. *Journal of Neurochemistry*, 127(5), 620–631. <https://doi.org/10.1111/jnc.12434>.
- Joy, M. T., Ben Assayag, E., Shabashov-Stone, D., Liraz-Zaltsman, S., Mazzitelli, J., Arenas, M., Abduljawad, N., Kliper, E., Korczyń, A. D., Thareja, N. S., Kesner, E. L., Zhou, M., Huang, S., Silva, T. K., Katz, N., Bornstein, N. M., Silva, A. J., Shohami, E. & Carmichael, S. T. (2019). CCR5 Is a Therapeutic Target for Recovery after Stroke and Traumatic Brain Injury. *Cell*, 176(5), 1143–1157.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.044>.
- Krieger, C. C., Boutin, A., Jang, D., Morgan, S. J., Banga, J. P., Kahaly, G. J., Klubo-Gwiedzinska, J., Neumann, S. & Gershengorn, M. C. (2019). Arrestin- β -1 Physically Scaffolds TSH and IGF1 Receptors to Enable Crosstalk. *Endocrinology*, 160(6), 1468–1479. <https://doi.org/10.1210/en.2019-00055>.
- Krieger, C. C., Neumann, S. & Gershengorn, M. C. (2020). TSH/IGF1 receptor crosstalk: Mechanism and clinical implications. *Pharmacology & Therapeutics*, 209, 107502. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107502>.
- Lee, F. S. & Chao, M. V. (2001). Activation of Trk neurotrophin receptors in the absence of neurotrophins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(6), 3555–3560. <https://doi.org/10.1073/pnas.061020198>.

- MacDonald, J. F., Jackson, M. F. & Beazely, M. A. (2007). G protein-coupled receptors control NMDARs and metaplasticity in the hippocampus. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1768(4), 941–951. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.12.006>.
- Martin, M. B., Franke, T. F., Stoica, G. E., Chambon, P., Katzenellenbogen, B. S., Stoica, B. A., McLemore, M. S., Olivo, S. E. & Stoica, A. (2000). A role for Akt in mediating the estrogenic functions of epidermal growth factor and insulin-like growth factor I. *Endocrinology*, 141(12), 4503–4511. <https://doi.org/10.1210/endo.141.12.7836>.
- Mira, E., Lacalle, R. A., González, M. A., Gómez-Moutón, C., Abad, J. L., Bernad, A., Martínez-A, C. & Mañes, S. (2001). A role for chemokine receptor transactivation in growth factor signaling. *EMBO Reports*, 2(2), 151–156. <https://doi.org/10.1093/embo-reports/kve027>.
- Nebi, G., Fischer, S., Penzel, R. & Samstag, Y. (2004). Dephosphorylation of cofilin is regulated through Ras and requires the combined activities of the Ras-effectors MEK and PI3K. *Cellular Signalling*, 16(2), 235–243. [https://doi.org/10.1016/s0898-6568\(03\)00133-5](https://doi.org/10.1016/s0898-6568(03)00133-5).
- Nikolcheva, T., Pyronnet, S., Chou, S., Sonenberg, N., Song, A., Clayberger, C. & Krensky, A. M. (2002). A translational rheostat for RFLAT-1 regulates RANTES expression in T lymphocytes. *The Journal of Clinical Investigation*, 110(1), 119–126. <https://doi.org/10.1172/JCI15336>.
27. Overington, J. P., Al-Lazikani, B. & Hopkins, A. L. (2006). How many drug targets are there? *Nature Reviews. Drug Discovery*, 5(12), 993–996. <https://doi.org/10.1038/nrd2199>.
- Pai, R., Soreghan, B., Szabo, I. L., Pavelka, M., Baatar, D. & Tarnawski, A. S. (2002). Prostaglandin E2 transactivates EGF receptor: A novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. *Nature Medicine*, 8(3), 289–293. <https://doi.org/10.1038/nm0302-289>.
- Pierce, K. L., Tohgo, A., Ahn, S., Field, M. E., Luttrell, L. M. & Lefkowitz, R. J. (2001). Epidermal growth factor (EGF) receptor-dependent ERK activation by G protein-coupled receptors: A co-culture system for identifying intermediates upstream and downstream of heparin-binding EGF shedding. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(25), 23155–23160. <https://doi.org/10.1074/jbc.M101303200>.
- Pyne, N. J. & Pyne, S. (2011). Receptor tyrosine kinase-G-protein-coupled receptor signalling platforms: Out of the shadow? *Trends in Pharmacological Sciences*, 32(8), 443–450. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2011.04.002>.

