

Grupo de investigación en receptores nucleótidos de la terminal presináptica.
UCM

P2X, los receptores de las moléculas de la vida

La investigación básica de los receptores de nucleótidos y su función en el sistema nervioso es el objetivo de este grupo de la Universidad Complutense

La difícil búsqueda de tratamientos efectivos para enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer o el Parkinson tiene un nuevo camino por recorrer. Se trata de los P2X, una gran familia de receptores de nucleótidos con amplia distribución en cerebro. Los nucleótidos son moléculas esenciales en funciones biológicas dentro de la célula como la formación de ADN y ARN o los procesos que necesitan energía. Hasta hace poco se pensaba que sólo existían en la terminal postsináptica neural, pero ahora, gracias al trabajo del grupo que dirige María Teresa Miras Portugal en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense, se sabe que se encuentran también en la terminal presináptica y que su función allí es fundamental. Este descubrimiento abre todo un nuevo campo de dianas farmacológicas aún sin explorar.

Patricia Serrano Antolín

Los sistemas de señalización celular ofrecen múltiples caminos de investigación ya que, si bien el número de transmisores no es excesivamente alto, sus posibilidades de combinación son enormes. Miras Portugal ilustra este aspecto mediante un símil sencillo y esclarecedor: "Con los transmisores sucede lo mismo que con los 7 colores del arco iris. Son siete elementos diferentes, en realidad solo tres colores fundamentales, rojo, verde y azul, pero mezclándolos se consiguen infinitas gamas y tonalidades". Además, en la comunicación celular, su función varía también según la célula que los libere, el tipo de receptor que los reciba y el sitio donde estén. Por ejemplo, la serotonina actúa a nivel de sistema nervioso central como un neurotransmisor pero a nivel periférico su papel es el de producir la vasoconstricción necesaria para favorecer la coagulación de la sangre.

Dentro de todo el maremagno de neurotransmisores, receptores, mensajeros, señales, combinaciones, funciones y canales, el equipo de Miras Portugal trabaja en el estudio de la neurotransmisión mediada por el nucleótido ATP (adenosín trifosfato) y de sus receptores, conocidos como P2X, a nivel presináptico, entre otros proyectos.

La sinapsis nerviosa es el lugar de contacto y comunicación de las neuronas entre sí y con otras células efectoras. Generalmente la información que sale de los cuerpos neurales viaja a través de la prolongación del axón hasta la terminal conocida como zona presináptica, desde donde se transmite a la zona postsináptica de las neuronas contiguas, mediante la ayuda de un neurotransmisor químico. El espacio entre ambas zonas se conoce como hendidura sináptica. En la zona presináptica, se encuentran las vesículas en las que se almacenan los neurotransmisores que van a ser liberados, junto a los receptores de algunos de éstos, mientras que en la terminal post se localizan los receptores específicos para interpretar las distintas señales y se origina el potencial de acción.



María Teresa Miras Portugal en su despacho en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid

La terminal presináptica neural es una zona compleja y esencial en la mediación de neurotransmisores

Los receptores metabotrópicos, que originan señales acopladas a cascadas intracelulares, son muy abundantes a ambos lados de la zona sináptica, mientras que los receptores ionotrópicos, que permiten el paso de iones específicos en la membrana, se pensaba que estaban localizados de modo preferente a nivel post-sináptico. Hoy en día se acumulan las evidencias para afirmar la existencia de receptores ionotrópicos a nivel presináptico.

Hasta hace unos años, se conocían receptores presinápticos de GABA, acetilcolina, entre otros, pero no de nucleótidos, probablemente por la dificultad de su estudio ya que son moléculas muy frágiles. En su caso, la terminal presináptica era considerada como un mero almacén de estos compuestos. Sin embargo, las investigaciones del grupo liderado por Miras Portugal han demostrado que esta terminal es algo “mucho más complejo y fundamental” en la regulación de la secreción de nucleótidos y también de otros neurotransmisores, al descubrir en ella receptores ionotrópicos para estas moléculas, los denominados P2X. Esta es su “gran contribución”, afirma la investigadora.

