

Modulación neuronal por segundos mensajeros

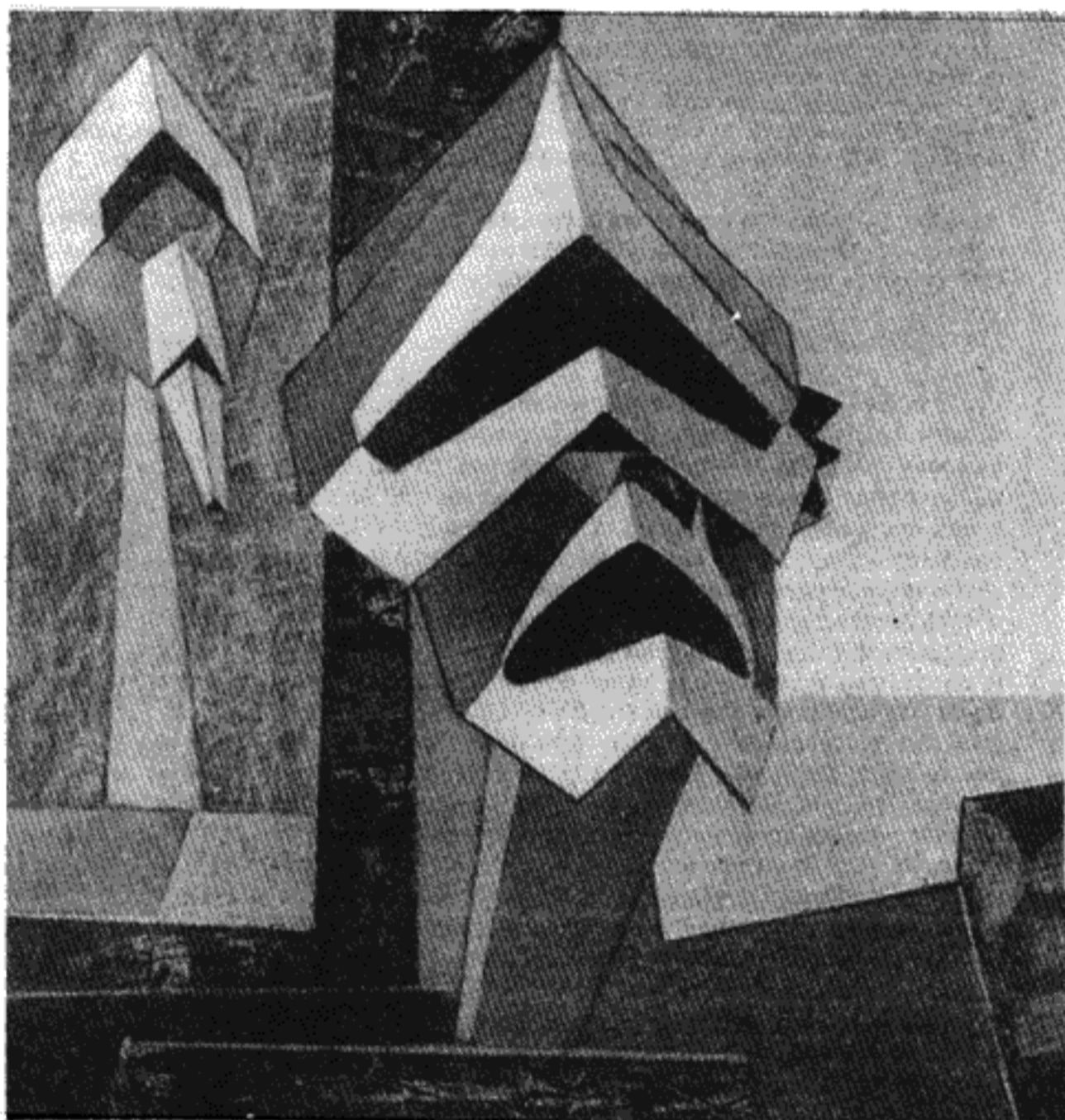
El fosfatidil inositol

JOSÉ LUIS GÓNGORA ALFARO*

En los organismos pluricelulares, el mantenimiento de la constancia del medio interno (homeostasis) requiere de un continuo flujo de información entre las células que lo integran. En ellos, el sistema nervioso ha logrado un alto grado de especialización en comunicación intercelular, que se manifiesta en el trabajo armonioso de los millones de neuronas que lo constituyen, así como en su capacidad para coordinar el trabajo de un gran número de tejidos que desempeñan diversas funciones. Esta comunicación se logra mediante señales químicas, los neurotransmisores, capaces de inducir diversos efectos en las células blanco.