- Samson, M., Libert, F., Doranz, B. J., Rucker, J., Liesnard, C., Farber, C. M., Saragosti, S., Lapoumeroulie, C., Cognaux, J., Forceille, C., Muyldermans, G., Verhofstede, C., Burtonboy, G., Georges, M., Imai, T., Rana, S., Yi, Y., Smyth, R. J., Collman, R. G., & Parmentier, M. (1996). Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature*, 382(6593), 722–725. <https://doi.org/10.1038/382722a0>.
- Sánchez-Pérez, A. M. & Felipo, V. (2005). Serines 890 and 896 of the NMDA receptor subunit NR1 are differentially phosphorylated by protein kinase C isoforms. *Neurochemistry International*, 47(1–2), 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2005.04.011>.
- Shikano, S., Coblitz, B., Wu, M. & Li, M. (2006). 14-3-3 proteins: Regulation of endoplasmic reticulum localization and surface expression of membrane proteins. *Trends in Cell Biology*, 16(7), 370–375. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2006.05.006>.
- Song, R. X., Barnes, C. J., Zhang, Z., Bao, Y., Kumar, R. & Santen, R. J. (2004). The role of Shc and insulin-like growth factor 1 receptor in mediating the translocation of estrogen receptor alpha to the plasma membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(7), 2076–2081. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308334100>.
- Toman, R. E., Payne, S. G., Watterson, K. R., Maceyka, M., Lee, N. H., Milstien, S., Bigbee, J. W. & Spiegel, S. (2004). Differential transactivation of sphingosine-1-phosphate receptors modulates NGF-induced neurite extension. *The Journal of Cell Biology*, 166(3), 381–392. <https://doi.org/10.1083/jcb.200402016>.
- Tremblay, G. B., Tremblay, A., Copeland, N. G., Gilbert, D. J., Jenkins, N. A., Labrie, F. & Giguère, V. (1997). Cloning, chromosomal localization, and functional analysis of the murine estrogen receptor beta. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, 11(3), 353–365. <https://doi.org/10.1210/mend.11.3.9902>.
- Yaka, R., He, D.-Y., Phamluong, K. & Ron, D. (2003). Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP(1-38)) enhances N-methyl-D-aspartate receptor function and brain-derived neurotrophic factor expression via RACK1. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(11), 9630–9638. <https://doi.org/10.1074/jbc.M209141200>.
- Yang, C.-C., Hsiao, L.-D., Yang, C.-M. & Lin, C.-C. (2017). Thrombin Enhanced Matrix Metalloproteinase-9 Expression and Migration of SK-NSH Cells via PAR-1, c-Src, PYK2, EGFR, Erk1/2 and AP-1. *Molecular Neurobiology*, 54(5), 3476–3491. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9916-0>.