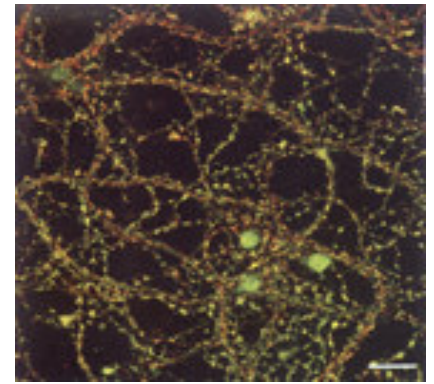
Y no es poca cosa si tenemos en cuenta que los nucleótidos son los compuestos fundamentales de los ácidos nucleicos, el ADN y el ARN, además de los elementos más importantes para mantener la funcionalidad de la célula ya que sin ellos no se podrían efectuar las reacciones endergónicas, esto es, las que necesitan un aporte de energía. Como dice Miras Portugal, los nucleótidos son “las propias moléculas de la vida”, por lo que las anomalías en su funcionamiento están relacionadas con numerosas patologías. Por el momento se ha demostrado su relevancia en el control de los tumores, sobre todo leucemias, en la coagulación sanguínea, en todo tipo de reacciones inflamatorias, relacionadas o no con la neurodegeneración como Parkinson o Alzheimer, y en los mecanismos de señalización dolorosa.

Economía y optimización

En la membrana celular se encuentran los receptores exteriores y también los canales por los que entran al interior iones de Na^+ y Ca^{2+} , que se encuentran en el medio extracelular. En el interior actúan como un potencial de acción que despolariza la membrana (la señal química se transforma en eléctrica) llegando a la zona presináptica y haciendo que a este nivel se liberen las vesículas donde se almacenan los neurotransmisores. Una vez que estos compuestos se encuentran en la hendidura sináptica son libres para poder actuar sobre los receptores de la membrana, originando una nueva señal que puede iniciar otro potencial de acción, sobre una nueva neurona, hasta llegar a otra zona postsináptica, que puede ser de naturaleza muscular o de cualquier otro órgano efector.

El grupo de la Complutense ha descubierto que junto a los canales tradicionales de entrada de los iones que originan el potencial de acción, los receptores ionotrópicos P2X también hacen entrar directamente Ca^{2+} o Na^+ al interior celular, lo que les convierte en un elemento de control clave en la secreción de neurotransmisores y transmisión de la señal.

“Antes se pensaba que cada neurona contenía y liberaba sólo una sustancia (el neurotransmisor al estilo clásico); era una hipótesis errónea pero aún así ayudó a buscar todos los neurotransmisores posibles”, comenta la investigadora. Este ha sido el caso para el adenosín trifosfato (ATP) que está almacenado conjuntamente



Cultivo de neuronas de cerebelo y presencia y distribución de componentes sinápticos y receptores de nucleótidos (P2X7)

En el futuro a través de los P2X se podría controlar la función presináptica, y con ello tratar enfermedades derivadas de fallos en su funcionamiento

con todos los neurotransmisores de naturaleza aminérgica (dopamina, noradrenalina, serotonina, etc.), también con la acetilcolina, y con péptidos de naturaleza hormonal, lo que permite su liberación controlada hacia fuera de la célula. Recientemente se ha demostrado que el ATP y otros nucleótidos pueden salir de la célula por otros medios, tal vez mediante transportadores de membrana de la familia ABC, o de las conexinas, sin necesidad de que esté almacenado en vesículas. Este hecho es fundamental, pues añade nuevas posibilidades a la salida de los neurotransmisores y amplía la visión excluyente de que todo neurotransmisor tiene que estar almacenado en vesículas. “Es la caída de otro mito en la neurotransmisión”.

