

Transmisión de señales entre células

15

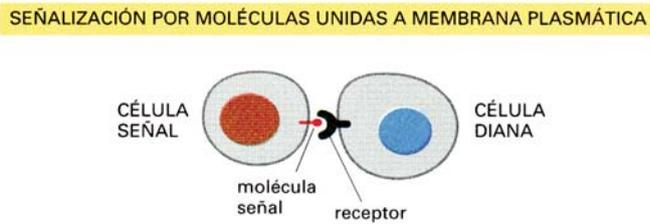
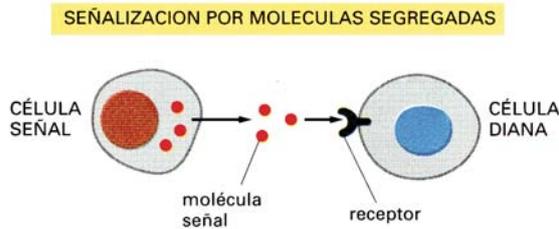
- Principios generales de la señalización celular
- Señalización vía receptores de superficie celular asociados a proteínas G
- Señalización vía receptores de superficie celular asociados a enzimas
- Adaptación de las células diana
- La lógica de la señalización intracelular: lecciones de “redes neuronales” basadas en los ordenadores

El registro fósil sugiere que hace 3,5 mil millones de años ya existían sofisticados organismos unicelulares parecidos a las bacterias actuales, pero que al parecer fueron necesarios otros 2,5 mil millones de años para que apareciera el primer organismo pluricelular (véase Figura 1-17). ¿Por qué la pluricelularidad tardó tanto en evolucionar? Aunque no podemos conocer la respuesta parece que esta cuestión está relacionada con la necesidad de los organismos pluricelulares de elaborar señales que permitieran a sus células comunicarse entre sí, de forma que pudieran coordinar su comportamiento en beneficio del organismo como un todo. Las señales intercelulares, interpretadas por complejas maquinarias de la célula que responde a ellas, permite a cada célula determinar su posición y su papel especializado en el cuerpo y, por ejemplo, asegurar que cada célula se divida únicamente cuando sus vecinas dicten que ello puede ser posible. La importancia de estos “controles sociales” sobre la división celular se hace aparente cuando el control falla, dando lugar a un cáncer, que habitualmente mata el organismo pluricelular.

A medida que vamos disponiendo de técnicas sofisticadas y potentes que nos permiten estudiar las células y los mecanismos que utilizan para comunicarse entre sí, lentamente vamos comprendiendo los procesos de señalización que utilizan los eucariotas superiores. Una célula animal contiene un elaborado sistema de proteínas que le permite responder a señales que provienen de otras células. El sistema incluye proteínas receptoras de la superficie celular, proteínas receptoras intracelulares, proteína quinasas, proteína fosfatasa, proteínas que unen GTP y el enorme número de proteínas intracelulares con las que interactúan estas proteínas de señal. En este capítulo discutimos en primer lugar los principios generales de la señalización intercelular. En las dos secciones siguientes consideramos las dos principales familias de proteínas receptoras de la superficie celular, y cómo generan señales intracelulares. A continuación examinamos de qué forma las células se adaptan continuamente para responder de forma sensible a pequeños cambios de concentración de moléculas señal extracelulares. Finalmente consideramos una analogía de las redes neuronales, basada en los ordenadores, que nos proporciona sugerencias sobre la forma en que trabajan las complejas redes de señales intracelulares.

Principios generales de la señalización celular¹

Casi con toda seguridad los mecanismos que permiten a una célula influir en el comportamiento de otra célula ya existían en el mundo de los organismos unice-



lulares mucho antes de que los organismos pluricelulares aparecieran sobre la Tierra. Algunas evidencias de ello provienen de estudios realizados en eucariotas unicelulares actuales, como las levaduras. A pesar de que normalmente estas células llevan una vida independiente, pueden comunicarse entre sí, y cada una de ellas puede influir en la proliferación de otra, en preparación del acoplamiento sexual. En la levadura de gemación *Saccharomyces cerevisiae*, por ejemplo, cuando un individuo haploide está preparado para el acoplamiento, segrega un péptido denominado *factor de acoplamiento* que constituye una señal para que las células cuyo tipo de acoplamiento es el contrario dejen de proliferar y se preparen para la conjugación; la fusión de dos células haploides de tipo de acoplamiento contrario produce una célula diploide, la cual entonces puede sufrir una meiosis y esporular, generando células haploides con una nueva dotación de genes.

Estudios sobre levaduras mutantes que son incapaces de acoplarse han permitido identificar muchas proteínas que son necesarias para este proceso de señalización. Estas proteínas forman una red de señalización que incluye receptores de superficie celular, proteínas que unen GTP y proteína quinasa, cada una de las cuales tiene parientes cercanos entre las proteínas que participan en la señalización de las células animales. Sin embargo, a través de la duplicación génica y de la divergencia, los sistemas de señalización de los animales se han vuelto mucho más elaborados que los de las levaduras.

Las moléculas señal extracelulares son reconocidas por receptores específicos de la superficie o del interior de las células diana²

Mientras que las células de levadura se comunican entre ellas para acoplarse, secretando diversos tipos de pequeños péptidos, las células de los animales superiores se comunican mediante centenares de tipos de moléculas señal, incluyendo proteínas, pequeños péptidos, aminoácidos, nucleótidos, esteroides, retinoides, derivados de ácidos grasos, e incluso gases disueltos como el óxido nítrico y el monóxido de carbono. La mayoría de estas moléculas señal están secretadas por las *células señal* mediante exocitosis (véase Capítulo 13). Otras se liberan por difusión a través de la membrana plasmática y sólo influyen en las células que están en contacto con la célula señalizadora (Figura 15-1).

Sea cual sea la naturaleza de la molécula señal, la *célula diana* responde mediante una proteína específica denominada **receptor**. Se une específicamente a la molécula señal, y entonces inicia una respuesta en la célula diana. Muchas de las moléculas señal extracelulares actúan a concentraciones muy bajas (típicamente $\leq 10^{-8}M$), y los receptores que las reconocen usualmente se unen a ellas con una elevada afinidad (constante de afinidad $K_a \geq 10^8$ litros/mol; véase Figura 3-9). En la mayoría de los casos los receptores son proteínas transmembrana de

Figura 15-1 Señalización intercelular en animales. Se ilustran dos sistemas a través de los que las células animales se comunican entre sí.

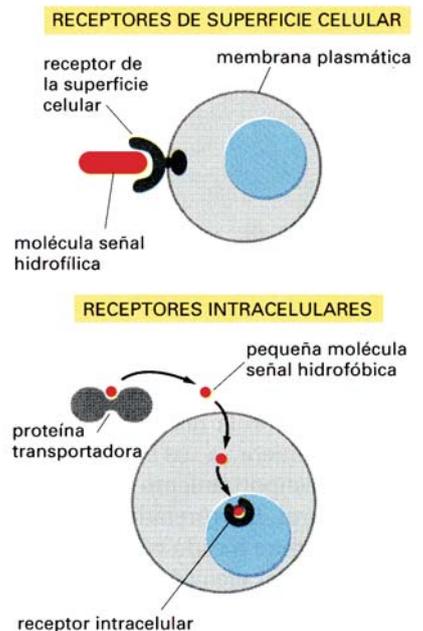


Figura 15-2 Las moléculas señal extracelulares se unen a receptores de la superficie celular o a receptores intracelulares. La mayoría de las moléculas señal son hidrofílicas, por lo que son incapaces de atravesar directamente la membrana plasmática; en lugar de ello, se unen a receptores de la superficie de la célula los cuales, a su vez, generan una o varias señales en el interior de la célula diana. Por el contrario, algunas pequeñas moléculas señal difunden a través de la membrana plasmática y se unen a receptores situados en el interior de la célula diana –en el citosol o en el núcleo (como se observa en la figura). Muchas de estas pequeñas moléculas señal son hidrofóbicas y casi insolubles en soluciones acuosas; por ello, son transportadas a través del torrente sanguíneo y de otros fluidos extracelulares, unidas a proteínas transportadoras, de las que han de disociarse antes de entrar a la célula diana.

las superficie de las células diana; cuando se unen a una molécula señal extracelular (un *ligando*) se vuelven activos, de forma que generan una cascada de señales intracelulares que alteran el comportamiento de la célula. En algunos casos, sin embargo, los receptores están situados en el interior de la célula diana, y el ligando señal entra a la célula para activarlos: estas moléculas señal, por lo tanto, han de ser suficientemente pequeñas e hidrofóbicas para poder difundir a través de la membrana plasmática (Figura 15-2).

En este capítulo nos centraremos fundamentalmente en el estudio de la comunicación entre células animales mediada por señales químicas segregadas. Este énfasis refleja el estado actual de conocimientos sobre el tema: las moléculas segregadas son mucho más fáciles de estudiar que las moléculas unidas a membrana, por lo que conocemos muchos más detalles de su actuación. La señalización dependiente de contacto, vía moléculas unidas a membrana, es mucho más difícil de estudiar y por ello mucho peor conocida, pero es de crucial importancia especialmente durante el desarrollo y en la respuesta inmune; como veremos más adelante, la base molecular de este sistema de comunicación puede ser similar a la de la señalización a distancia.

Las moléculas secretadas median tres formas de señalización: la paracrina, la sináptica y la endocrina²

Las moléculas señal que segrega una célula pueden ser transportadas a largas distancias para que actúen sobre células diana muy alejadas, o pueden actuar como **mediadores locales** afectando únicamente las células del ambiente inmediato de la célula señal. Este último proceso se denomina **señalización paracrina** (Figura 15-3A). Para que las señales paracrinas solamente afecten a las células diana más cercanas, es necesario que las moléculas señal segregadas no puedan difundir mucho; por esta razón habitualmente son captadas rápidamente por las células diana vecinas, destruidas por enzimas extracelulares o inmovilizadas por la matriz extracelular.

Para un organismo pluricelular, grande y complejo, la señalización de corto alcance no es suficiente para coordinar el comportamiento de sus células. Por ello han evolucionado conjuntos de células especializadas en la señalización entre partes del cuerpo muy separadas entre sí. Las más sofisticadas de ellas son las células nerviosas, o neuronas, las cuales típicamente emiten largas prolongaciones (axones) que entran en contacto con células diana alejadas. Cuando es activada por señales del ambiente o de otras células nerviosas, la neurona envía impulsos eléctricos (potenciales de acción) a lo largo de su axón; cuando uno de estos impulsos llega al terminal nervioso, en el extremo del axón, estimula al terminal para que segregue una señal química denominada **neurotransmisor**. El terminal nervioso entra en contacto con su célula diana a través de uniones celulares especiales denominadas *sinapsis químicas*, las cuales parecen estar diseñadas para asegurar que el neurotransmisor sea liberado sobre la membrana postsináptica de la célula diana, rápida y específicamente (Figura 15-3B). Este

Figura 15-3 Tres formas de señalización mediadas por moléculas segregadas. En las señalizaciones paracrina, sináptica y endocrina se utilizan muchos tipos iguales de moléculas señal. Las diferencias cruciales radican en la velocidad y en la selectividad con las que son liberadas las señales a sus células diana.

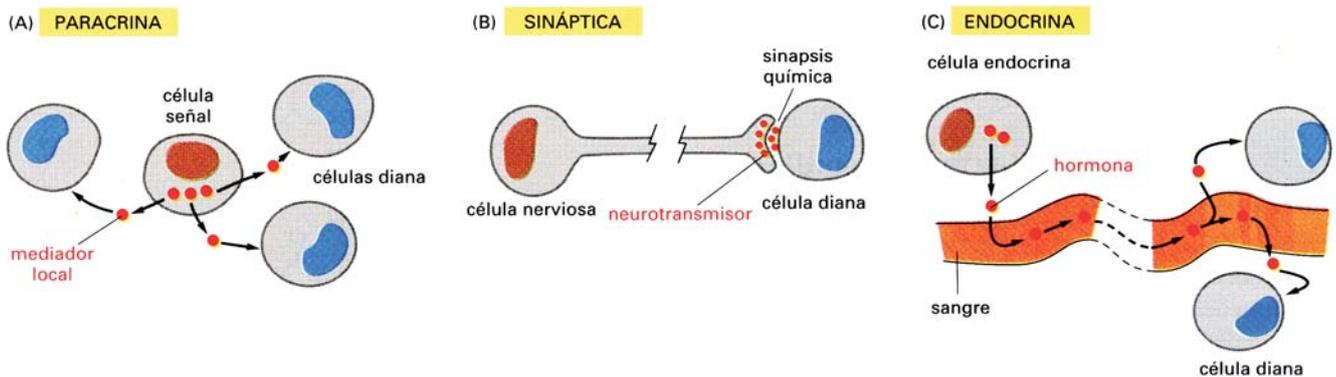


Figura 15-4 Contraste entre la señalización endocrina y la sináptica. Las células endocrinas y las células nerviosas actúan conjuntamente coordinando las diversas actividades de los miles de millones de células de un animal superior. Las células endocrinas segregan a la circulación muchos tipos diferentes de hormonas, para señalar células diana específicas. Las células diana tienen receptores que se unen específicamente a las hormonas, de forma que tienen que "atrapar" del líquido extracelular las hormonas adecuadas. En la señalización sináptica, por el contrario, la especificidad reside en los contactos entre las prolongaciones nerviosas y las células nerviosas determinadas que señalizan: habitualmente sólo la célula diana que se halla en contacto sináptico con la célula nerviosa está expuesta al neurotransmisor liberado por el terminal nervioso (a pesar de que algunos neurotransmisores actúan de una manera paracrina como mediadores locales que influyen sobre muchas células diana en una cierta área). Mientras que diferentes células endocrinas han de utilizar diferentes hormonas para conseguir comunicarse específicamente con sus células diana, muchas células nerviosas pueden utilizar el mismo neurotransmisor y, a pesar de ello, comunicarse también de una forma específica.