Acorde con la gran variedad de sistemas que controla, el sistema nervioso está constituido por una población heterogénea de neuronas, las cuales difieren entre sí por su morfología, sus conexiones con otras neuronas, su patrón de actividad eléctrica, el tipo de neurotransmisor que utilizan y el tipo de receptores y segundos mensajeros para comunicarse con otras células. Algunas de estas propiedades pueden modificarse por la influencia de mensajeros químicos procedentes de otras neuronas y aún de otros tejidos. Por ejemplo, el patrón de aparición de los potenciales de acción es susceptible de modificarse por la acción de ciertos neurotransmisores, alterando con ello la capacidad de la neurona para codificar las señales químicas procedentes de otras regiones del cerebro. En otros casos estas sustancias pueden modificar la capacidad de comunicación de las neuronas al regular la

velocidad de síntesis y/o liberación de neurotransmisores en los botones sinápticos. También, se ha observado que los mensajeros extracelulares pueden producir cambios permanentes en las neuronas, que han sido asociados a algunas funciones como la memoria y el aprendizaje. Por tal motivo, uno de los



* Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN.

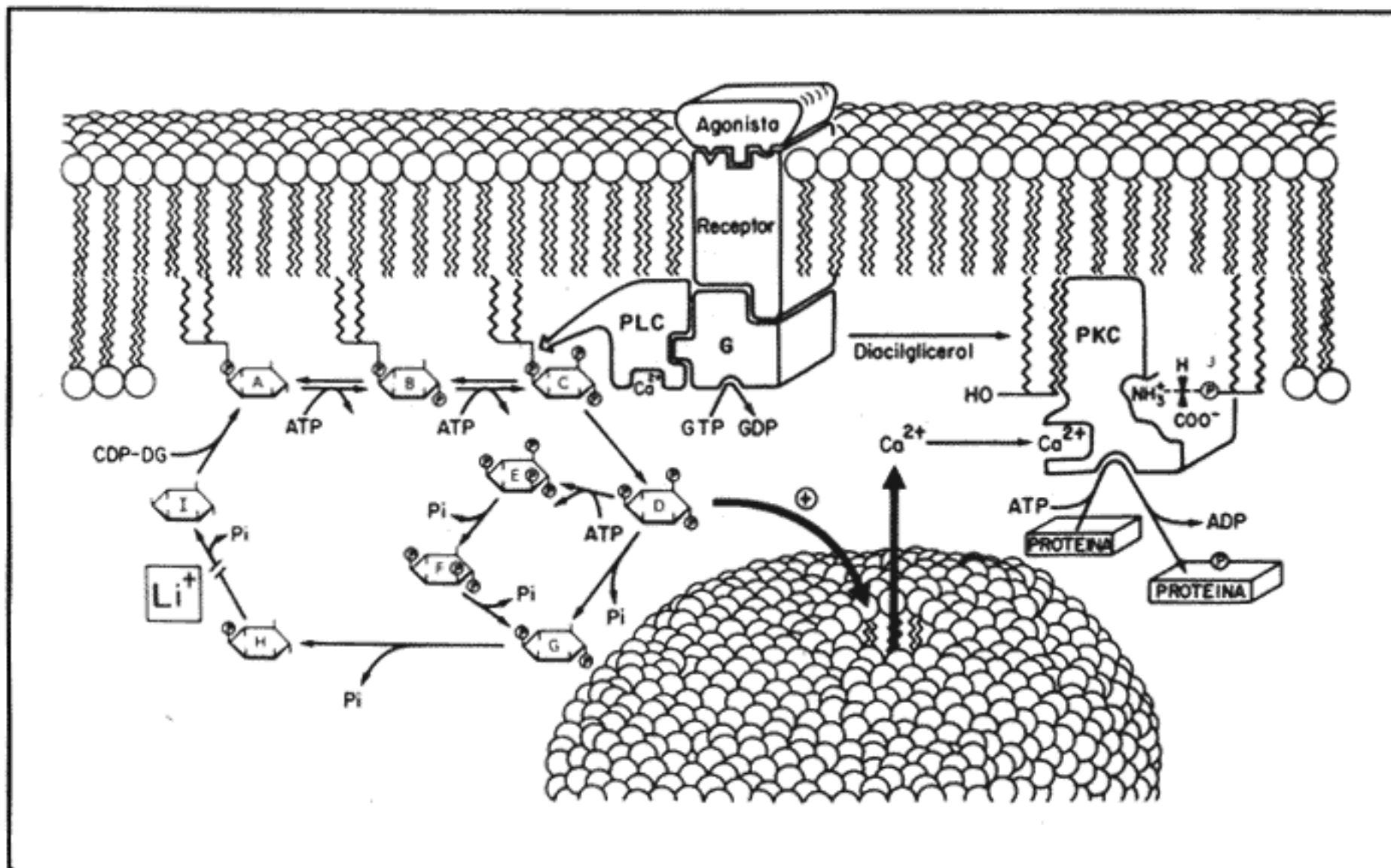


Figura 1. Representación esquemática del ciclo del fosfatidil inositol. La figura muestra en forma idealizada el modelo del mosaico fluido de la membrana celular. Los extremos polares de los fosfolípidos están representados como círculos y sus colas hidrofóbicas de ácidos grasos como líneas en zigzag. Los receptores y las proteínas asociadas a ellos están embebidas en la bicapa de fosfolípidos. PLC = fosfolipasa C; G = proteína reguladora dependiente de nucleótidos de guanina; PKC = proteína-quinasa C; proteína-P = proteína fosforilada; GTP = guanosín trifosfato; GDP = guanosín difosfato; ATP = adenosín trifosfato; ADP = adenosín difosfato; CDP-DG = citidín difosfato-diacil glicerol; Pi = fosfato. A) fosfatidil inositol; B) fosfatidil inositol 4-fosfato; C) fosfatidil inositol 4,5-bisfosfato; D) inositol 1,4,5-trifosfato; E) inositol 1,3,4,5-tetrakisfosfato; G) inositol 1,4-bisfosfato; H) inositol 1-fosfato; I) inositol; J) fosfatidil serina.

aspectos que más han interesado a los estudiosos del sistema nervioso, es el mecanismo por el cual los mensajeros químicos extracelulares modifican el funcionamiento neuronal.

LOS SEGUNDOS MENSAJEROS

Los estudios farmacológicos con análogos estructurales de neurotransmisores, sugieren que en la membrana plasmática de todas las células existen moléculas que poseen un alto grado de complementariedad por el mensajero extracelular, de tal forma que ambos encajan de manera similar a como lo haría una llave con su cerradura. A estas moléculas que funcionan como antenas para las señales químicas se les ha designado con el nombre genérico de receptores. Actualmente existen evidencias que sugieren que los receptores son proteínas que se encuentran inmersas en la bicapa de fosfolípidos que constituyen las membranas celulares (figura 1). De acuerdo a la teoría del mosaico fluido de la estructura de la membrana propuesto por Singer y Nicolson