- Yang, K., Trepanier, C., Sidhu, B., Xie, Y.-F., Li, H., Lei, G., Salter, M. W., Orser, B. A., Nakazawa, T., Yamamoto, T., Jackson, M. F. & Macdonald, J. F. (2012). Metaplasticity gated through differential regulation of GluN2A versus GluN2B receptors by Src family kinases. *The EMBO Journal*, 31(4), 805–816. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.453>.
- Yuen, E. Y., Jiang, Q., Chen, P., Gu, Z., Feng, J. & Yan, Z. (2005). Serotonin 5-HT1A receptors regulate NMDA receptor channels through a microtubule-dependent mechanism. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(23), 5488–5501. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1187-05.2005>.
- Zhou, M., Greenhill, S., Huang, S., Silva, T. K., Sano, Y., Wu, S., Cai, Y., Nagaoaka, Y., Sehgal, M., Cai, D. J., Lee, Y.-S., Fox, K. & Silva, A. J. (2016). CCR5 is a suppressor for cortical plasticity and hippocampal learning and memory. *ELife*, 5, e20985. <https://doi.org/10.7554/eLife.20985>.

Acerca de los autores

Dr. Oscar Alberto López Canales es Doctor en Ciencias con Especialidad en Biomedicina Molecular. Actualmente es Profesor de Carrera Asociado "C" de tiempo completo adscrito al Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel I. Su línea de investigación es en el área Biomédica con especialidad en Fisiología Cardiovascular. Cuenta con diversos artículos científicos publicados en revistas internacionales, así como de divulgación científica. Ha impartido las asignaturas de Fisiología, Farmacología, Microbiología y Bioquímica a estudiantes de la licenciatura de Médico Cirujano.

Dra. María Cristina Paredes Carbajal es Doctora en Ciencias Biomédicas (Fisiología) por la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Es Profesora Titular "A" de tiempo completo adscrita al Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la UNAM. Su línea de investigación está relacionada con la participación del endotelio en la modulación del tono vascular. Es titular del Laboratorio de Fisiología Cardiovascular. Cuenta con diversos artículos científicos publicados en revistas indexadas y de circulación internacional, así como de divulgación científica.

Dra. María del Carmen Silva Lucero es Profesora de Asignatura e Investigadora Posdoctoral Conacyt en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel I. Actualmente, cuenta con 11 artículos científicos publicados en revistas internacionales indexadas, un capítulo de libro y 10 direcciones de tesis de licenciatura. Ha impartido cursos de Fisiología, Biología Molecular, Biología Celular, Microbiología y Química de la Célula. Participa como Profesora Invitada en la Especialidad en Microbiología y en la Maestría en Ciencias Biomédicas de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero.

Dra. en C. Ana Elvira Zacapala Gómez es Profesora e Investigadora de tiempo completo en la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero. Es profesora a nivel licenciatura en los programas educativos de Biología, Químico Biólogo Parasitólogo y, Biotecnología. Es Profesora Invitada en la Maestría en Biociencias y en la Maestría en Biomédicas. Cuenta con 17 artículos publicados del 2015 al 2023 en revistas indexadas internacionales. Ha dirigido más de 10 tesis, pertenece al Sistema Nacional de Investigadores Nivel 1 y cuenta con reconocimiento de perfil deseable por la SEP-PRODEP.

Dr. Miguel Ángel Mendoza Catalán es Profesor e Investigador en la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel 1 y profesor con reconocimiento de perfil deseable por la SEP-PRODEP. Actualmente, cuenta con 31 artículos científicos publicados en revistas internacionales indexadas, 10 artículos científicos en revistas de divulgación y dos capítulos de libro. Imparte cursos sobre Biología Celular, Bioquímica, Biología Molecular, Cultivo de células y Biología Molecular del Cáncer.

Dra. Adriana Robles Cabrera es Médica Cirujana y Partera por la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Se destaca como joven académica en el campo de las Ciencias Biomédicas, específicamente en el área de la Fisiología Médica. Actualmente se desempeña como Coordinadora de Enseñanza y Profesora de Asignatura en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la UNAM. Con más de una década de experiencia en educación y capacitación, ha impartido cursos en diversas instituciones, incluyendo la Universidad Anáhuac y la Universidad del Valle de México. Ha participado en diversos proyectos de investigación y publicaciones científicas. Además, ha sido miembro activo de varias asociaciones profesionales y ha contribuido significativamente a la difusión de la ciencia a través de su participación en seminarios y presentaciones.