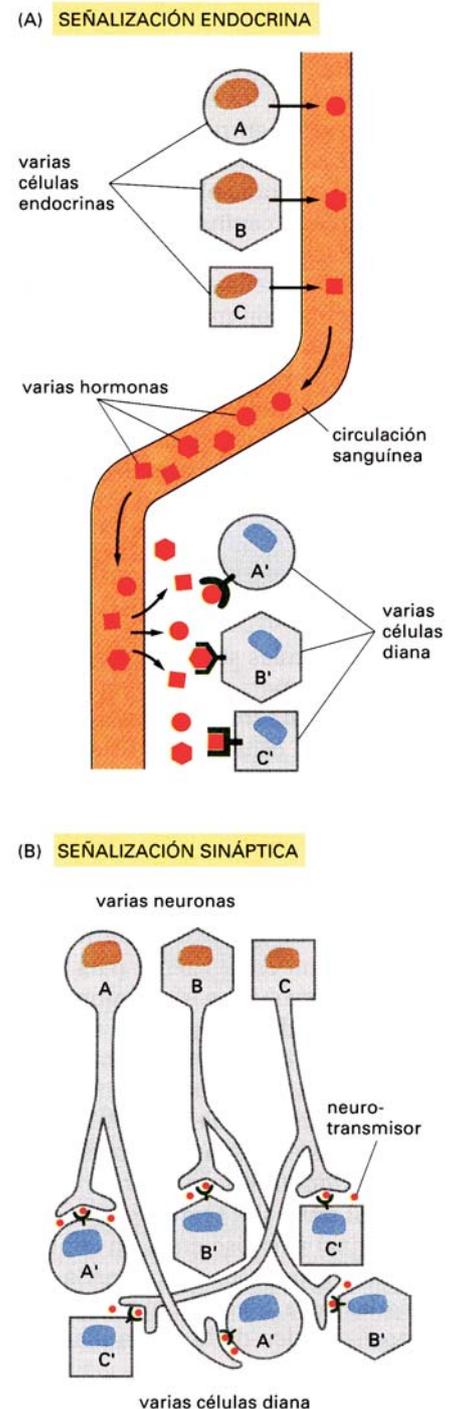
proceso de **señalización sináptica** se trata en detalle en el Capítulo 11, por lo que no será considerado aquí.

Las otras células señal especializadas que controlan el comportamiento del organismo como un todo son las **células endocrinas**. Segregan sus moléculas señal, denominadas **hormonas**, en el torrente sanguíneo (de un animal) o en la savia (de una planta), los cuales transportan la señal hasta las células diana distribuidas ampliamente por todo el cuerpo (Figura 15-3C). En la Figura 15-4 se contrastan los diferentes sistemas a través de los cuales las células endocrinas y las células nerviosas coordinan el comportamiento celular en los animales.

Como la señalización endocrina depende de la difusión y del flujo sanguíneo, es relativamente lenta. Las células nerviosas, por el contrario, pueden alcanzar una velocidad y una precisión mucho más elevadas. Pueden transmitir información a grandes distancias mediante impulsos eléctricos que transportan la señal a lo largo de las prolongaciones nerviosas, a velocidades de hasta 100 metros por segundo. Una vez liberado por un terminal nervioso, un neurotransmisor difunde no más de 100 nm de la célula diana, un proceso que dura menos de un milisegundo. Otra diferencia entre la transmisión endocrina y la sináptica es que, mientras que las hormonas se diluyen enormemente en la sangre circulante y en el líquido intersticial, por lo que han de poder actuar a concentraciones muy bajas (típicamente $<10^{-9}$ M), los neurotransmisores se diluyen mucho menos, pudiendo llegar a alcanzar concentraciones locales altas. Por ejemplo, la concentración del neurotransmisor acetilcolina en la hendidura sináptica de una unión neuromuscular activa es de alrededor de 5×10^{-4} M. Por lo tanto, en la señalización sináptica los receptores de los neurotransmisores tienen una afinidad relativamente baja para sus ligandos, lo cual significa que el neurotransmisor puede disociarse rápidamente del receptor, con lo que acaba la respuesta. (Los neurotransmisores son rápidamente retirados de la hendidura sináptica, tanto por enzimas hidrolíticas específicas como por proteínas de membrana que transportan específicamente el neurotransmisor, bombeándolo de nuevo hacia el terminal nervioso o hacia las células gliales vecinas.)

La señalización autocrina puede coordinar decisiones de grupos de células idénticas³

Todas las formas de señalización que hemos descrito permiten a un tipo celular influir sobre otro tipo celular. Sin embargo, mediante el mismo mecanismo las células pueden enviar señales a otras células del mismo tipo, de lo que se deduce que pueden enviarse incluso señales a ellas mismas. En una señalización de este tipo, denominada **autocrina**, una célula segrega moléculas señal que pueden



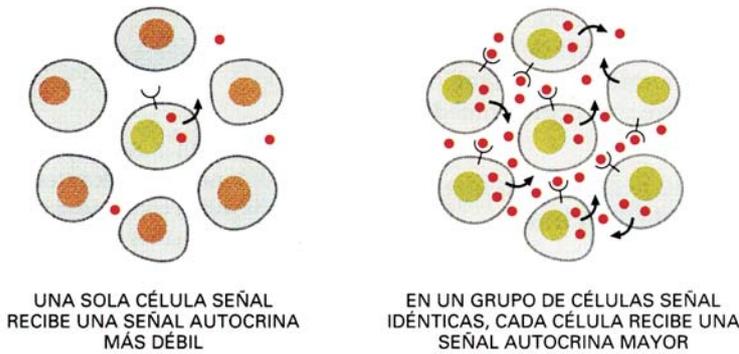


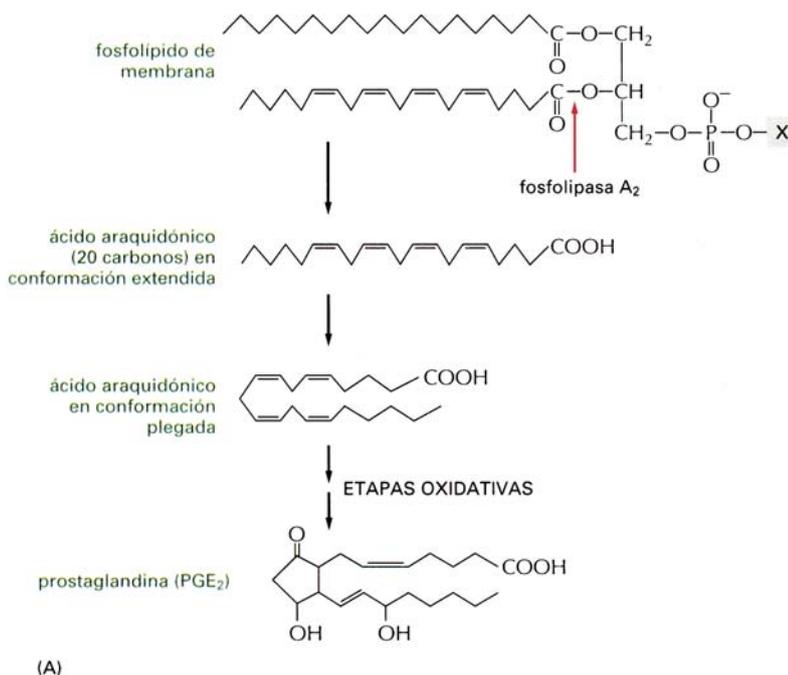
Figura 15-5 Señalización autocrina. Un grupo de células idénticas produce concentraciones de molécula señal más elevadas que una célula sola.

unirse a receptores de la propia célula. Durante el desarrollo, por ejemplo, cuando una célula ha sido dirigida a una etapa determinada de diferenciación, puede comenzar a segregar señales autocrinas que refuerzan esta decisión de desarrollo.

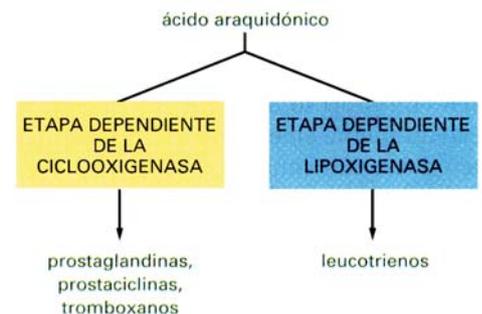
La señalización autocrina es más efectiva cuando se lleva a cabo simultáneamente por varias células vecinas del mismo tipo, por lo que puede utilizarse para estimular a grupos de células idénticas para que tomen las mismas decisiones de desarrollo (Figura 15-5). Así, se cree que la señalización autocrina constituye un posible mecanismo sobre el que se basa el “efecto comunitario” observado en las primeras etapas del desarrollo, según el cual un grupo de células idénticas puede responder a señales que inducen diferenciación mientras que una célula aislada no puede hacerlo.

Pero, la señalización autocrina no se produce sólo durante el desarrollo. Los **eicosanoides** son moléculas señal que a menudo actúan de una forma autocrina en los mamíferos maduros. Estos derivados de ácidos grasos están sintetizados por células de todos los tejidos de mamífero. Se sintetizan continuamente en la membrana plasmática y se liberan al exterior celular, donde son rápidamente degradados por enzimas del medio extracelular. Sintetizados a partir de precursores (principalmente de *ácido araquidónico*) liberados a partir de los fosfolípidos de la membrana celular mediante la acción de fosfolipasas (Figura 15-6), tienen una gran variedad de actividades biológicas; por ejemplo influyen sobre la contracción del músculo liso y la agregación de las plaquetas y participan en las respues-

Figura 15-6 La síntesis de un eicosanoide. Los eicosanoides son continuamente sintetizados en las membranas, a partir de cadenas de ácidos grasos de 20 carbonos que contengan, al menos, tres dobles enlaces, como se muestra en (A) para el caso de la síntesis de prostaglandina PGE_2 . El subíndice se refiere a los dos dobles enlaces carbono-carbono situados fuera del anillo de PGE_2 . Existen cuatro clases principales de eicosanoides—las *prostaglandinas*, las *prostaciclina*s, los *tromboxanos* y los *leucotrienos*—y todas ellas están sintetizadas a partir del ácido araquidónico. La síntesis de todas ellas, excepto de los leucotrienos, se produce por la acción de la *ciclooxigenasa*; la síntesis de los leucotrienos se produce por la acción de la *lipoxigenasa* (B). Estas etapas biosintéticas son diana de una gran cantidad de drogas terapéuticas, ya que los eicosanoides son importantes en procesos de dolor, fiebre e inflamación. Por ejemplo, las hormonas corticoesteroides, como el cortisol, inhiben la actividad de la fosfolipasa de la primera etapa de la síntesis de eicosanoides, por lo que son ampliamente utilizadas clínicamente para tratar enfermedades inflamatorias no infecciosas, como son algunas formas de artritis. Por el contrario, drogas antiinflamatorias no esteroideas, como la aspirina y el ibuprofén, bloquean la primera etapa de oxidación, catalizada por la ciclooxigenasa. Algunas prostaglandinas producidas en grandes cantidades en el útero en el momento del parto y que estimulan la contracción del músculo liso uterino, se utilizan para inducir abortos.



(A)



(B)

tas inflamatorias y febriles. Cuando las células se activan por daño tisular o por algún tipo de señales químicas, se incrementa la velocidad de síntesis de eicosanoides; el incremento resultante de los niveles locales de eicosanoides influye tanto sobre las células que los sintetizan como sobre sus vecinas inmediatas.

Las uniones comunicantes permiten que la información de señalización sea compartida por las células vecinas⁴

Otra vía para coordinar las actividades de las células vecinas consiste en las **uniones comunicantes** o de **tipo gap**. Se trata de uniones especializadas célula-célula que pueden formarse entre membranas plasmáticas situadas en estrecho contacto, y que conectan directamente los citoplasmas de las células que unen, a través de estrechos canales llenos de agua (véase Figura 19-15). Los canales permiten el intercambio de pequeñas moléculas señal intracelulares (*mediadores intracelulares*), como el Ca^{2+} y el AMP cíclico, pero no el de macromoléculas como proteínas y ácidos nucleicos. Así pues, las células conectadas por uniones de tipo gap pueden comunicarse entre ellas directamente, sin tener la dificultad de la barrera que supone la presencia de las membranas plasmáticas (Figura 15-7).

Como se discute en el Capítulo 19, el patrón de distribución de las conexiones comunicantes en un tejido puede ponerse de manifiesto tanto eléctricamente, con electrodos intracelulares, como visualmente, tras la microinyección de colorantes solubles en agua. Estudios de este tipo indican que las células de un embrión en desarrollo forman y deshacen uniones comunicantes siguiendo patrones específicos y muy interesantes, lo cual sugiere que estas uniones juegan un importante papel en los procesos de señalización que tienen lugar entre estas células. Puede sospecharse que, como en el caso de la señalización autocrina descrita con anterioridad, las uniones comunicantes colaboran en la coordinación del comportamiento de las células vecinas de tipo similar. Sin embargo, no sabemos qué pequeñas moléculas en particular son importantes transportadores de señales a través de las uniones comunicantes; tampoco se ha definido con precisión cuál es la función precisa de la comunicación a través de las uniones de tipo gap en el desarrollo animal.