en 1972, los receptores pueden moverse lateralmente en el plano de la membrana lo cual les permite ponerse en contacto con otras proteínas, algunas de las cuales pueden acoplarse a los receptores y funcionar como sistemas que transfieren la señal del mensajero químico extracelular hacia el citoplasma. El primero de estos sistemas fue descrito por Earl W. Sutherland y Theodore W. Rall en 1958, quienes descubrieron, en células hepáticas, que los mensajeros químicos que reconocen a los receptores adrenérgicos de tipo B producen un incremento en la concentración del adenosín monofosfato cíclico (AMPc) intracelular. Este último repre-

sentó el primero de una serie de compuestos a los que se les ha designado con el nombre de segundos mensajeros. Los segundos mensajeros son moléculas capaces de regular diversos aspectos de la función celular y tienen ciertas características en común. En primer lugar, casi todos ellos se forman como respuesta a la interacción entre un mensajero extracelular con un receptor de la membrana plasmática. Por algún mecanismo, esta interacción produce la activación de una enzima ubicada en la membrana, la cual cataliza la síntesis del segundo mensajero a partir de un precursor. Por último, después de ejercer su efecto intracelular, los segundos mensajeros son metabolizados rápidamente por enzimas específicas, que regulan el curso temporal del efecto. Aunque se han identificado numerosos tipos de receptores, los sistemas de segundos mensajeros acoplados a ellos son muy pocos. Además del conocido sistema de la adenilato ciclasa podemos citar al sistema de la guanilato ciclasa, que produce el segundo mensajero guanosín monofosfato cíclico (GMPc), y al sistema de la fosfolipasa C acoplada al metabolismo del fosfatidil inositol. Este último ha sido uno de los que más interés han suscitado en los últimos 10 años y en los párrafos siguientes daremos una detallada descripción del mismo, así como de sus posibles funciones en el sistema nervioso central.

El descubrimiento del sistema de la fosfolipasa C tiene sus orígenes en los hallazgos de Lowell E. Hokin y Mabel Hokin en 1953, de que algunos mensajeros químicos estimulaban el metabolismo del fosfatidil inositol, un fosfolípido poco abundante de la membrana celular. Investigaciones posteriores de-

jaron establecido que un gran número de hormonas y neurotransmisores eran capaces de aumentar el recambio del fosfatidil inositol en diversos tipos celulares, incluyendo al tejido nervioso. El significado funcional de este efecto metabólico fue objeto de especulación durante muchos años hasta que, en 1975, Robert Michell hizo una observación crucial que significó el punto de partida para el estudio exhaustivo de esta vía metabólica. Señaló que aquellos mensajeros químicos que incrementaban el metabolismo del fosfatidil inositol tenían también una gran capacidad para aumentar la concentración de calcio en el citoplasma. Siendo el calcio el mediador de un gran número de procesos metabólicos, era importante establecer si en verdad existía una estrecha relación funcional entre ambos fenómenos. Las investigaciones realizadas en años posteriores demostraron que esta hipótesis era correcta.