Dr. Raúl Sampieri Cabrera es Profesor de Carrera Titular "A" de tiempo completo en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la UNAM. Sus líneas de estudio abarcan la investigación educativa en Ciencias del Aprendizaje en Estudiantes Universitarios y la Fisiología Médica enfocada en la salud cardiovascular. Cuenta con 23 publicaciones arbitradas y entre sus logros se encuentran la dirección de tesis de licenciatura y maestría, demostrando su compromiso con la formación de recursos humanos en el ámbito académico. Actualmente ocupa la Cátedra Especial "Doctor Aniceto Orantes Suárez".

Dr. Ricardo Jesús Martínez Tapia es Médico Cirujano y Doctor en Ciencias Biomédicas por la Facultad de Medicina de la UNAM. Su campo de investigación es principalmente en las Neurociencias. Actualmente es Coordinador de Investigación y Profesor de Asignatura, de las materias Fisiología y Medicina y, Fisiología Aeroespacial, en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la UNAM. También, es Profesor de Asignatura de el Taller de Fisiopatología Cerebral y Neuroprotección de la Licenciatura de Biología en la Facultad de Ciencias de la UNAM. Ha producido 15 artículos en revistas científicas como autor y coautor y 6 capítulos de libro. Es miembro de la Society for Neuroscience (SfN) y de la American Physiological Society (APS) de Estados Unidos y de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Desde 2023 pertenece al Sistema Nacional de Investigadores Nivel I.

Dr. Gerard López García es Médico Cirujano por la UNAM, ganador del X Concurso Nacional de Fisiología, organizado por la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas en 2019, y coautor del artículo de revisión "Molecular and cellular mechanisms linking air pollution and bone damage", publicado en *Environmental Research* en 2020. Es tutor académico del Programa Institucional de Tutoría Integral (PIT) y Profesor de Fisiología en la Facultad de Medicina de la UNAM desde 2020.

Dr. César Martínez Peña es Médico Cirujano con amplio sentido de responsabilidad, disciplina y empatía con enfoque de trabajo en objetivos. Capacidad analítica y autoaprendizaje dirigido. Ha sido becario en el grupo AFINES-FACMED con participación en proyectos de investigación en el Hospital de Oncología del CMN Siglo XXI del IMSS. Se ha desempeñado como Ayudante de Profesor en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la UNAM, con experiencia en docencia y enseñanza de la Fisiología. Actualmente es Residente de Anestesiología en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos, en donde, además, ha sido ponente en el Curso Interinstitucional de Residentes en Anestesiología y en el 1er Congreso Comexane de Residentes del Colegio Mexicano de Anestesiología.

Dr. Gustavo López Toledo es Licenciado en Bioquímica Diagnóstica por la UNAM. Realizó su maestría y doctorado en el Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (Cinvestav). Es Profesor de Asignatura y actual Coordinador de Evaluación del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Dr. Ernesto Calderón Martínez es Médico Cirujano por la Facultad de Medicina de la UNAM. Ha participado en proyectos de Investigación e Innovación Educativa, así como en publicaciones relacionadas con el campo de la Educación Médica.

Dr. Ricardo Alberto Santana Martínez es Doctor en Ciencias Biomédicas por la UNAM, realizó un posdoctorado sobre los Mecanismos Intrínsecos de Supervivencia Neuronal en el Infarto Cerebral en el Instituto de Fisiología Celular de la UNAM y actualmente realiza una estancia posdoctoral en el Departamento de Ingeniería Biomédica en la Universidad de California, Irvine, CA, Estados Unidos, donde explora los cambios metabólicos relacionados con el envejecimiento en la Enfermedad de Alzheimer. Ha publicado más de 15 artículos de investigación en revistas internacionales y es coautor de un capítulo de libro sobre la Isquemia Cerebral. Pertenece al Sistema Nacional de Investigadores Nivel I. Es Profesor de Asignatura en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Jorge Luis Calderón García es estudiante de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, inscrito en el Plan de Estudios Combinados en Medicina (PECEM), que le permite realizar, al mismo tiempo que la licenciatura, proyectos de investigación (tanto clínica, básica y análisis estadístico) y un doctorado en Medicina. Actualmente, en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) realiza su práctica clínica, de investigación y los estudios propios de la licenciatura. Además, en el Laboratorio de Reprogramación Celular del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía realiza investigación básica sobre la "Evaluación de la toxicidad del tetrahidrocannabinol (THC) durante la formación de organoides cerebrales derivados de células troncales pluripotentes inducidas (CTPi) de individuos mexicanos".