Cada célula está programada para responder a combinaciones específicas de moléculas señal⁵

Cualquier célula dada de un organismo pluricelular está expuesta a muchas –quizás cientos– señales diferentes de su entorno. Estas señales pueden ser solubles, estar unidas a la matriz extracelular o estar unidas a la superficie de las células vecinas, y pueden actuar en varios millones de combinaciones posibles. La célula responderá a esta selectividad de babel, de acuerdo con su carácter específico adquirido mediante la progresiva especialización celular, en el curso del desarrollo. Así pues, una célula puede estar programada para responder a un conjunto de señales, diferenciándose, a otro conjunto de señales, proliferando, y a un tercer grupo de señales, desarrollando algunas funciones especializadas.

La mayoría de las células de los animales superiores, sin embargo, están programadas para depender de un grupo específico de señales simplemente para sobrevivir: cuando son privadas de las señales adecuadas (por ejemplo, en una placa de cultivo), las células inician un programa suicida y se autodestruyen –un proceso denominado *muerte celular programada*, que se discute más extensamente en el Capítulo 21 (Figura 15-8). Diferentes tipos de células requieren diferentes conjuntos de señales de supervivencia, y por ello su localización está restringida a diferentes ambientes en el cuerpo.

Debido a que generalmente las moléculas señal actúan en combinaciones de ellas, un animal puede controlar el comportamiento de sus células de una manera altamente específica, utilizando una diversidad limitada de tales moléculas: cientos de moléculas señal pueden utilizarse en millones de combinaciones diferentes.

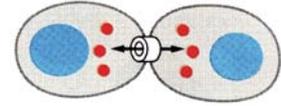


Figura 15-7 Señalización a través de uniones comunicantes. Las células que están conectadas por uniones comunicantes comparten las pequeñas moléculas, incluidas las pequeñas moléculas señal intracelulares, por lo que pueden responder a señales extracelulares de una forma coordinada.

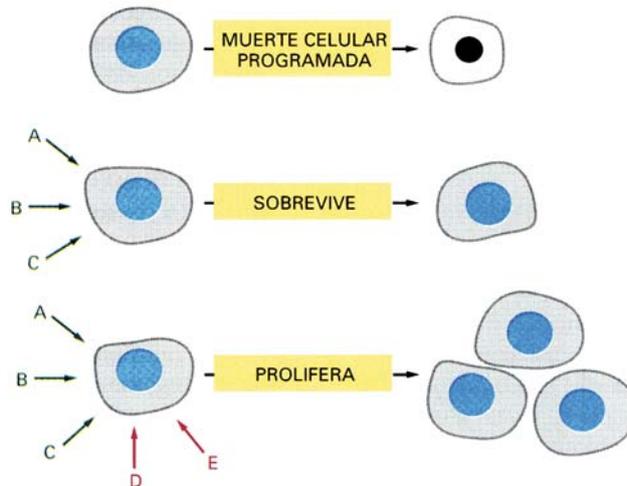


Figura 15-8 Señalización combinatoria. Cada tipo de célula presenta un conjunto de receptores que le permite responder a un conjunto correspondiente de moléculas señal producidas por otras células. Varias de estas moléculas señal actúan de forma combinada, regulando el comportamiento de la célula. Como se muestra aquí, muchas células requieren múltiples señales (*flechas verdes*) para sobrevivir y señales adicionales (*flechas rojas*) para proliferar; si se priva a las células de todas esas señales, inician un programa de muerte celular.

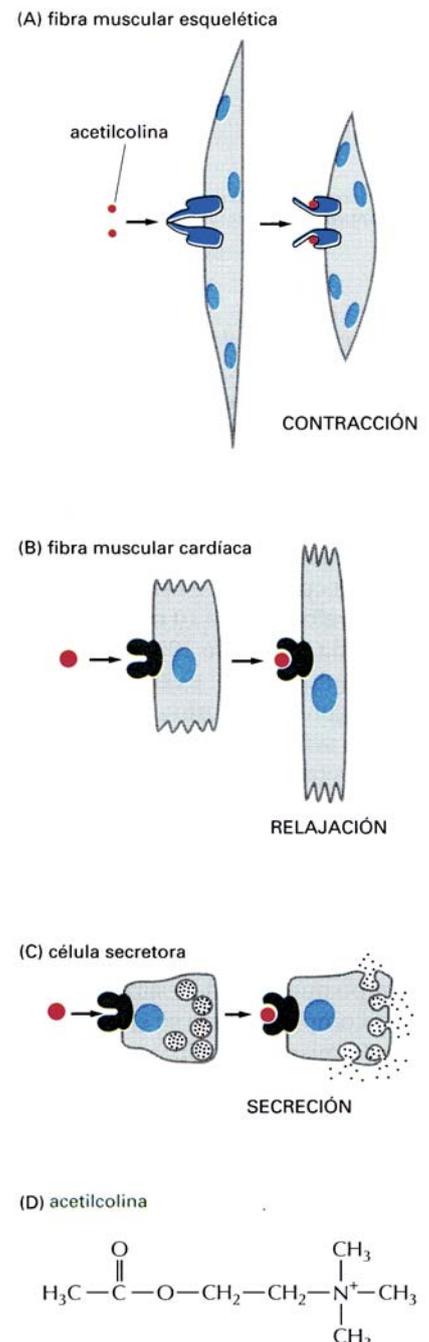
Diferentes células pueden responder de forma diferente a la misma señal química⁶

La manera específica en que una célula reacciona con su entorno, varía, en primer lugar, de acuerdo con el conjunto de proteínas receptoras que posee la célula y a través de las que detecta un conjunto particular de todas las señales que le son asequibles y, en segundo lugar, de acuerdo con la maquinaria intracelular a través de la cual la célula integra e interpreta la información que recibe. Así, a menudo una misma molécula señal tiene efectos diferentes sobre células diana diferentes. Por ejemplo, el neurotransmisor acetilcolina estimula la concentración de las células del músculo esquelético pero disminuye la frecuencia y la fuerza de contracción de las células musculares del corazón. Ello es debido a que las proteínas receptoras de acetilcolina de las células musculares esqueléticas son diferentes de las de las fibras musculares del corazón. Sin embargo, no siempre son las diferencias entre los receptores lo que explica las diferencias de efectos. En muchos casos la misma molécula señal se une a proteínas receptoras idénticas y produce respuestas muy diferentes en diferentes tipos de células diana, lo cual refleja diferencias en la maquinaria enzimática a la que están acoplados los receptores (Figura 15-9).

La concentración de una molécula puede ajustarse rápidamente sólo si la vida media de la molécula es corta⁶

Es natural pensar en los sistemas de señalización en términos de los cambios que se producen cuando se libera una señal. Pero también resulta importante considerar qué ocurre cuando se elimina una señal. Durante el desarrollo a menudo señales transitorias producen efectos duraderos: pueden desencadenar un cambio que persiste indefinidamente, a través de mecanismos de memoria celular como los discutidos en los Capítulos 9 y 21. Sin embargo, en la mayoría de los casos, especialmente en los tejidos adultos, la respuesta se desvanece cuando cesa una señal. La señal actúa sobre un sistema de moléculas que están en conti-

Figura 15-9 Una misma molécula señal puede inducir respuestas diferentes en células diana diferentes. En algunos casos, ello es debido a que la molécula señal se une a proteínas receptoras diferentes, tal como se ilustra en (A) y (B). En otros casos, la molécula señal se une a proteínas receptoras idénticas pero éstas activan respuestas diferentes en células diferentes, tal como se ilustra en (B) y (C). En todos los casos mostrados aquí la molécula señal es la *acetilcolina* (D).



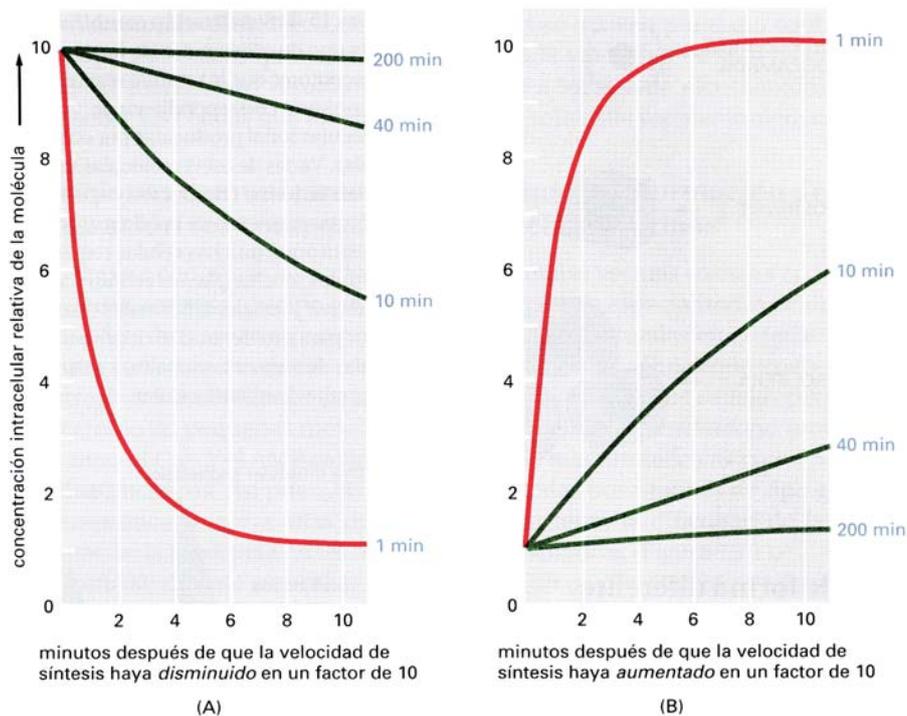


Figura 15-10 La importancia de un recambio rápido. La figura muestra predicciones de las velocidades relativas de cambio de las concentraciones intracelulares de moléculas que tienen diferentes velocidades de recambio, cuando sus velocidades de síntesis disminuyen (A) o aumentan (B) repentinamente en un factor de 10. En ambos casos la concentración de las moléculas que normalmente son degradadas rápidamente en la célula (*líneas rojas*) cambia rápidamente mientras que la concentración de las moléculas que normalmente son degradadas más lentamente (*líneas verdes*) cambia proporcionalmente más despacio. Los números (en azul) del lado derecho de las gráficas son las vidas medias asumidas para cada una de las diferentes moléculas.

nuo recambio, de forma que cuando la señal cesa el reemplazamiento de las moléculas viejas por moléculas nuevas borra las trazas de su acción. De ello se deduce que la velocidad de la reacción para eliminar los efectos de la señal depende de la velocidad del recambio de las moléculas a las que afecta la señal. Puede no resultar tan obvio que esta velocidad de recambio también determine la prontitud de la respuesta cuando la señal se activa.

Consideremos por ejemplo dos moléculas intracelulares X e Y, y que ambas se mantienen normalmente a una concentración de 1000 moléculas por célula. La molécula X tiene una velocidad de recambio baja: es sintetizada y degradada a una velocidad de 10 moléculas por segundo, de forma que cada molécula tiene una vida media de 100 segundos. A su vez, la molécula Y se recambia 10 veces más rápidamente: es sintetizada y degradada a una velocidad de 100 moléculas por segundo, de forma que cada molécula tiene una vida media de 10 segundos. Si una señal que actúa sobre la célula incrementa 10 veces las velocidades de síntesis tanto de X como de Y sin alterar las vidas medias, al final del primer segundo la concentración de Y se habrá incrementado unas 900 moléculas en cada célula ($10 \times 100 - 100$) mientras que la concentración de X sólo se habrá incrementado 90 moléculas por célula. De hecho, después de que su velocidad de síntesis haya aumentado o disminuido abruptamente, el tiempo necesario para que una molécula llegue a medio camino entre su concentración antigua y su nueva concentración de equilibrio es igual a su vida media —es decir, es igual al tiempo que sería necesario para que su concentración bajara a la mitad si se parara completamente su síntesis (Figura 15-10).

El mismo principio se aplica tanto a proteínas como a pequeñas moléculas, y tanto a moléculas del espacio extracelular como intracelulares. Muchas proteínas intracelulares que son degradadas rápidamente tienen vidas medias cortas; algunas de ellas sobreviven menos de 10 minutos; en la mayoría de los casos se trata de proteínas cuyo papel regulador es clave, y cuyas concentraciones celulares están reguladas rápidamente mediante cambios en la velocidad de su síntesis. De la misma forma, cualquier modificación covalente de una proteína, que tenga lugar como parte de un proceso de rápido de señalización —habitualmente la adición de un grupo fosfato a una cadena lateral de un aminoácido— ha de ser eliminada continuamente a una gran velocidad para hacer posible tal señaliza-

ción. Más adelante discutimos en detalle algunos de estos procesos moleculares, para el caso de procesos de señalización que trabajan vía receptores de superficie celular. Sin embargo, los principios se aplican de forma general, como ilustran los siguientes ejemplos.

El gas óxido nítrico actúa como una señal, uniéndose directamente a una enzima en el interior de la célula diana⁷

A pesar de que la mayoría de las señales extracelulares están mediadas por moléculas hidrofílicas que se unen a receptores situados en la superficie de la membrana de la célula diana, algunas moléculas señal son suficientemente hidrofóbicas y/o suficientemente pequeñas para atravesar fácilmente la membrana de la célula diana; una vez en el interior, regulan directamente la actividad o la especificidad de una proteína intracelular. Un ejemplo remarcable lo constituye el gas **óxido nítrico (NO)**, el cual recientemente ha sido reconocido como una molécula señal en los vertebrados. Por ejemplo, cuando la acetilcolina es liberada por nervios autónomos a las paredes de los vasos sanguíneos, hace que las fibras musculares lisas se relajen. La acetilcolina actúa indirectamente induciendo a las células endoteliales a sintetizar y liberar NO, el cual hace que las células musculares lisas se relajen. El efecto de NO sobre los vasos sanguíneos proporciona una explicación del mecanismo de acción de la nitroglicerina, que ha sido utilizada durante más de 100 años para tratar pacientes con angina de pecho (dolor debido a un flujo sanguíneo inadecuado en el músculo cardíaco). La nitroglicerina es transformada en NO, que relaja los vasos sanguíneos, reduciendo el trabajo del corazón y, en consecuencia, el requerimiento de oxígeno del músculo cardíaco. También se produce NO como mediador local por macrófagos y neutrófilos activados para colaborar en el proceso de eliminación de microorganismos invasores. Además, se utiliza por muchos tipos de células nerviosas para señalar células vecinas: el NO liberado por nervios autónomos en el pene, por ejemplo, hace que se dilaten los vasos sanguíneos locales que son responsables de la erección.