EL CICLO DEL FOSFATIDIL INOSITOL

El fosfatidil inositol representa aproximadamente el 3% de la fracción total de fosfolípidos de la membrana plasmática y desempeña más que una simple función estructural. Existen evidencias de que se encuentra localizado en la monocapa de fosfolípidos orientada hacia el citoplasma, ocupando así una posición estratégica para servir como precursor de segundos mensajeros (figura 1). Aun cuando la célula no reciba un estímulo químico, el fosfatidil inositol es metabolizado continuamente por dos cinasas de la membrana que le añaden grupos fosfato en las posiciones 4 y 5 del anillo de inositol, generándose el fosfatidil inositol 4-fosfato y el fosfatidil inositol 4,5-bifosfato. Este último es el precursor de dos sustancias que reúnen las características para ser considerados como segundos mensajeros: el inositol 1,4,5- trifosfato (IP3) y el diacil glicerol (figura 1). La enzima que cataliza la formación del IP3 y el diacil glicerol es una fosfodiesterasa denominada fosfolipasa C, que ha sido identificada en la membrana plasmática de prácticamente todos los tipos celulares que se han estudiado. Se ha supuesto que los neurotransmisores inducen un cambio en la forma de los receptores, mismo que a su vez modifica la actividad de la fosfolipasa C, haciéndola pasar de un estado inactivo a otro activo. Esta activación no es directa, sino que se efectúa

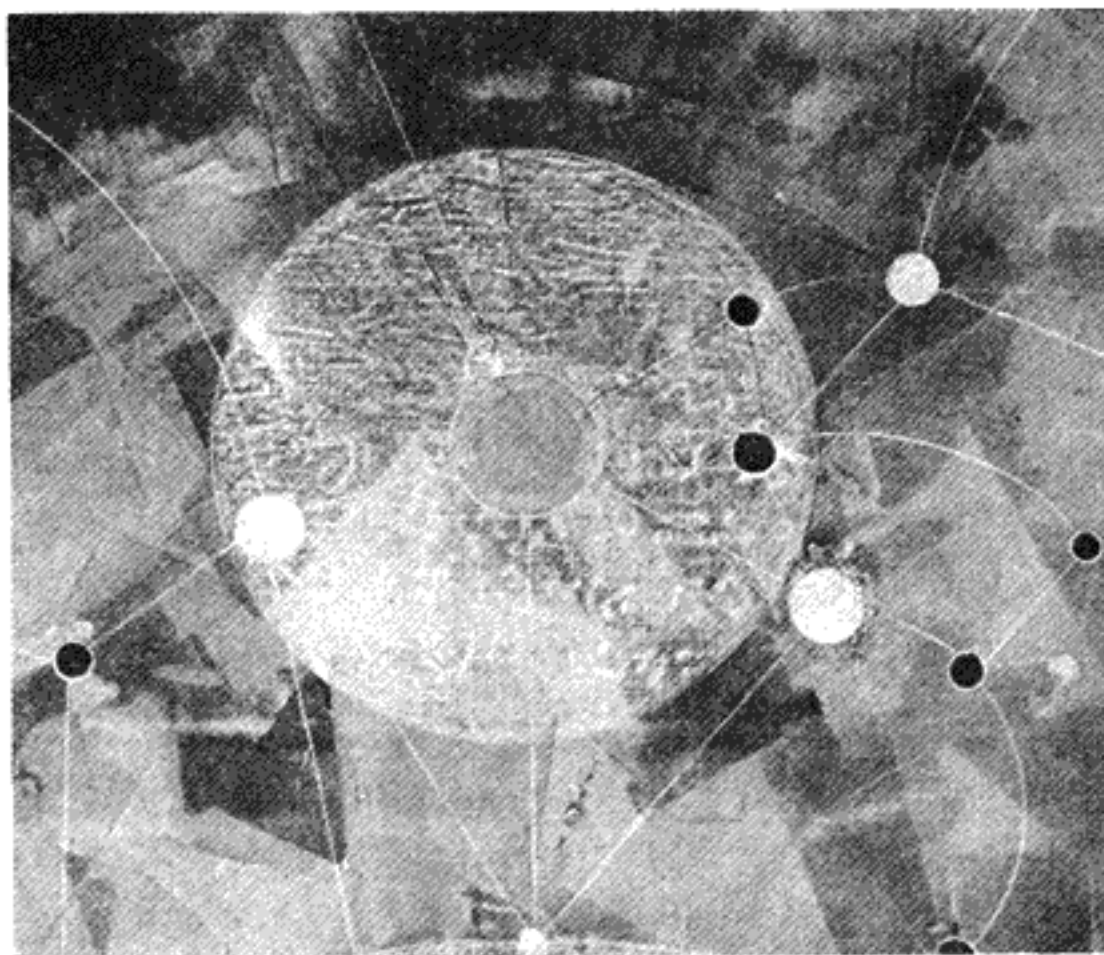
por medio de una clase especial de proteínas que dependen para su actividad del guanosín trifosfato (GTP), razón por la cual se les ha denominado proteínas G. En su estado activo, el sustrato principal de la fosfolipasa C es el fosfatidil inositol 4,5-bifosfato y cataliza la hidrólisis del enlace éster entre el carbono 3 de la cadena del glicerol y el fosfato en la posición 1 del inositol, con la consiguiente formación del IP3 y el diacil glicerol.