Danae Camacho Rivero es estudiante de la Licenciatura de la Facultad de Medicina de la UNAM, donde forma parte del Programa de Alta Exigencia Académica (PAEA); realiza su práctica clínica en el INCMNSZ. Ha participado en diversas investigaciones y actualmente forma parte de un proyecto en el Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) relacionado con los trastornos de conducta alimentaria y el maltrato infantil, donde se encuentra como Ayudante del SNI por parte del Conahcyt. Es Técnico Auxiliar Nutriólogo por la UNAM.

Zara Michelle Garido Santos es estudiante de la Licenciatura de Médico Cirujano de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Forma parte de la undécima primera generación del Plan de Estudios Combinados en Medicina (PECEM). Ha trabajado en líneas de investigación de microbiota (HGM), genómica poblacional (INMEGEN), cáncer gástrico (INMEGEN-INCMNSZ), y actualmente realiza investigación en rabdomiosarcoma en pacientes pediátricos en el Instituto Nacional de Pediatría. Hoy en día, se encuentra realizando rotaciones clínicas en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, donde en paralelo, está desarrollando un protocolo de condiciones socioeconómicas en pacientes con enfermedades reumatológicas, recientemente aprobado por el Comité de Bioética de dicha institución.

Pamela Martínez Almonaci actualmente cursa la Licenciatura de Médico Cirujano en la Facultad de Medicina de la UNAM. Es integrante activa del Programa de Alta Exigencia Académica (PAEA) y del Programa de Apoyo y Fomento a la Investigación Estudiantil (AFINES). Ha participado en proyectos de investigación en la Facultad de Medicina de la UNAM, en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) y en el Instituto Nacional de Pediatría (INP).

Padme Nailea Méndez Labra es estudiante de la Licenciatura de Médico Cirujano en la Facultad de Medicina de la UNAM y es parte de la undécima generación del Plan de Estudios Combinados en Medicina (PECEM). Ha realizado diversas estancias de investigación, participando activamente en proyectos sobre biobancos en cáncer, desarrollo de biomarcadores, medicina regenerativa y fisiología de la nutrición.

Aline Ruíz López es estudiante de la Licenciatura en Farmacia en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, actualmente se desempeña en el área de la farmacología clínica y la farmacia hospitalaria, principalmente en la farmacia oncológica.

Wilber Montejó López es Doctor en Ciencias con Especialidad en Neurobiología Celular y Molecular por el CINVESTAV, su línea de investigación está relacionada con el modelado farmacológico y las vías de señalización de receptores 5HT. Su participación en esta obra fue en el marco del programa de cátedras COMECYT, gracias a la beca que le fue otorgada.

Agradecimientos:

A las Licenciadas:

1. Lidia Patricia Martínez
2. Lourdes Sosa
3. Itzel Ángeles
4. Ana Luisa Arredondo

Por su apoyo en la búsqueda y síntesis de información científica.

Transducción de señales: de lo molecular a lo funcional,
se terminó de editar el 31 de mayo de 2024
por la Facultad de Medicina de la UNAM.
En su composición se utilizó la familia tipográfica
Century Gothic.
El cuidado de la edición estuvo a cargo de
Raúl Sampieri Cabrera y Érika Maya Vargas.