El NO es sintetizado por la enzima *NO sintasa* mediante la desaminación del aminoácido arginina. Como difunde fácilmente a través de las membranas, el NO difunde fuera de la célula que lo sintetiza, y entra directamente en las células vecinas. Sólo actúa localmente debido a que en el espacio extracelular su vida media es muy corta –entre 5 y 10 segundos– transformándose en nitratos y nitritos al combinarse con oxígeno y agua. En muchas células diana, como las células endoteliales, el NO reacciona un átomo de hierro del lugar activo de la enzima *guanilato ciclasa*, estimulándola para que produzca el mediador intracelular *GMP cíclico*, del que hablaremos más adelante. Los efectos del NO pueden ser rápidos, ocurriendo en cuestión de segundos, debido a que la velocidad de intercambio del GMP cíclico es alta: la rápida producción de GMP cíclico a partir de GTP por la guanilato ciclasa está compensada por la rápida degradación a GMP por una fosfodiesterasa. Existen evidencias recientes de que el *monóxido de carbono (CO)* también se utiliza como una señal intracelular, y de que puede actuar de la misma forma que el NO, estimulando la guanilato ciclasa.

Los gases como el NO y el CO no son las únicas moléculas señal que pueden pasar directamente a través de la membrana plasmática de la célula diana. También entran en la célula diana, de esta forma, un grupo de hormonas no gaseosas, pequeñas e hidrofóbicas, y varios mediadores locales; sin embargo, en lugar de unirse directamente a enzimas, se unen a receptores intracelulares que regulan directamente la transcripción génica.

Las hormonas esteroideas, las hormonas tiroideas, los retinoides y la vitamina D se unen a receptores intracelulares que son proteínas reguladoras de genes activadas por ligando⁸

Las *hormonas esteroideas*, las *hormonas tiroideas*, los *retinoides* y la *vitamina D* son pequeñas moléculas hidrofóbicas, muy diferentes entre sí tanto en estructu-

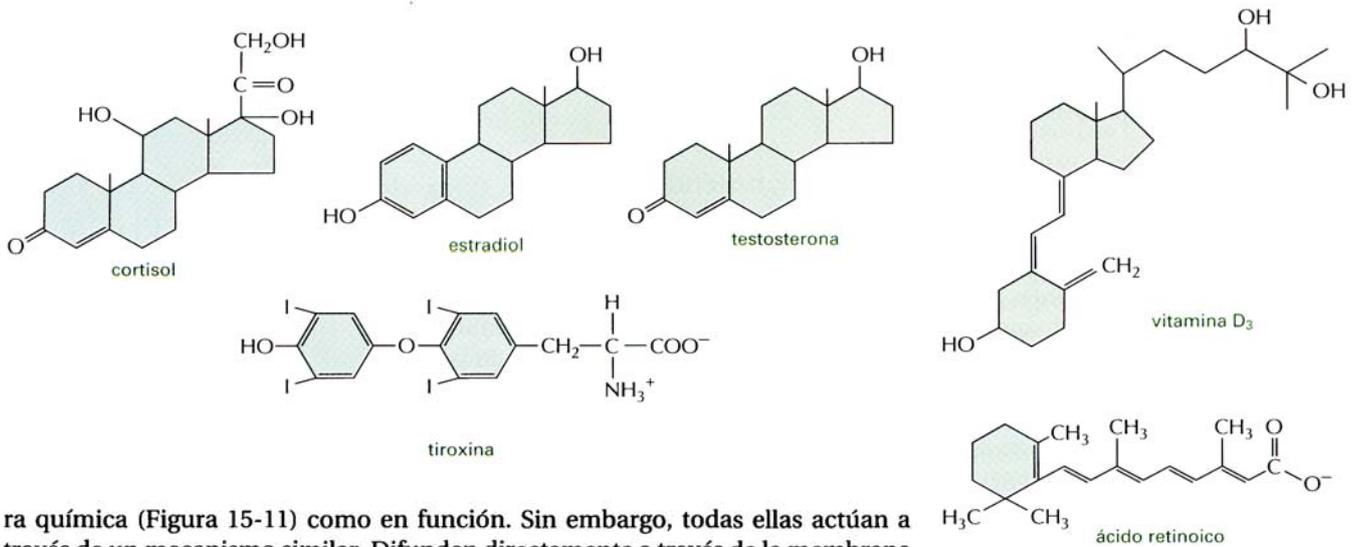


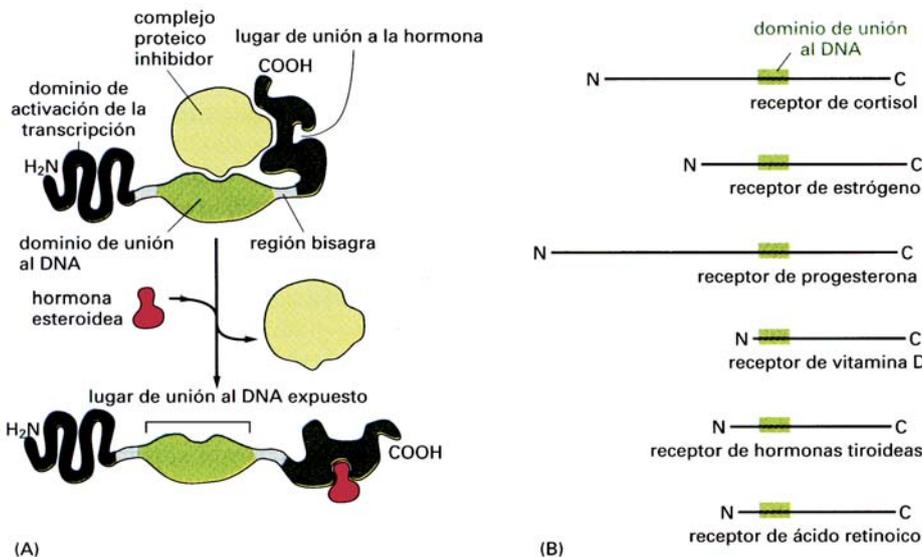
Figura 15-11 Algunas moléculas señal que se unen a receptores intracelulares. Nótese que todas ellas son pequeñas e hidrofóbicas. Se muestra la forma activa, hidroxilada, de la vitamina D₃.

ra química (Figura 15-11) como en función. Sin embargo, todas ellas actúan a través de un mecanismo similar. Difunden directamente a través de la membrana plasmática de las células diana y se unen a proteínas receptoras intracelulares. La unión del ligando activa los receptores, los cuales entonces regulan directamente la transcripción de determinados genes. Estos receptores tienen estructuras relacionadas entre sí y constituyen la **superfamilia de receptores intracelulares** (o *superfamilia de receptores de hormonas esteroideas*) (Figura 15-12).

Todas las **hormonas esteroideas**, incluyendo el cortisol, las hormonas sexuales, la vitamina D (en los vertebrados) y la hormona de la muda ecdisona (en los insectos), están sintetizadas a partir del colesterol. El *cortisol* se produce en el córtex de las glándulas adrenales y afecta el metabolismo de muchos tipos celulares. Las hormonas esteroideas sexuales se sintetizan en los testículos y en los ovarios y son responsables de las características sexuales secundarias que distinguen los machos de las hembras. La **vitamina D** se sintetiza en la piel en respuesta a la luz solar; después de transformarse en una forma activa en el riñón o en el hígado, regula el metabolismo del Ca²⁺, favoreciendo la captación de Ca²⁺ en el intestino y reduciendo su excreción por el riñón. Las **hormonas tiroideas**, que son sintetizadas a partir del aminoácido tirosina, incrementan el metabolismo de una gran variedad de tipos celulares, mientras que los **retinoides**, como el ácido retinoico, que se sintetizan a partir de la vitamina A, juegan un importante papel como mediadores locales durante el desarrollo de los vertebrados. A pesar de que todas estas moléculas señal son relativamente insolubles en agua, se ha-

Figura 15-12 La superfamilia de receptores intracelulares. (A) Modelo de proteína receptora de hormonas esteroideas. En su estado inactivo el receptor se halla unido a un complejo proteico inhibidor que contiene una proteína activada por estrés calorífico (heat shock protein) denominada Hsp90 (se discute en el Capítulo 5). La unión del ligando al receptor hace que la proteína inhibidora se disocie, de forma que el receptor se activa exponiendo su lugar de unión al DNA. El modelo que se presenta en la figura se basa en el receptor para el cortisol (glucocorticoides), pero todos los receptores de la superfamilia tienen una estructura similar a ésta, como se muestra en (B), donde se han dibujado en verde los cortos dominios de unión al DNA de cada receptor.

Experimentos de intercambio de dominios sugieren que en estos receptores la mayoría de los dominios de unión a la hormona, de activación de la transcripción y de unión al DNA pueden actuar como módulos intercambiables. Se cree que todos los receptores intracelulares se unen al DNA como homodímeros o como heterodímeros.



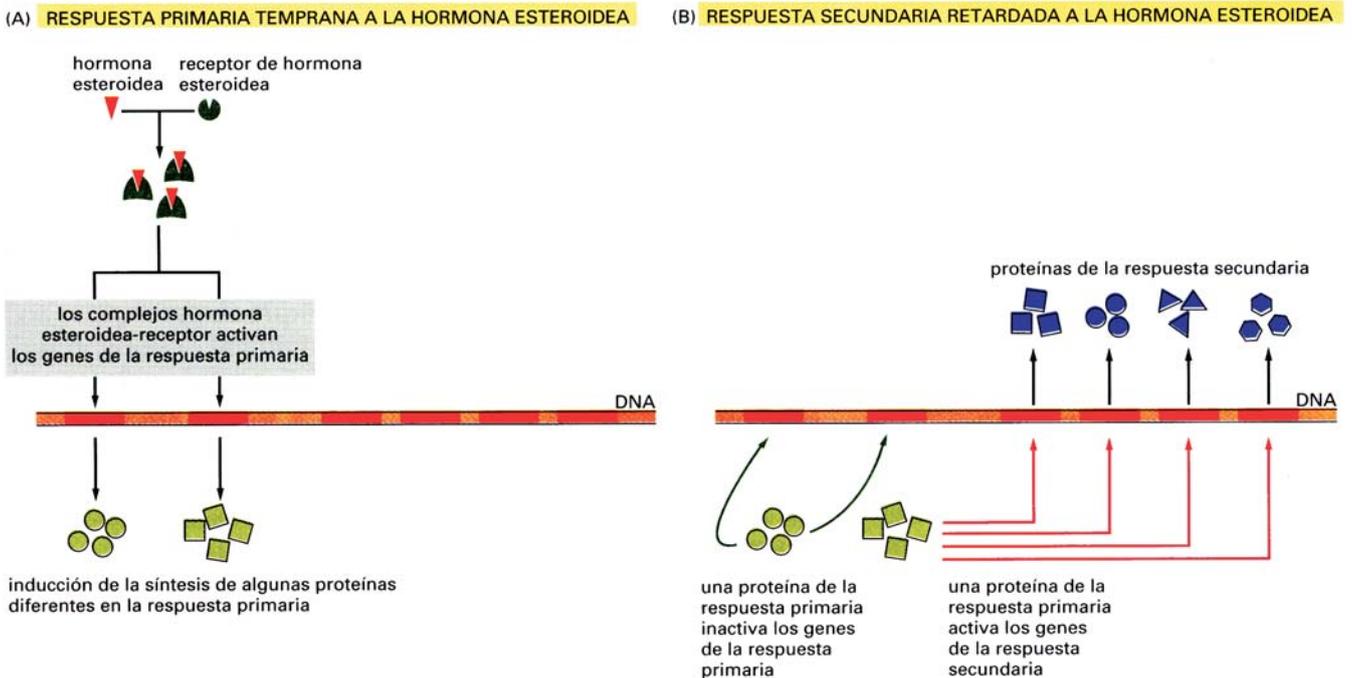
cen solubles para su transporte por el torrente sanguíneo y otros líquidos extracelulares mediante su unión a proteínas transportadoras específicas, de las que se disocian antes de entrar en la célula diana (véase Figura 15-2).

Además de la diferencia fundamental en la manera en que señalizan a sus células diana, la mayoría de las moléculas insolubles en agua se diferencian de las solubles en agua en cuanto al tiempo que se mantienen en el torrente sanguíneo y en los tejidos. La mayoría de las hormonas solubles en agua se eliminan y/o degradan en cuestión de minutos después de entrar en la sangre y los mediadores locales y los neurotransmisores son eliminados del espacio extracelular incluso más rápidamente –en cuestión de segundos o de milisegundos. Las hormonas esteroideas, por el contrario, persisten en la sangre durante horas, y las hormonas tiroideas durante días. En consecuencia, las moléculas señal solubles en agua habitualmente median respuestas de duración corta mientras que las insolubles en agua tienden a mediar respuestas más duraderas.