EL INOSITOL TRIFOSFATO COMO SEGUNDO MENSAJERO

En 1983, Michael Berridge y sus colaboradores aportaron la primera evidencia de que el IP3 podría ser el mediador de la liberación de calcio almacenado en el retículo endoplásmico. Hallaron que el IP3 era capaz de inducir la liberación de calcio en células pancreáticas permeabilizadas. Este efecto ha sido confirmado por varios grupos en diversos tipos de células y es estereoespecífico, ya que sólo se produce con el isómero del IP3 que tiene los fosfatos en las posiciones 1, 4 y 5. Las evidencias más directas de su papel como segundo mensajero se han obtenido con experimentos de microinyección. En varios tipos de células, la aplicación intracelular de IP3 por medio de micropipetas puede desencadenar efectos biológicos iguales o semejantes a los producidos por los neurotransmisores que estimulan el metabolismo del fosfatidil inositol. Como cabría esperar de un segundo mensajero, el efecto del IP3 sobre la liberación de calcio aparece rápidamente y es de corta duración. Se ha calculado que su vida media en hepatocitos es de 4 segundos. Existen por lo menos dos vías por las cuales el IP3 es metabolizado. La primera de ellas depende de varias fosfatasas que catalizan la desfosforilación sucesiva en las posiciones 5, 4 y 1 del inositol. De esta forma se generan el inositol 1,4-bifosfato, el inositol 1-fosfato y el inositol libre, todos los cuales carecen del efecto liberador de calcio del retículo endoplásmico. El ión litio puede inhibir en forma importante a la fosfatasa que remueve el fosfato de la posición 1 del inositol. Desde hace muchos años se sabe que el carbonato de litio es útil para el tratamiento de la enfermedad maníaco depresiva. Se han hallado evidencias de que la fase maníaca de esta enfermedad

se debe a un incremento de la neurotransmisión noradrenérgica en el sistema nervioso central. Puesto que algunos efectos centrales de la noradrenalina están mediados por la activación de receptores adrenérgicos del tipo acoplados al sistema de la fosfolipasa C, se ha sugerido que el efecto terapéutico del litio en la enfermedad maníaco depresiva se debe a que reduce la disponibilidad de inositol para la resíntesis del fosfatidil inositol. Esto tendría como consecuencia una disminución del fosfatidil inositol 4,5- bifosfato en la membrana plasmática y, por ende, de los segundos mensajeros IP3 y diacil glicerol.

La vía del inositol tetrakisfosfato. Una vía alterna para el metabolismo del IP3 depende de una cinasa que cataliza la adición de un grupo fosfato a la posición 3 del anillo de inositol. Esta enzima, que fué identificada inicialmente en la fracción soluble de homogenados del cerebro de la rata, explica la formación del inositol 1,3,4,5- tetrakisfosfato (IP4) en tejidos estimulados con neurotransmisores. Algunas evidencias sugieren que el IP4 podría funcionar también como mensajero intracelular, actuando en forma sinérgica con el IP3 para facilitar la



entrada de calcio del medio extracelular. El IP₄ es metabolizado por una fosfatasa que remueve el fosfato de la posición 4, generándose el inositol 1,3,5-trifosfato, un isómero del IP₃ que no induce la liberación de calcio del retículo endoplásmico.

Recientemente se ha reportado la presencia de inositol pentakisfosfato y hexakisfosfato en algunos núcleos del cerebro de la rata. Sin embargo, se desconoce su función, así como las vías metabólicas que los producen.