Una vez que se activa la señalización celular nerviosa y el organismo ha respondido al estímulo que la provocó, el sistema debe volver a la normalidad “porque si no estaríamos siempre agitados”. Para ello, en la zona pre y post-sináptica se encuentran enzimas capaces de degradarlos en elementos sencillos que serán posteriormente transportados al interior de la célula para ser reutilizados. Los procesos de recaptación son muy eficaces y en algunos casos alcanza el 99% del neurotransmisor liberado.

En lo que se refiere al adenosín trifosfato, ATP, la neurona lo sintetiza, lo almacena en vesículas y lo libera al medio extracelular cuando le llega un potencial de acción, o lo libera directamente a través de otros sistemas de membrana. Una vez en el medio extracelular el ATP al actuar sobre sus receptores P2X presinápticos vuelve a recargar el sistema. Estos receptores ionotrópicos vuelven a introducir Na^+ y Ca^{2+} en el interior de la misma terminal.

El ATP secretado “no se absorbe como tal”, matiza la experta, sino que lo que recupera la neurona es el producto de la acción de ectoenzimas específicas, las ectonucleotidasas, que producen adenosina. La adenosina es transportada con gran afinidad en los tejidos neurales, y una vez en su interior gracias al metabolismo energético de la célula, se completará con tres moléculas de fostafo para recuperar el ATP.

“En muchas ocasiones los investigadores nos habíamos preguntado cómo podían las terminales presinápticas ser tan eficientes. Pues bien, lo son porque aunque les llegue una señal escasa ceban el sistema para que funcione mejor”, comenta Miras Portugal. Así, el sistema funciona como un ciclo, retroalimentándose constantemente. Una parte del ATP liberado actúa sobre las otras neuronas, el mínimo necesario para continuar la cascada de señalización, mientras que el resto vuela a su propio sistema. Pero no podemos olvidar que el ATP actúa junto con otros neurotransmisores en la misma terminal. Esto supone introducir un concepto nuevo, el de “co-transmisión”, que “ha enriquecido definitivamente la visión miope y excluyente del funcionamiento sináptico”. Como dice la investigadora “el organismo siempre optimiza sus sistemas, los organiza de un modo económico. No va tirando monedas de oro”.

Patologías relacionadas

Al comprobar en modelos de rata, ratón, cobaya y algunos tejidos humanos que los receptores presinápticos ionotrópicos de ATP y de dinucleótidos polifosfatos ejercen un papel de moduladores de la secreción de otros neurotransmisores, tanto excitadores como inhibidores, este grupo de investigación de la Universidad

Complutense cree que en un futuro a través de los P2X se podría controlar la función presináptica, y con ello tratar enfermedades derivadas de fallos en su funcionamiento. Por ejemplo, en la enfermedad de Alzheimer, en la que existe un déficit o una disminución de la secreción de acetilcolina, se podría intervenir mediante el desarrollo de agonistas que estimularán esa secreción. “Hay que empezar a desarrollar la farmacología del ATP”, asegura Miras Portugal, académica de número de la Real Academia de Farmacia, “porque puede tener numerosas aplicaciones”.

Entre éstas una de las más llamativas será probablemente la de las patologías que cursan con una inflamación con activación de la microglia, que son procesos previos a la neurodegeneración y a las situaciones de dolor crónico. Se ha observado que la familia de los P2X7 se presentan de forma incrementada en la inflamación que se origina en las zonas donde un nervio ha sido dañado y comienza a regenerarse.

Según la investigadora, la dificultad que entraña la regeneración nerviosa se encuentra más en la obstrucción del camino que el axon ha de recorrer desde el cuerpo de la neurona que en el propio crecimiento del nervio. Las células gliales dan lugar a una especie de inflamación que taponan el camino, en muchos casos largo, que tiene que recorrer éste para establecer sinapsis con una célula muscular o de cualquier otro tipo. Imaginemos una neurona motora colinérgica de la médula espinal, que tiene su cuerpo celular en las astas dorsales de la médula espinal y tiene que regenerarse hasta la punta del dedo gordo del pie, propone Miras Portugal. “Es como si la fábrica estuviera en Móstoles y tuviéramos que llevar las cosas hasta el puerto de Barcelona y además, por una cinta continua, pero aún con ese largo trayecto por delante el nervio podría llegar poco a poco si tuviera la vía libre”.