Todos los receptores intracelulares para las hormonas esteroideas, para las hormonas tiroideas, para los retinoides y para la vitamina D, se unen a secuencias específicas del DNA adyacentes a los genes que están regulados por el ligando correspondiente. Algunos de ellos, como los receptores de cortisol, se localizan principalmente en el citoplasma y sólo se unen al DNA después de unirse al ligando (véase Figura 15-12); otros, como los receptores de retinoides, se localizan principalmente en el núcleo y se unen al DNA incluso en ausencia de ligando. En cualquier caso, la unión del ligando altera la conformación de la proteína receptora, la cual entonces activa (u ocasionalmente inhibe) la transcripción génica. En muchos casos la respuesta tiene lugar en dos etapas: en primer lugar la inducción directa de la transcripción de un pequeño número de genes específicos, en cuestión de 30 minutos, y que se conoce como la *respuesta primaria*; los productos de estos genes, a su vez, activan otros genes, produciendo una respuesta retardada, denominada *respuesta secundaria*. Así, un simple incremento hormonal puede generar un complejo cambio del patrón de expresión génica (Figura 15-13).

La respuesta a las hormonas tiroideas y esteroideas, a la vitamina D y a los retinoides, como en el caso de las respuestas a señales extracelulares en general, está determinada tanto por la naturaleza de la célula diana como por la naturaleza de la molécula señal. A pesar de que diferentes tipos celulares tengan receptores intracelulares idénticos, el conjunto de genes que regula el receptor es di-

Figura 15-13 Respuesta primaria temprana (A) y respuesta secundaria retardada (B) que resulta de la activación de receptores proteicos intracelulares. Se ilustra la respuesta a una hormona esteroidea, pero estos mismos principios se pueden aplicar a todos los ligandos que activan alguno de los componentes de esta familia de proteínas receptoras. Algunas de las proteínas de la respuesta primaria activan a los genes de la respuesta secundaria, mientras que otras inactivan a los genes de la respuesta primaria. El número real de genes implicados en las respuestas primaria y secundaria es mayor que el que se indica en este dibujo. Como era de esperar, las drogas que inhiben la síntesis proteica suprimen la transcripción de los genes de la respuesta secundaria pero no los de la respuesta primaria.



ferente en cada caso. Ello es debido a que generalmente a cada gen eucariota se le ha de unir más de un tipo de proteína reguladora de genes, para activar su transcripción. Por ello, un receptor intracelular puede activar un gen sólo si existe la combinación adecuada de otras proteínas reguladoras de genes, y algunas de ellas son específicas del tipo celular. Así, las hormonas tiroideas, la vitamina D y cada una de las hormonas esteroideas y de retinoides inducen un conjunto característico de respuestas en los animales, debido a que: (1) únicamente ciertos tipos celulares tienen receptores para ello; y (2) cada uno de estos tipos celulares contienen una combinación diferente de otras proteínas reguladoras de genes, que colaboran con el receptor activado influyendo en la transcripción de conjuntos específicos de genes. En el Capítulo 9 se discuten los detalles moleculares sobre cómo los receptores intracelulares y otras proteínas reguladoras controlan la transcripción de genes de forma específica.

Se conocen tres clases de proteínas receptoras de superficie celular: las asociadas a canales iónicos, las asociadas a proteínas G y las asociadas a enzimas⁹

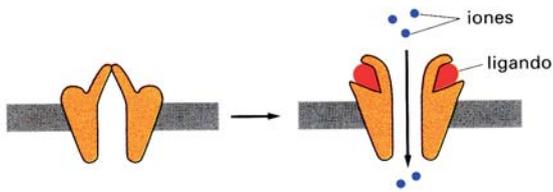
Las técnicas de DNA recombinante han revolucionado el estudio de los receptores y de las proteínas intracelulares que participan en la señalización celular. Estas proteínas a menudo constituyen menos del 0,01% de la masa proteica total de una célula, por lo que ha resultado extremadamente difícil purificarlas. El clonaje de las secuencias de DNA que codifican las proteínas ha acelerado enormemente el proceso de caracterización; la mayoría de las proteínas señal discutidas en este capítulo se han caracterizado de esta forma. Una contribución fundamental de estos estudios de clonaje y de secuenciación de DNA ha consistido en revelar que la increíble diversidad de proteínas receptoras conocidas puede reducirse a un número mucho menor de grandes familias. Los receptores intracelulares de los que acabamos de tratar constituyen una de estas familias. Ahora consideraremos los grupos de familias que pueden identificarse como pertenecientes a una gran clase de receptores de señal: los receptores localizados en la superficie de la célula.

Todas las moléculas señal solubles en agua (incluyendo los neurotransmisores, las hormonas proteicas y los factores de crecimiento) y algunas moléculas señal liposolubles, se unen a receptores proteicos específicos situados en la superficie de las células diana que afectan. Estos receptores proteicos de superficie actúan como transductores de señal: unen la molécula señal (el ligando) con una alta afinidad, y transforman este evento extracelular en una o más señales intracelulares, las cuales alteran el comportamiento de la célula diana.

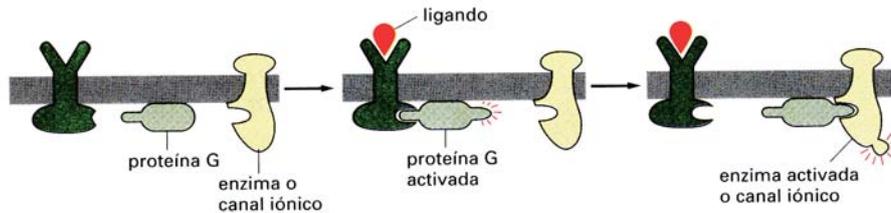
La mayoría de los receptores de la superficie celular pertenecen a una de estas tres clases, que se definen en función del mecanismo de transducción que utilizan. Los **receptores asociados a canales**, también conocidos como *canales iónicos regulados por transmisor*, participan principalmente en la rápida señalización sináptica entre células excitables eléctricamente. Este tipo de señalización está mediada por un pequeño número de neurotransmisores que abren o cierran transitoriamente el canal iónico al que están unidos, alterando así brevemente la permeabilidad iónica de la membrana plasmática y, por lo tanto, modificando la excitabilidad de la célula postsináptica (Figura 15-14A). Estos receptores relacionados con un canal pertenecen a una familia de proteínas transmembrana que la atraviesan varias veces (multipaso) y que son homólogas entre sí. En el Capítulo 11 se estudian estos receptores, de forma que aquí no se tratarán en mayor profundidad.

Los **receptores asociados a proteínas G** actúan indirectamente regulando la actividad de una enzima ligada a la membrana plasmática o un canal iónico, separados del receptor. La interacción entre el receptor y la proteína diana está mediada por una tercera proteína, llamada *proteína reguladora que une GTP* (o *proteína G*) (Figura 15-14B). La activación de la proteína diana altera la concentración de una o más pequeñas moléculas señal intracelulares (si la proteína

(A) RECEPTOR RELACIONADO CON CANALES IÓNICOS



(B) RECEPTOR RELACIONADO CON PROTEÍNAS G



(C) RECEPTOR RELACIONADO CON ENZIMAS

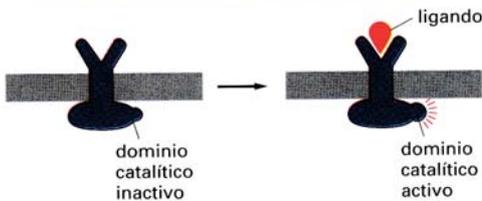


Figura 15-14 Las tres clases de receptores de superficie. A pesar de que muchos receptores asociados a enzimas tienen una actividad enzimática intrínseca, como se muestra en (C), muchos otros actúan sobre enzimas asociadas (no se muestra).

diana es una enzima) o altera la permeabilidad de la membrana plasmática (si la proteína diana es un canal iónico). A su vez, los mensajeros intracelulares actúan alterando el comportamiento de otras proteínas diana de la célula. Todos los receptores relacionados con proteínas G pertenecen a una gran superfamilia de proteínas homólogas, que atraviesan siete veces la membrana

Cuando son activados por su ligando, los **receptores asociados a enzimas** actúan directamente como enzimas o están asociados a enzimas (Figura 15-14C). La mayoría de ellos son proteínas que atraviesan la membrana una sola vez y que tienen el lugar de unión al ligando en el exterior de la célula y el lugar catalítico en el interior. Comparados con las otras dos clases, los receptores relacionados con enzimas son heterogéneos, a pesar de que la gran mayoría de ellos son proteína quinasas o están asociados con proteína quinasas, que fosforilan conjuntos específicos de proteínas en la célula diana.

Los receptores de superficie celular, una vez activados, desencadenan la adición de grupos fosfato a una red de proteínas intracelulares^{9, 10}

La mayoría de lo que se tratará en este capítulo a partir de aquí se refiere a cómo trabajan los receptores relacionados con proteínas G y los receptores relacionados con enzimas. A menudo las señales recibidas en la superficie de la célula por estas dos clases de receptores son transmitidas hasta el núcleo, donde alteran la expresión de determinados genes modificando así el comportamiento de la célula. El sistema de transmisión de la señal está formado por elaborados conjuntos de proteínas señal intracelulares. La mayoría de estas proteínas son: o bien proteínas que cuando llega la señal se fosforilan mediante proteína quinasas o bien proteínas que cuando llega la señal se unen a GTP. En ambos casos las proteínas ganan uno

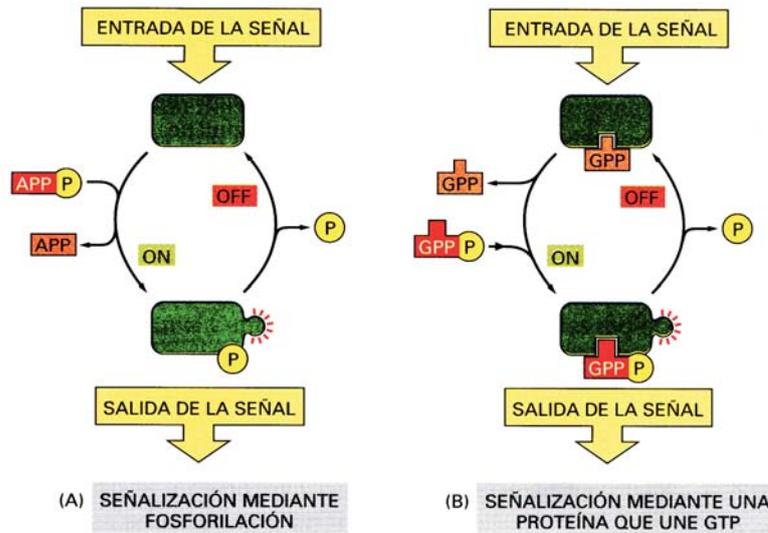


Figura 15-15 Los dos mecanismos principales de señalización intracelular comparten características comunes. En ambos casos una proteína señal es activada por la adición de un grupo fosfato, e inactivada por la eliminación del grupo fosfato. En (A) el fosfato es añadido de forma covalente a la proteína señal, mediante una proteína quinasa; en (B) una proteína señalizadora es inducida a cambiar su GDP por un GTP. Para poner de manifiesto las similitudes entre ambos mecanismos, el ATP se muestra como APPⓅ el ADP como APP, el GTP como GPPⓅ y el GDP como GPP.

o más fosfatos en su estado activado y pierden los fosfatos cuando la señal decae (Figura 15-15). A su vez, estas proteínas generalmente causan la fosforilación de otras proteínas, generando una *cascada de fosforilaciones*.

Las cascadas de fosforilaciones están mediadas por dos tipos principales de proteína quinasa: las *serina/treonina quinasa*s, que fosforilan proteínas sobre cadenas laterales de serina y (menos a menudo) de treonina, y las *tirosina quinasa*s que fosforilan proteínas sobre cadenas laterales de tirosina. Una quinasa ocasional puede hacer ambas cosas. Se estima que alrededor del 1% de nuestros genes codifican proteína quinasa, y que una sola célula de mamífero puede contener más de 100 tipos distintos de estas enzimas, la mayoría de las cuales son serina/treonina quinasa. A pesar de que menos del 0,1% de las proteínas fosforiladas celulares contienen fosfotirosinas, veremos que esta pequeña minoría juega un papel crucial en la señalización de la mayoría de los receptores relacionados con enzimas.

Como hemos tratado previamente, generalmente los comportamientos celulares complejos, como la supervivencia o la proliferación, no están estimulados por una sola señal que actúa sola sino por combinaciones específicas de señales (Figura 15-8). La célula ha de integrar la información que proviene de señales diferentes, para generar una respuesta adecuada –para vivir o morir, o para proliferar o permanecer quiescente. La integración parece depender de interacciones entre las diversas cascadas de fosforilación de proteínas que se activan por diferentes señales extracelulares. En particular, algunas de las proteínas señal en las cascadas actúan como elementos integradores, equivalentes a los microprocesadores de un ordenador: en respuesta a múltiples señales de entrada producen una salida calibrada para generar el efecto biológico deseado. En la Figura 15-16 se presentan dos ejemplos sobre cómo pueden actuar estas proteínas integradoras.

La complejidad de estos sistemas de respuesta a señales, compuestos por múltiples cadenas de proteínas señal que interactúan entre sí, intimida. Sin embargo, la tecnología de DNA recombinante combinada con los análisis genéticos básicos en *Drosophila*, en el nemátodo *C. elegans* y en levaduras, así como otros métodos bioquímicos y farmacológicos convencionales nos permiten descubrir rápidamente los intrincados detalles de estos mecanismos mediante los cuales las proteínas receptoras activadas cambian el comportamiento de la célula.