EL DIACIL GLICEROL COMO SEGUNDO MENSAJERO

El otro segundo mensajero formado por la actividad de la fosfolipasa C es el diacil glicerol, compuesto liposoluble que permanece en el plano de la membrana en donde ejerce sus efectos. Yasutomi Nishizuka y sus colaboradores han demostrado que el diacil glicerol aumenta la afinidad de la protein-cinasa C por el ión calcio. La protein-cinasa C es una enzima que depende del calcio y de la fosfatidil serina de la membrana celular para activarse. Es muy abundante en el cerebro de los mamíferos y se sabe que modifica la función celular través de la fosforilación de diversas proteínas intracelulares. Existen evidencias de que el IP₃ puede actuar en forma sinérgica con el diacil glicerol para activar a la protein-cinasa C al promover la liberación de calcio de los depósitos intracelulares. El efecto del diacil glicerol termina cuando una cinasa lo transforma en ácido fosfatídico, o bien, cuando es catabolizado por una lipasa.

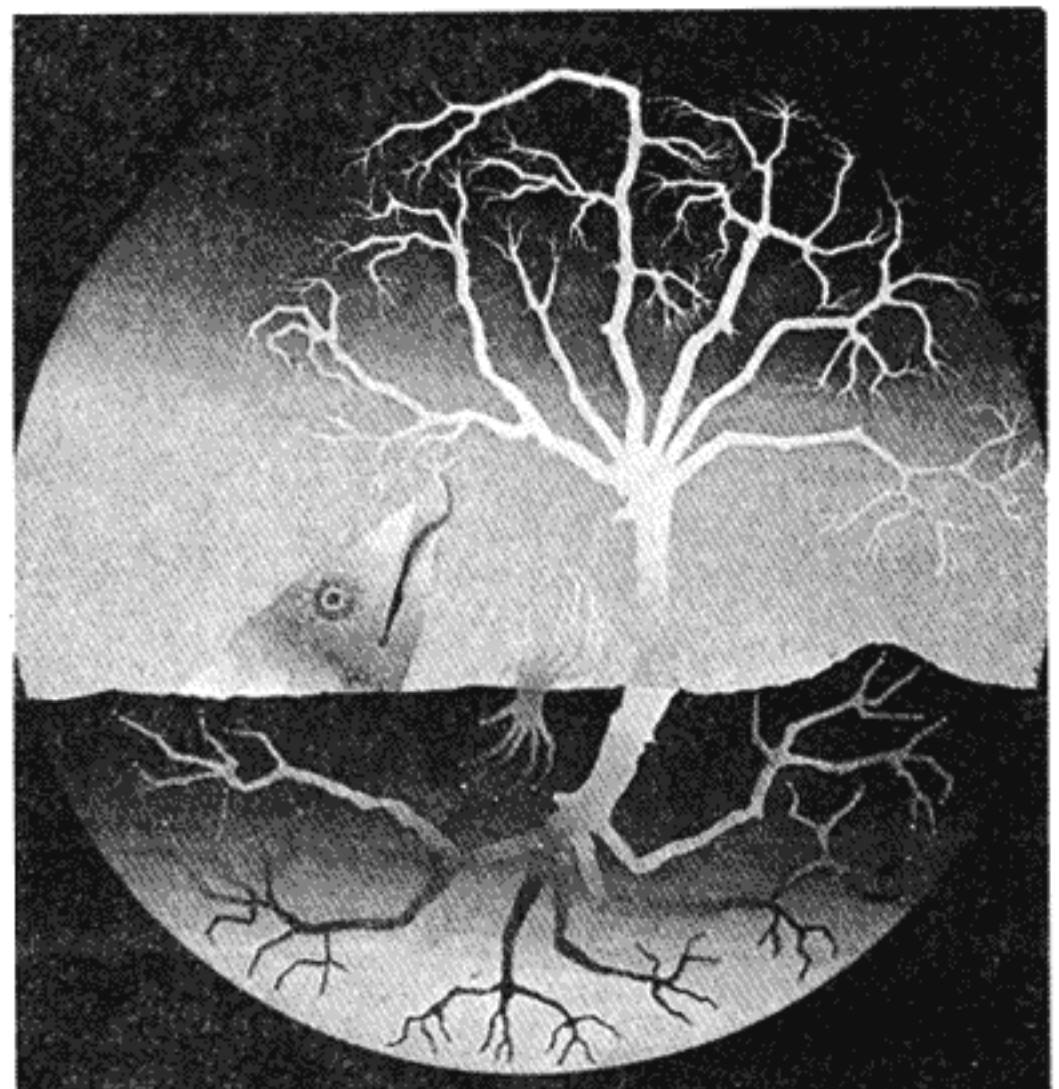
POSIBLES FUNCIONES DEL INOSITOL TRIFOSFATO Y DEL DIACIL GLICEROL EN EL SISTEMA NERVIOSO