El trabajo de este grupo le ha llevado a descubrir que en los *obstáculos* de esas vías se expresan en una alta concentración los receptores P2X7, P2X2 y P2X4, y que además el nervio utiliza el P2X7 como sensor para poder avanzar. Por ello, creen que si se consiguen desarrollar fármacos que actúen de antagonistas sobre estos receptores de ATP y dinucleótidos, se podrían tratar algunas patologías relacionadas con la neurodegeneración.

También están investigando la presencia de receptores ionotrópicos presinápticos en las neuronas dopaminérgicas, es decir, aquellas que generan dopamina, neurotransmisor disminuido en la enfermedad de Parkinson. En este tipo de neuronas han observado que en la zona del axon y de las dendritas también aparecen los P2X, que controlan la secreción de dopamina favoreciéndola, lo cual puede significar la aparición de nuevas dianas farmacológicas también para esta patología.

Otra enfermedad con predisposición familiar es el grupo de las epilepsias y “es de esperar que en breve plazo se conozcan polimorfismos del gen P2X7” que predispongan a sufrir algún tipo de epilepsia familiar. La variación entre el alelo procedente del padre y de la madre suele ser tan sólo en uno o dos aminoácidos de toda la secuencia. Normalmente, explica Teresa Miras esta mínima diferencia “no tiene que porqué provocar ningún problema, pero ya se conocen polimorfismos del receptor P2X7, que también es muy abundante en los linfocitos y otras células del sistema inmune que favorecen la aparición de leucemias.

Y dentro de las enfermedades estudiadas en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular en relación a los P2X, se encuentran también algunas de las que afectan al sistema inmune. En éstas las células se reconocen e interactúan de una manera muy parecida a la del sistema nervioso y de hecho también se habla de la sinapsis inmunológica.

Desde hace décadas uno de los compuestos que se viene utilizando para el tratamiento de las helmintiasis, gusanos parasitarios del tipo de las lombrices o áscaris es la ivermectina. “¿Y sobre que actúa?”, pregunta casi retóricamente la especialista. Pues sobre los receptores ionotrópicos de ATP, es un antagonista P2X en general y más específico del P2X2 y también aunque en menor medida del P2X4. “Pero esto hasta hace poco se desconocía, se usaba porque resultaba efectivo pero no se sabía sobre que actuaba. Ahora ya se sabe”. Y lo mismo se aplica a la suramina o germanina, otro compuesto utilizado en el tratamiento de infecciones causadas por protozoos, que es un antagonista poderoso de múltiples receptores P2X. “Es importante conocerlos mejor porque son compuestos muy usados tanto en humanos como en animales”.

En esta línea están colaborando con una serie de grupos para conocer el comportamiento de los macrófagos, células de nuestro sistema inmune que captan y digieren bacterias patógenas procedentes del exterior y cuyas anomalías provocan graves enfermedades infecciosas como la leishmaniasis, en la que los macrófagos resultan perturbados. Es una enfermedad transmitida por el mosquito flebotomo a través del cual se introducen en el organismo unas células que terminan alojándose en los macrófagos alterando su funcionamiento. Es una enfermedad común en zonas de África, Sudamérica y Asia tropical pero actualmente se están empezando a dar muchos casos también en España, principalmente en menores. Las células patógenas que producen la leishmaniasis utilizan los receptores P2X para comunicarse y captar la riqueza del medio en que se alojan “porque el ATP al fin y al cabo es un sensor de riqueza, de energía para que los sistemas puedan funcionar”.