Resumen

Cada una de las células de un animal pluricelular está programada durante el desarrollo para responder a un conjunto específico de señales que actúan en diversas combinaciones regulando el comportamiento de la célula y determinando si la cé-

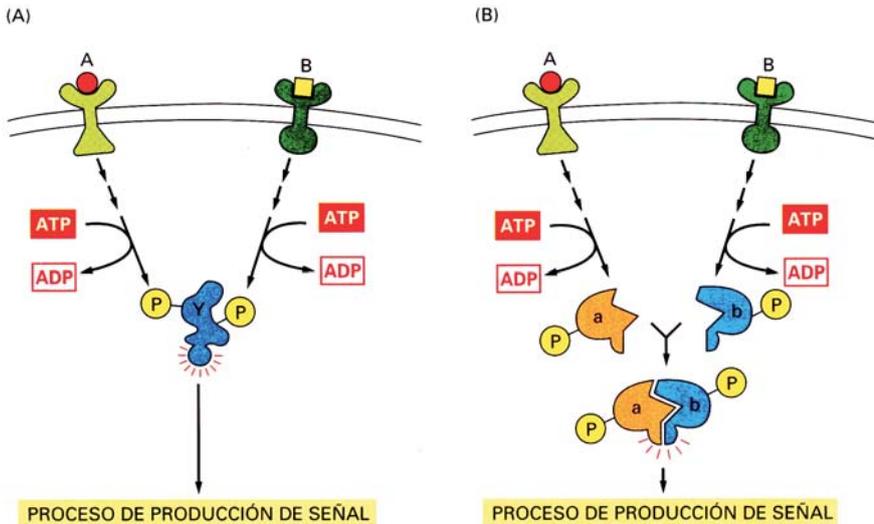


Figura 15-16 Integración de señales.

En (A) las señales A y B activan diferentes cascadas de fosforilación de proteínas, cada una de las cuales produce la fosforilación de la proteína Y, pero en diferentes lugares de la proteína. La proteína Y se activa únicamente cuando ambos lugares están fosforilados, por lo que únicamente es activa cuando las señales A y B se hallan presentes simultáneamente. En (B) las señales A y B producen la fosforilación de dos proteínas, a y b, las cuales entonces se unen entre sí dando lugar a una proteína activa ab. En ambos ejemplos las proteínas se fosforilan. Sin embargo, una forma equivalente de control puede ocurrir con el intercambio de GTP por GDP sobre una proteína que une GTP (véase Figura 15-15).

lula debe vivir o morir o si debe proliferar o permanecer quiescente. La mayoría de estas señales median señalizaciones paracrinas en las que los mediadores locales son rápidamente captados, destruidos o inmovilizados, de forma que únicamente pueden actuar sobre las células vecinas. Además, existe un control centralizado que está ejercido tanto por la señalización endocrina, en la que las hormonas segregadas por las células endocrinas son transportadas por la sangre hasta las células diana de todo el cuerpo, como por la señalización sináptica en la cual los neurotransmisores segregados por las células nerviosas actúan localmente sobre las células postsinápticas con las que contactan sus axones.

La señalización celular requiere tanto moléculas señal extracelulares como un conjunto complementario de proteínas receptoras en cada célula, que les permiten unirlas y responder a ellas de una forma programada y característica. Algunas pequeñas moléculas hidrofóbicas, incluyendo las hormonas esteroideas y tiroideas y los retinoides, difunden a través de la membrana plasmática de la célula diana y activan proteínas receptoras intracelulares, las cuales regulan directamente la transcripción de determinados genes. Algunos gases en solución, como el óxido nítrico y el monóxido de carbono, actúan como mediadores locales difundiendo a través de la membrana de la célula diana y activando una enzima intracelular –habitualmente la guanilato ciclasa, que produce GMP cíclico en la célula diana. Sin embargo, la mayoría de las moléculas señal extracelulares son hidrofílicas y sólo son capaces de activar proteínas receptoras de la superficie de la célula diana; estos receptores actúan como transductores de señal, convirtiendo el evento de unión extracelular en señales intracelulares que alteran el comportamiento de la célula diana. Existen tres familias principales de receptores de superficie celular, los componentes de cada una de las cuales transducen las señales extracelulares de una manera diferente. Los receptores asociados a canales iónicos son canales iónicos regulados por transmisor que se abren o se cierran brevemente como respuesta a la unión de un neurotransmisor. Los receptores asociados a proteínas G activan o inactivan indirectamente enzimas unidas a membrana plasmática o canales iónicos, a través de proteínas triméricas que unen GTP (proteínas G). Los receptores asociados a enzimas actúan directamente como enzimas o están asociados a enzimas; habitualmente las enzimas son proteína quinasa que fosforilan proteínas determinadas de la célula diana. A través de cascadas de fosforilaciones de proteínas, muy bien reguladas, conjuntos elaborados de proteínas que interactúan entre ellas transportan la mayoría de las señales desde la superficie hasta el núcleo, alterando así el patrón de expresión génica y, como consecuencia de ello, el comportamiento de la célula. La interacción entre diferentes cascadas permite a la célula integrar la información que proviene de las múltiples señales que recibe.

Señalización vía receptores de superficie celular asociados a proteínas G¹¹

Los **receptores asociados a proteínas G** constituyen la mayor familia de receptores de la superficie celular. En mamíferos se han descrito más de 100 miembros de esta familia. La mayoría de ellos han sido identificados mediante *clonaje de homología*, en el que se utiliza la hibridación a baja estrictencia con sondas de cDNA preexistentes para detectar secuencias de DNA relacionadas (véase Figura 7-17). Otros miembros de la familia se han encontrado mediante *clonaje de expresión*, utilizando sus propiedades de unión de ligandos o de activación celular para identificarlos. Una forma de esta aproximación consiste en copiar en moléculas de RNA una librería de moléculas de cDNA preparada a partir de células o de tejidos que expresan el receptor en cuestión, e inyectarlas en oocitos de *Xenopus*. Los oocitos traducen las moléculas de RNA a proteína. Estas proteínas se insertan en la membrana plasmática, donde pueden detectarse gracias a sus propiedades de unión de un ligando determinado o de activación celular.

Los receptores asociados a proteínas G median las respuestas celulares de una enorme diversidad de moléculas señal, incluyendo hormonas, neurotransmisores y mediadores locales, de estructura tan variada como lo es su función: la lista incluye proteínas y pequeños péptidos, aminoácidos y derivados de ácidos grasos. Un mismo ligando puede activar muchos miembros diferentes de la familia. Por ejemplo, la adrenalina puede activar por lo menos 9 miembros diferentes de receptores asociados a proteínas G, la acetilcolina a 5 o más y la serotonina por lo menos a 15 de ellos.

A pesar de la diversidad química y funcional de las moléculas señal que se unen a ellos, todos los receptores asociados a proteína G de los que se conoce su secuencia de aminoácidos a partir de estudios de secuenciación de DNA, tienen una estructura similar y están, casi con toda seguridad, relacionados evolutivamente. Están formados por una sola cadena polipeptídica que atraviesa siete veces, arriba y abajo, la bicapa lipídica (Figura 15-17). Como discutiremos más adelante, esta superfamilia de proteínas receptoras transmembrana que atraviesan la membrana siete veces incluye la *rodopsina*, la proteína localizada en los ojos de los vertebrados y que es activada por la luz, así como los receptores olfativos de los vertebrados. En los organismos unicelulares también se encuentran miembros de esta familia: un ejemplo de ellos son los receptores de levaduras que reconocen los factores de acoplamiento de las levaduras. Este motivo estructural tan antiguo también lo presenta la bacteriorrodopsina, una bomba bacteriana de H⁺ activada por la luz, que se discute en el Capítulo 10, a pesar de que, a diferencia de los miembros de la familia, la bacteriorrodopsina no es un receptor y no actúa a través de ninguna proteína G. En su conjunto, estos hechos sugieren que los receptores asociados a proteínas G que median la señalización célula-célula en los organismos pluricelulares deben haber evolucionado a partir de receptores sensoriales de sus antepasados unicelulares. Los miembros de esta familia de receptores han conservado no sólo su secuencia de aminoácidos sino también su relación funcional con una proteína G a través de la cual transmiten al interior celular la señal que ha transportado un ligando extracelular. En esta sección trataremos principalmente de esta cadena de acontecimientos que se inician con la activación de las proteínas G.

Las proteínas G triméricas transmiten la señal intracelular desde los receptores asociados a proteínas G^{11, 12}

Las **proteínas triméricas que unen GTP (proteínas G)** que acoplan funcionalmente estos receptores a sus enzimas diana o a canales iónicos en la membrana plasmática son estructuralmente diferentes de las proteínas que unen GTP, de una sola cadena (denominadas *proteínas monoméricas que unen GTP* o *GTPasas monoméricas*), las cuales transmiten las señales intracelulares y regulan el tráfi-

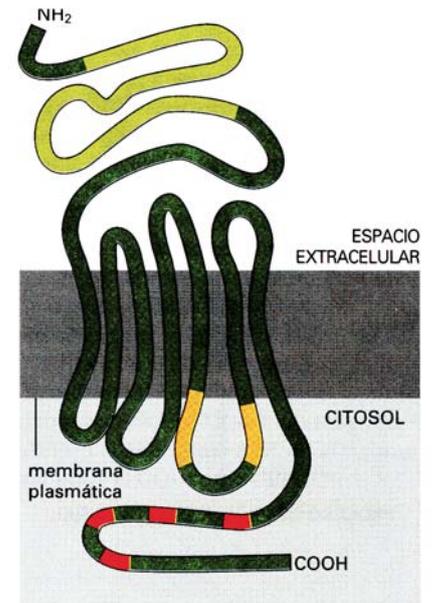


Figura 15-17 Dibujo esquemático de un receptor asociado a proteínas G.

Los receptores que unen ligandos proteicos tienen un gran dominio extracelular de unión formado por la parte de la cadena polipeptídica que se muestra en *verde claro*. Los receptores para ligandos pequeños, como es la adrenalina, tienen dominios extracelulares pequeños y habitualmente el lugar de unión se halla incrustado en el plano de la membrana, formado por aminoácidos de varios de los segmentos transmembrana. Las regiones de los dominios transmembrana que son responsables principales de unirse a las proteínas G triméricas se muestran en *naranja*, y los que se fosforilan durante la desensibilización del receptor (lo cual se discute más adelante) se muestran en *rojo*.

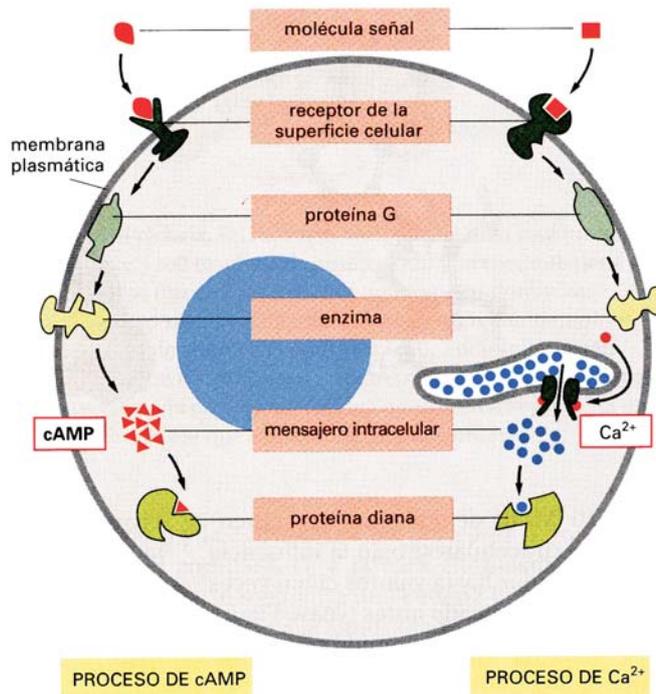


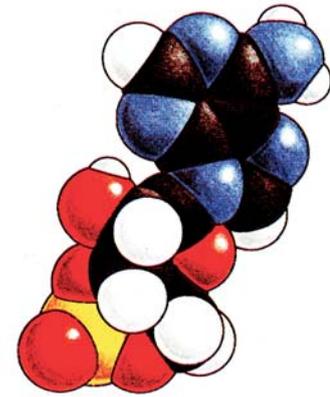
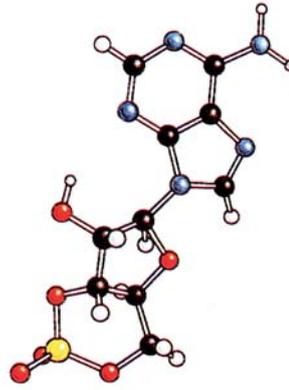
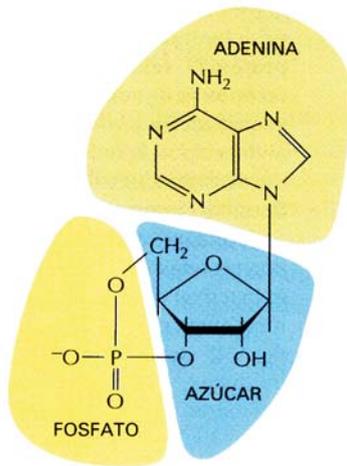
Figura 15-18 Los dos procesos principales mediante los cuales la proteína G relacionada con los receptores de superficie de la célula genera mensajeros intracelulares. En ambos casos, la unión de un ligando extracelular altera la conformación del dominio citoplasmático del receptor, de forma que ahora puede unirse a una proteína G, la cual a su vez activa (o inactiva) una enzima de la membrana plasmática. En el proceso del AMP cíclico (cAMP), la enzima produce AMP cíclico directamente. En el proceso del Ca²⁺, la enzima produce un mediador soluble (el inositol trifosfato, se discute más adelante) que libera Ca²⁺ desde el retículo endoplasmático. Como otros pequeños mediadores intracelulares, tanto el AMP cíclico como el Ca²⁺ transmiten la señal actuando como efectores alostéricos: se unen específicamente a proteínas de la célula, alterando su conformación y, por lo tanto, su actividad.

co de vesículas y muchos otros procesos de las células eucariotas. Las GTPasas monoméricas serán tratadas más tarde en este y en otros capítulos. Sin embargo, ambas clases de proteínas que unen GTP son GTPasas y actúan como interruptores moleculares que pueden saltar entre dos estados: uno activo, cuando están unidas a GTP, y otro inactivo, cuando están unidas a GDP. En el contexto habitual, "activo" significa que la molécula actúa como una señal desencadenando otros procesos celulares. Cuando un ligando extracelular se une a un receptor asociado a proteína G, el receptor cambia de conformación modificando la proteína G trimérica a la que está asociado, haciendo que se desprenda del GDP y lo reemplace por GTP. Este cambio revierte cuando la proteína G hidroliza el GTP que lleva unido, transformándolo de nuevo en GDP. Pero mientras ello ocurre, la proteína (activa) tiene la oportunidad de difundir lejos del receptor y de transmitir su mensaje por la célula, durante un período de tiempo más o menos prolongado.