En el cerebro de los mamíferos un gran número de neurotransmisores son capaces de estimular el metabolismo del fosfatidil inositol (tabla 1). Uno de los más conocidos es la acetilcolina, la cual estimula el metabolismo del fosfatidil inositol a través de su interacción con receptores de tipo muscarínico. En algunas neuronas, la activación de los receptores muscarínicos por la acetilcolina produce una despolarización lenta y de larga duración. Se ha sugerido que este neurotransmisor podría aumentar la excitabilidad neuronal a través de la formación de segundos mensajeros capaces de estimular la actividad de la protein-cinasa C. La fosforilación de ciertos canales iónicos catalizada por esta cinasa podría modificar la permeabilidad iónica de los mismos, con el consiguiente aumento de la excitabilidad. Se ha observado que en algunas regiones del cerebro como la corteza cerebral, el hipocampo y el caudo-putamen, reciben abundante inervación colinérgica y además contienen numerosos receptores muscarínicos. Una de las posibles funciones de la acetilcolina en estos núcleos, podría ser el mantenimiento de un estado de excitabilidad basal que tendría importancia para las funciones de integración de la información. Este concepto está apoyado por la observación clínica de que en la enfermedad de Alzheimer, el deterioro de las funciones cognitivas está asociada a una pérdida de la inervación colinérgica de la corteza cerebral. Aquí cabe preguntarse si el efecto de la acetilcolina sobre la excitabilidad neuronal tiene lugar a través de la formación de los segundos mensajeros IP₃ y diacil glicerol. Recientemente, se ha reportado que en la corteza cerebral, el hipocampo y el caudo-putamen de la rata existen sitios de unión de alta afinidad para el IP₃ y el diacil glicerol, lo cual apoya el concepto de que la acetilcolina u otros neu-

Tabla 1. Neurotransmisores que estimulan el metabolismo del fosfatidil inositol en el cerebro de los mamíferos

Neurotransmisor	Tipo de receptor
Acetilcolina	Muscarínico
Noradrenalina	alfa 1
Serotonina	5-HT ₂
Histamina	H ₁
Glutamato	Quiscualato
Substancia P	—

rotransmisores que estimulan el metabolismo del fosfatidil inositol podrían regular la excitabilidad neuronal a través de la formación de estos segundos mensajeros. Uno de los modelos que se han utilizado para estudiar la posible participación del diacil glicerol sobre el control de la síntesis y liberación de neurotransmisores son las células cromafines aisladas de la médula suprarrenal y estimuladas con ésteres de forbol. Estos compuestos tienen un parecido estructural con el diacil glicerol y han sido utilizados como herramienta experimental por su capacidad de activar a la protein-cinasa C. Las células cromafines son de origen neural y sintetizan catecolaminas (adrenalina y noradrenalina). La tirosina hidroxilasa es la enzima que representa el paso limitante para la síntesis de estos neurotransmisores y experimenta regulación por diversas cinasas. Se ha observado que cuando las células cromafines son incubadas con ésteres de forbol se produce un aumento en la fosforilación de la tirosina hidroxilasa. Al parecer, el resultado de esta fosforilación es un incremento en la actividad de la enzima y por lo tanto, de la síntesis de catecolaminas. Por añadidura, los ésteres de forbol facilitan la entrada de calcio a las células cromafines cuando reciben estímulos con drogas que activan a los receptores colinérgicos de tipo nicotínico. Siendo



el calcio un elemento indispensable para la secreción de neurotransmisores, el resultado es un incremento de la liberación de catecolaminas. Es posible que la protein-quinasa C también controle la liberación de neurotransmisores en el sistema nervioso central. Se ha observado que los ésteres de forbol facilitan la transmisión sináptica en el hipocampo de la rata. Aunque el mecanismo se desconoce, este efecto es similar a la facilitación a largo plazo que se produce cuando las fibras aferentes son estimuladas brevemente a una frecuencia elevada. Por esta razón, se ha sugerido que la activación de la protein-quinasa C por el diacil glicerol podría estar relacionada con la adquisición de la memoria a corto plazo. Asimismo, existen datos que sugieren que el diacil glicerol puede modular la actividad eléctrica de algunas neuronas modificando la permeabilidad de ciertos canales iónicos. Por ejemplo, en las células piramidales de la región SCA1 del hipocampo, los ésteres de forbol inhiben una corriente de potasio activada por calcio, lo cual tiene como consecuencia una modificación en el patrón de aparición de los potenciales de acción.

Algunas evidencias sugieren que el IP3 también podría regular la excitabilidad neuronal a través de la modulación de ciertos canales iónicos sensibles a la concentración de calcio en el citoplasma. Se ha observado que la microinyección de IP3 a células híbridas de neuroblastoma-glioma produce una hiperpolarización que depende de la apertura de un canal de potasio activado por calcio. Este efecto es similar a la breve hiperpolarización producida por el péptido bradicinina, el cual estimula el metabolismo del fosfatidil inositol en esta clase de células.