Y la enumeración de patologías en las que los P2X parecen tener relación continúa: un tipo de infertilidad masculina que se debe a anomalías en la familia de los P2X1; problemas de control de la micción, controlada por los receptores ionotrópicos de ATP P2X3 y P2X4; susceptibilidad al dolor, modulada por los P2X2, P2X4 y posiblemente P2X7; y en general, anomalías en la secreción de neurotransmisores y en la función sináptica; y patologías en las que se presente inflamación a nivel central con efecto en microglía y regeneración.

Ante lo expuesto, es evidente que los P2X darán mucho juego en la búsqueda de terapias en el futuro. No obstante, a pesar de los conocimientos actuales no existe todavía farmacología dirigida a ellos. Según Miras Portugal, “es algo que debe empezar a desarrollarse” al mismo tiempo que la investigación básica siga avanzando. “Cuanto más sepamos sobre todos los neurotransmisores mejores terapias conseguiremos, terapias combinadas y más específicas”, con las que se podrán tratar enfermedades sin tratamiento en la actualidad y también, y probablemente en un plazo más corto, eliminar efectos secundarios de fármacos ya empleados. “Es importantísimo conocer los fundamentos de las cosas porque algo puede ser muy eficaz pero tal vez a la larga puede afectar a otros sistemas. Tenemos que ser muy cuidadosos”.

El otro tipo de receptores nucleotídicos, los P₂Y

Existe otro tipo de receptores purinérgicos (de nucleótidos) conocidos como los P₂Y, y el equipo de Miras Portugal también se dedica a su estudio. Los P₂Y son receptores metabotrópicos y reconocen cualquier tipo de nucleótido, el ATP, el UTP, el ADP, etc. Son más numerosos en familias que los P₂X, existen 15 tipos diferentes, y se presentan en todo tipo de células y neuronas, tanto en las terminales presinápticas como postsinápticas, así como en astrocitos.

Gran parte de los P₂Y están relacionados con fallos en la secreción de fluidos. Un ejemplo claro de su función se encuentra en la fibrosis quística, afección respiratoria provocada por la falta de fluidificación del mucus pulmonar. Es la enfermedad genética más abundante en Europa.

Ahora se sabe que para que el organismo secrete ese lubricante y pueda diluirlo, el receptor de UTP/UDP son esenciales en pulmón, es decir, que son los receptores P₂Y₂, P₂Y₄ y P₂Y₆ los que reconocen el UTP y el UDP y hacen que el mucus se fluidifique. A los afectados se les administra un spray con UTP/UDP u otros análogos que al activar la función de sus receptores metabotrópicos en las vías aéreas, hace que se optimice la escasa función remanente en el transportador de aniones de la membrana del epitelio pulmonar, conocida como CFTR, que es la proteína cuya anomalía provoca la aparición de síntomas de la fibrosis quística.

También están relacionados con la presión intraocular, con el ojo seco y la secreción vaginal, entre otros lubricantes de epitelios de nuestro organismo. En todos ellos, la actuación de los P₂Y es fundamental. La búsqueda de tratamientos dirigidos a éstos es "fácil" si se trata de aplicaciones tópicas, pero muchos más complicada si su lugar de acción es dentro del organismo, a nivel de órganos internos, o del sistema nervioso central. "Es aquí donde la síntesis química, la farmacocinética y la galénica tienen establecido su gran reto".

FICHA TÉCNICA

Grupo de investigación en receptores de la terminal presináptica

Centro: Departamento de Bioquímica y Biología Molecular IV. Facultad de Veterinaria.
Universidad Complutense de Madrid

Coordinador: María Teresa Miras Portugal

Dirección: Ciudad Universitaria
28040 Madrid

Teléfono: 913943894

Fax: 91 394 3909 / 3824

Email: mtmiras@vet.ucm.es

Página web del grupo: <http://www.ucm.es/info/bbm4/>

Líneas de investigación: El ATP y nucleótidos en general como neurotransmisores; Receptores ionotrópicos de nucleótidos; Receptores metabotrópicos de nucleótidos; Destrucción celular de nucleótidos ecto-nucleotidasas; Regulación de sinapsis purinérgicas por los sistemas colinérgicos y glutamatérgicos