La mayoría de receptores asociados a proteínas G activan una cadena de acontecimientos que modifican la concentración de una o más moléculas señal intracelulares. A su vez, estas pequeñas moléculas, a menudo denominadas **mediadores intracelulares** (o también *mensajeros intracelulares* o *segundos mensajeros*), transfieren la señal alterando el comportamiento de determinadas proteínas de la célula. Dos de los mediadores intracelulares más ampliamente utilizados son el *AMP cíclico* (cAMP) y el Ca²⁺: en la mayoría de las células animales existen diferentes mecanismos que modifican sus concentraciones y la mayoría de los receptores asociados a proteínas G regulan uno de los dos mediadores, como se indica en la Figura 15-18.

Algunos receptores incrementan los niveles intracelulares de AMP cíclico activando la adenil ciclasa a través de una proteína G estimuladora (G_s)¹³

El **AMP cíclico** (Figura 15-19) fue identificado por primera vez en 1959 como un mediador intracelular de la acción hormonal. Ahora sabemos que actúa como una molécula señal intracelular en todas las células procariontas y animales en que se ha estudiado. Para que el AMP cíclico actúe como un mediador intracelu-



lar, su concentración (que normalmente es $\leq 10^{-7}M$) ha de poder variar, aumentando o disminuyendo, en respuesta a señales extracelulares: bajo la influencia de hormonas los niveles de AMP cíclico pueden variar hasta valores cinco veces superiores, en cuestión de segundos. Como hemos explicado antes (véase Figura 15-10), una capacidad de respuesta como ésta requiere que la rápida síntesis de la molécula esté compensada por una rápida degradación o eliminación de ella. El AMP cíclico se sintetiza a partir de ATP mediante una enzima unida a membrana, la **adenil ciclasa**, y es rápida y continuamente destruido mediante una o varias **fosfodiesterasas de AMP cíclico**, que hidrolizan el AMP cíclico hasta adenosina 5'-monofosfato (5'-AMP) (Figura 15-20).

Muchas moléculas señal extracelulares actúan controlando los niveles de AMP cíclico, alterando la actividad de la adenil ciclasa (Figura 15-21) y no la actividad de la fosfodiesterasa. De la misma forma en que la misma hormona esteroidea produce efectos diferentes en células diana diferentes, distintas células diana responden de forma muy diferente a señales extracelulares que alteran los niveles intracelulares de AMP cíclico (Tabla 15-1). Sin embargo, habitualmente todos los ligandos que activan la adenil ciclasa en un determinado tipo de célula diana causan siempre el mismo efecto: por ejemplo, por lo menos cuatro hormonas activan la adenil ciclasa en las células del tejido adiposo y todas ellas estimulan la degradación de triacilglicéridos (la forma de almacenamiento de las grasas) hasta ácidos grasos (véase Tabla 15-1). Los diferentes receptores para estas hormonas activan un acervo común de moléculas de adenil ciclasa, a las que están acopladas mediante una proteína G trimérica. Como esta proteína participa en la *activación* de la enzima, se denomina **proteína G estimuladora** (G_s de "stimulating"). Los individuos que son genéticamente deficientes en G_s presentan respuestas disminuidas a ciertas hormonas y, por lo tanto, tienen anomalías metabólicas, anomalías en el desarrollo de los huesos y retraso mental.

Los receptores acoplados a la activación de la adenil ciclasa mejor estudiados son los **receptores β adrenérgicos**, los cuales median algunas de las acciones de la *adrenalina* y de la *noradrenalina* (Figura 15-22 y véase la Tabla 15-1). Puede reconstruirse un sistema adenil ciclasa activable por adrenalina en vesículas de fosfolípidos sintéticas, utilizando receptores β -adrenérgicos purificados, G_s y moléculas de adenil ciclasa, lo cual indica que no se requiere ninguna otra proteína para este proceso de activación. ¿De qué forma la proteína G_s media este acoplamiento? La respuesta depende de la estructura trimérica de la proteína G, tal como discutiremos a continuación.

Se cree que las proteínas G triméricas se desensamblan cuando son activadas^{11, 12, 14}

Una proteína G está compuesta por tres cadenas polipeptídicas diferentes, denominadas α , β y γ . La *cadena α de las proteínas G_s* (α_s) se une e hidroliza GTP y

Figura 15-19 El AMP cíclico. Se muestra su fórmula, un modelo espacial de varilla y un modelo de espacio lleno. (C, H, N, O y P indican átomos de carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno y fósforo, respectivamente.)

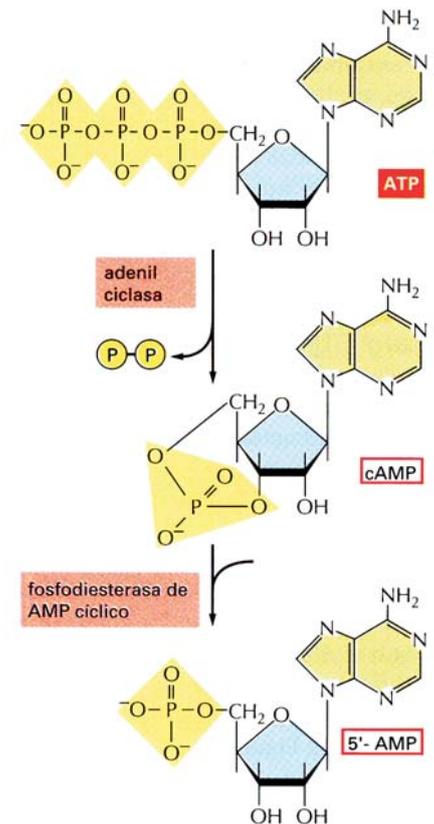


Figura 15-20 Síntesis y degradación del AMP cíclico (cAMP). Una pirofosfatasa hace que la síntesis de AMP cíclico sea un proceso irreversible, hidrolizando el pirofosfato (P)—(P) que se libera en esta reacción (no se muestra).

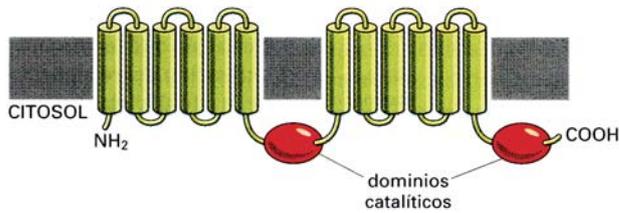


Figura 15-21 La adenil ciclasa. En los vertebrados, la enzima está formada habitualmente por unos 1100 residuos de aminoácido y se cree que tiene dos grupos de seis segmentos transmembrana que separan dos dominios catalíticos citoplasmáticos similares. En mamíferos existen como mínimo seis tipos de estas formas de adenil ciclasa (tipos I-VI). Todos ellos están estimulados por G_s , aunque el tipo I, que se encuentra principalmente en el cerebro, también se estimula por complejos de Ca^{2+} unidos a la proteína que une Ca^{2+} , la calmodulina (de la que trataremos más adelante).

activa la adenil ciclasa. La *cadena β* y la *cadena γ de las proteínas G_s* forman un íntimo complejo ($\beta\gamma$) que ancla el complejo G_s a la cara citoplasmática de la membrana plasmática al menos en parte mediante una cadena lipídica (un grupo prenilo) que está anclado covalentemente a la subunidad γ . En su forma inactiva, G_s está en forma de trímero con una molécula de GDP unida a α_s . Cuando G_s es activada por la unión de un receptor activado por un ligando, α_s cambia su GDP por GTP. Se cree que ello hace que α_s se disocie de $\beta\gamma$, permitiendo que α_s se una a una molécula de adenil ciclasa, a la que activa a producir cAMP cíclico.

Si las células son capaces de responder rápidamente a cambios en la concentración de una molécula señal extracelular, la activación de la adenil ciclasa puede ser revertida rápidamente en cuanto el ligando señal se disocia del receptor. Esta capacidad para responder rápidamente a cambios está asegurada debido a que la vida media de la forma activa de α_s es corta: la actividad GTPasa de α_s se estimula cuando α_s se une a la adenil ciclasa, de forma que el GTP unido a ella se hidroliza a GDP, generando α_s y la adenil ciclasa inactiva. Entonces, α_s se vuelve a asociar con $\beta\gamma$ dando lugar de nuevo a una molécula G_s inactiva (Figura 15-23).

La importancia de la actividad GTPasa en el proceso de finalización de la respuesta puede ponerse de manifiesto en el tubo de ensayo. Si se toman células, se rompen, se abren y se exponen a un análogo del GTP (GTP γ S) cuyo fosfato terminal no es hidrolizable, la producción de AMP cíclico tras el tratamiento con

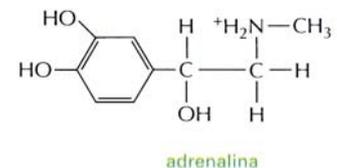


Figura 15-22 La adrenalina. Esta hormona (también denominada epinefrina) se sintetiza a partir de tirosina y es segregada por la glándula adrenal cuando un mamífero se estresa.

Tabla 15-1 Algunas respuestas celulares inducidas por hormonas a través del AMP cíclico

Tejido diana	Hormona	Respuesta principal
Glándula tiroides	hormona estimuladora de la tiroides (TSH)	síntesis y secreción de hormonas tiroideas
Corteza adrenal	hormona adrenocorticotropa (ACTH)	secreción de cortisol
Ovario	hormona luteinizante (LH)	secreción de progesterona
Músculo	adrenalina	degradación de glucógeno
Hueso	parathormona	resorción del hueso
Corazón	adrenalina	incremento de la frecuencia cardíaca y de la fuerza de contracción del corazón
Hígado	glucagón	degradación de glucógeno
Riñón	vasopresina	resorción de agua
Tejido adiposo	adrenalina, ACTH, glucagón, TSH	degradación de triacilglicéridos

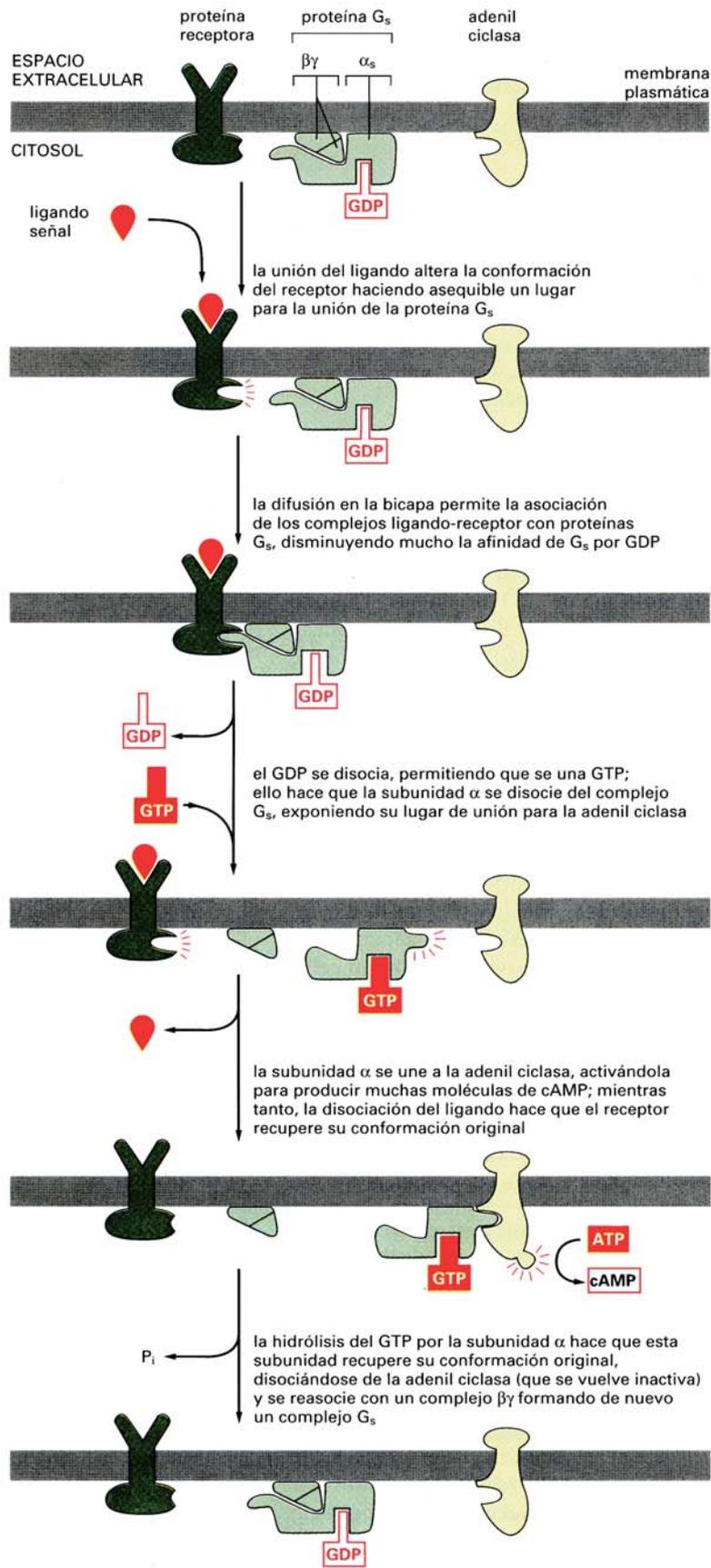


Figura 15-23 Modelo actual que ilustra de qué forma G_s acopla la activación del receptor a la activación de la adenil ciclasa. Mientras el ligando señal permanece unido, el receptor proteico puede continuar activando moléculas de proteína G_s, con lo que se produce una amplificación de la respuesta. Lo que es más importante, después de que el ligando señal se haya disociado del receptor, la proteína α_s puede permanecer activa y seguir estimulando una molécula de ciclasa durante muchos segundos, lo cual proporciona una amplificación todavía mayor.

una hormona se prolonga enormemente. Un fenómeno similar se observa en pacientes que sufren de *cólera*, en los que la toxina bacteriana responsable de los síntomas de esta enfermedad inhibe el mecanismo de autoinactivación de α_s . La **toxina colérica** es una enzima que cataliza la transferencia de ADP ribosa desde NAD^+ intracelular a α_s . La ADP ribosilación altera α_s de forma que pierde la capacidad de hidrolizar el GTP que tiene unido. Las moléculas de adenil ciclasa activadas por estas α_s alteradas permanecen activas indefinidamente. La elevación prolongada de los niveles de AMP cíclico en las células epiteliales intestinales provoca un gran eflujo de Na^+ y de agua en el intestino, que es responsable de la severa diarrea característica del cólera.