Los ejemplos mencionados constituyen solo una muestra que apoya el concepto de que los receptores acoplados al sistema de la fosfolipasa C representan un mecanismo muy versátil que podría regular diversas funciones neuronales a través de la producción de cuando menos tres posibles mensajeros intracelulares: el inositol trifosfato, el inositol tetrakisfosfato y el diacil glicerol. Con seguridad, las investigaciones de los años venideros permitirán conocer mejor los mecanismos por los cuales los neurotransmisores modifican la capacidad de las neuronas para codificar señales y enviar mensajes químicos a otras células. □

BIBLIOGRAFÍA

- Berridge, M.J. 1984. Inositol trisphosphate and diacylglycerol as second messengers. *Biochem. J.* 220, p.p. 345-360.
- Berridge, M.J. 1986. Regulation of ion channels by inositol trisphosphate and diacylglycerol. *J. Exp. Biol.* 124, p.p. 323-335.
- Berridge, M.J. 1987. Inositol trisphosphate and diacylglycerol: two interacting second messengers. *Ann. Rev. Biochem.* 56, p.p. 159-193.
- Berridge, M.J. & R.F. Irvine. 1984. Inositol trisphosphate, a novel second messenger in cellular signal transduction. *Nature* 312, p.p. 315-321.
- Exton, J.H. 1985. Role of calcium and phosphoinositides in the actions of certain hormones and neurotransmitters. *J. Clin. Invest.* 75, p.p. 1753-1757.
- Higashida, H. & D.A. Brown. 1986. Two polyphosphatidylinositol metabolites control two K⁺ currents in a neuronal cell. *Nature* 323, p.p. 333-335.
- Hokin, L.F. 1985. Receptors and phosphoinositide-generated second messengers. *Ann. Rev. Biochem.* 54, p.p. 205-235.
- Houchi, H., A. Nakanishi, M.M. Uddin, T. Ohuchi & M.

- Oka. 1985. Phorbol ester stimulates catecholamine synthesis in isolated bovine adrenal medullary cells. *FEBS Lett.* 188, p.p. 205-208.
- Irvine R.F. & R.M. Moor. 1986. Micro-injection of inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate activates sea urchin eggs by a mechanism dependent on external Ca²⁺. *Biochem. J.* 240, p.p. 917-920.
- Malenka, R.C., D.V. Madison & R.A. Nicoll. 1986. Potentiation of synaptic transmission in the hippocampus by phorbol esters. *Nature* 321, p.p. 175-177.
- Michell, R.H., C.J. Kirk, L.M. Jones, C.P. Downes & J.A. Creba. 1981. The stimulation of inositol lipid metabolism that accompanies calcium mobilization in stimulated cells: defined characteristics and unanswered questions. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 296, p.p. 123-137.
- Morris, A.P., D.V. Gallacher, R.F. Irvine & O.H. Petersen. 1987. Synergism of inositol trisphosphate and tetrakisphosphate in activating Ca²⁺-dependent K⁺ channels. *Nature* 330, p.p. 653-655.
- Nishizuka, Y. 1984. The role of protein kinase C in cell surface signal transduction and tumour promotion. *Nature* 308, p.p. 693-697.
- Pocotte, S.L. & R.W. Holz. 1986. Effects of phorbol ester on tyrosine hydroxylase phosphorylation and activation in cultured bovine adrenal chromaffin cells. *J. Biol. Chem.* 261, p.p. 1873-1877.
- Storey, D.J., S.B. Shears, C.J. Kirk & R.H. Michell, 1984. Stepwise enzymatic dephosphorylation of inositol 1,4,5-trisphosphate to inositol in liver. *Nature* 312, p.p. 374-376.
- Streb, H., R.F. Irvine, M.J. Berridge & I. Schulz. 1983. Release of Ca²⁺ from a nonmitochondrial intracellular store in pancreatic acinar cells by inositol-1,4,5-trisphosphate. *Nature* 306, p.p. 67-69.
- Vallejo, M., T. Jackson, S. Lightman & M.R. Hanley. 1987. Occurrence and extracellular actions of inositol pentakis- and hexakisphosphate in mammalian brain. *Nature* 330, p.p. 656-658.
- Wakade, A.R., R.K. Malhotra & T.D. Wakade. 1986. Phorbol ester facilitates 45 Ca accumulation and catecholamine secretion by nicotine and excess K⁺ but not by muscarine in rat adrenal medulla. *Nature* 321, p.p. 698-700.
- Worley, P.F., J.M. Baraban, J.S. Colvin & S.H. Snyder. 1987. Inositol trisphosphate receptor localization in brain: variable stoichiometry with protein kinase C. *Nature* 325, p.p. 159-161. .m:1.