Algunos receptores disminuyen los niveles de AMP cíclico inhibiendo la adenil ciclasa vía una proteína G trimérica inhibidora (G_i)^{11, 12, 15}

Una misma molécula señal puede incrementar o disminuir la concentración intracelular de AMP cíclico, en función del tipo de receptor al que se una. Cuando la adrenalina, por ejemplo, se une a un *receptor β adrenérgico*, activa la adenil ciclasa mientras que cuando se une a un *receptor α_2 adrenérgico* inhibe a la enzima. La diferencia entre ambos radica en la proteína G que acopla en cada caso estos receptores a la ciclasa. Los receptores β -adrenérgicos se acoplan funcionalmente a la adenil ciclasa a través de una proteína G_s mientras que los receptores α_2 adrenérgicos se acoplan a la misma enzima a través de una **proteína G inhibidora (G_i)**. Una G_i puede contener el mismo complejo $\beta\gamma$ que una G_s , pero tiene una subunidad α diferente (α_i). Cuando son activados, los receptores α_2 adrenérgicos se unen a la proteína G_i provocando que α_i se una a GTP y se disocie del complejo $\beta\gamma$. Se cree que tanto la α_i como el $\beta\gamma$ contribuyen a la inhibición de la adenil ciclasa: α_i inhibe la adenil ciclasa, probablemente de forma directa mientras que $\beta\gamma$ puede inhibir la síntesis de AMP cíclico de dos maneras –directamente, uniéndose a la ciclasa, e indirectamente uniéndose a algunas subunidades α_s libres de la misma célula, impidiendo así que activen moléculas de adenil ciclasa. Más adelante veremos que G_i también actúa abriendo canales de K^+ de la membrana plasmática, y parece probable que esta función sea más importante que la inhibición de la adenil ciclasa.

Mientras que la toxina colérica cataliza la ADP ribosilación de α_s y de esta forma inactiva la actividad GTPasa de α_s , la **toxina pertúsica**, sintetizada por la bacteria que causa la tos ferina, cataliza la ADP ribosilación de α_i . La ADP ribosilación de α_i impide que el complejo G_i pueda interactuar con los receptores, por lo que permanece unido a GDP y pierde la capacidad de inhibir la adenil ciclasa o de abrir los canales de K^+ .

Las proteínas G triméricas son moléculas señal extraordinariamente versátiles. En los ejemplos considerados anteriormente tanto la subunidad α como el complejo $\beta\gamma$ son componentes activos, pero en otros casos los receptores se hallan acoplados a sus proteínas diana únicamente a través de la liberación del complejo $\beta\gamma$. Además, los complejos $\beta\gamma$ también pueden actuar como reguladores condicionales de proteínas efectoras: por ejemplo pueden incrementar la activación de algunas formas de adenil ciclasa, pero únicamente si la ciclasa ha sido activada previamente por α_s .

La proteína quinasa dependiente de AMP cíclico (quinasa A) media los efectos del AMP cíclico¹⁶

El AMP cíclico ejerce sus efectos en las células animales principalmente activando la enzima **proteína quinasa dependiente de AMP cíclico (quinasa A)**, la cual cataliza la transferencia de un grupo fosfato terminal desde el ATP a un residuo específico de serina o de treonina de determinadas proteínas de la célula diana. Los residuos de aminoácido que son fosforilados por la quinasa A se caracterizan por estar unidos, por su lado amino terminal, a dos o más aminoácidos bási-

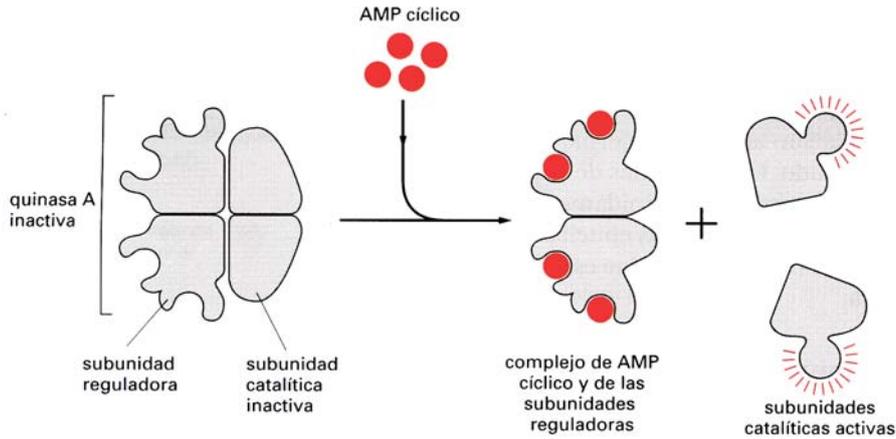


Figura 15-24 Activación de la proteína quinasa dependiente de AMP cíclico (quinasa A). La unión de AMP cíclico a las subunidades reguladoras induce en ellas un cambio de conformación que las hace disociarse del complejo, activando así las subunidades catalíticas. Cada subunidad reguladora tiene dos lugares de unión para AMP cíclico, y la liberación de las subunidades catalíticas es un proceso cooperativo que requiere la unión de más de dos moléculas de AMP cíclico al tetrámero. Este hecho hace que la respuesta de la quinasa a los cambios en la concentración de AMP cíclico sea aguda, como discutimos más tarde. En la mayoría de las células de mamífero existen al menos dos tipos de quinasa A: la del tipo I se halla fundamentalmente en el citosol mientras que la de tipo II se halla unida a través de su subunidad reguladora a la membrana plasmática, a la membrana nuclear y a los microtúbulos. En ambos casos, sin embargo, cuando las subunidades catalíticas son liberadas y activadas, pueden migrar al núcleo (donde pueden fosforilar proteínas reguladoras de genes) mientras que las subunidades reguladoras permanecen en el citoplasma. La estructura tridimensional del dominio proteína quinasa de la subunidad catalítica de la quinasa A se muestra en la Figura 5-12.

cos. A su vez, la fosforilación covalente de los residuos de aminoácido adecuados regula la actividad de la proteína.

La quinasa A se encuentra en todas las células animales y se cree que es la responsable de todos los efectos del AMP cíclico en la mayoría de las células. (La única función conocida diferente del AMP cíclico en mamíferos consiste en regular una clase especial de canales iónicos en neuronas olfativas sensibles al olor.) Los substratos de la quinasa A son diferentes en diferentes tipos celulares, lo cual explica por qué los efectos del AMP cíclico varían en función de la célula diana de que se trate.

En su estado inactivo, la quinasa A es un complejo formado por dos subunidades catalíticas y dos subunidades reguladoras que unen AMP cíclico. La unión de AMP cíclico altera la conformación de las subunidades reguladoras, haciendo que se disocien del complejo. Las subunidades catalíticas liberadas resultan activas para fosforilar específicamente determinadas moléculas proteicas (Figura 15-24).

La fosforilación de proteínas mediada por AMP cíclico fue demostrada por primera vez en estudios del metabolismo del glucógeno en células de músculo esquelético. El glucógeno constituye la principal reserva de glucosa, y tanto su síntesis como su degradación en el músculo esquelético están reguladas por la adrenalina. Por ejemplo, cuando por cualquier causa un animal se halla asustado o en tensión, su glándula suprarrenal segrega adrenalina a la sangre, poniendo en estado de "alerta" a diversos tejidos del cuerpo. Entre otros efectos, la adrenalina circulante induce a las células musculares a degradar su glucógeno hasta glucosa 1-fosfato y a detener la síntesis de glucógeno. La glucosa se oxida a través de la glucólisis suministrando ATP para la contracción muscular sostenida. De esta forma, la adrenalina prepara a las células musculares para una actividad intensa. La adrenalina se une a receptores β adrenérgicos de la superficie de la célula muscular, incrementando los niveles citosólicos de AMP cíclico. A su vez, el AMP cíclico activa la quinasa A, la cual fosforila otras dos enzimas. La primera de ellas, la *fosforilasa quinasa* es la primera proteína quinasa que fue descubierta (1956) y a su vez, fosforila la enzima *glucógeno fosforilasa*, activándola para que libere residuos de glucosa a partir de la molécula de glucógeno (Figura 15-25). La otra enzima que resulta fosforilada por la acción de la quinasa A es la *glucógeno sintasa*, la cual cataliza el último paso de la síntesis de glucógeno a partir de glucosa. Mediante esta cascada de interacciones, un incremento de los niveles de AMP cíclico estimula la degradación de glucógeno e inhibe su síntesis, con lo que aumenta al máximo la cantidad de glucosa disponible para la célula.

En algunas células animales, un incremento de los niveles de AMP cíclico activa la transcripción de determinados genes. Por ejemplo, en las células que segregan la hormona *somatostatina*, el AMP cíclico activa los genes que codifican esta hormona. La región reguladora del gen de la somatostatina contiene una corta secuencia de DNA, denominada *elemento respuesta al AMP cíclico*.

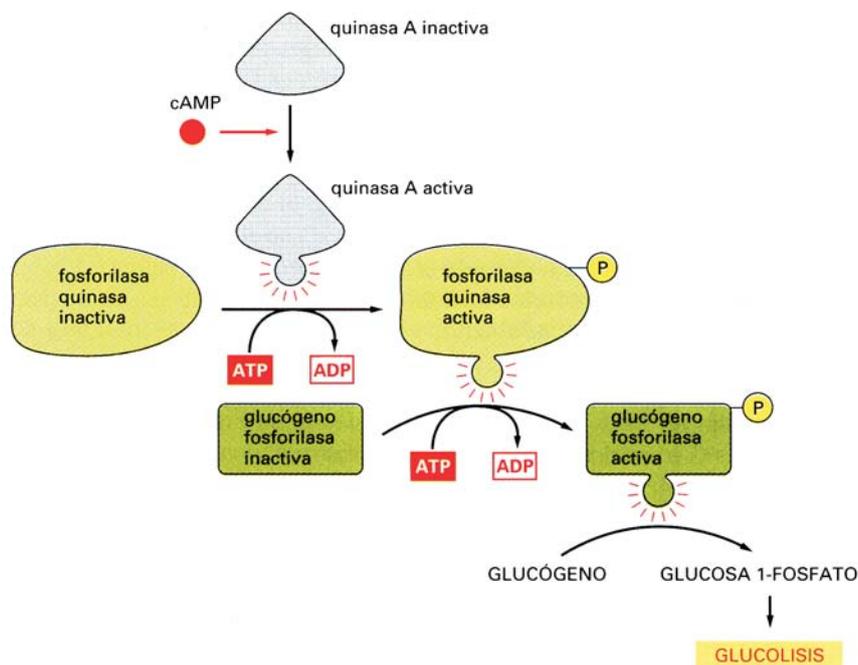


Figura 15-25 Estimulación de la degradación de glucógeno por AMP cíclico en células de músculo esquelético. La unión de AMP cíclico a la quinasa A activa a esta enzima a fosforilar, y por tanto activar, a la fosforilasa quinasa, la cual, a su vez, fosforila y activa la glucógeno fosforilasa, la enzima que degrada el glucógeno. La quinasa A también incrementa, directa e indirectamente, la fosforilación de la glucógeno sintasa inhibiéndola, inactivando así la síntesis de glucógeno (no se muestra).

(CRE, de Cyclic AMP Response Element), que también se encuentra en las regiones reguladoras de otros genes activados por el AMP cíclico. Esta secuencia es reconocida por una proteína específica reguladora de genes denominada **proteína de unión a CRE** (CREB, de CRE-Binding). Cuando CREB es fosforilada por la quinasa A sobre un residuo de serina, adquiere la capacidad de activar la transcripción de estos genes; la fosforilación estimula la actividad transcripcional de CREB sin afectar sus propiedades de unión al DNA. Si este residuo de serina se modifica por mutación, CREB resulta inactiva y ya no puede estimular la transcripción de ningún gen en respuesta a un incremento de los niveles de AMP cíclico.

Diversas proteína serina/treonina fosfatasas revierten rápidamente los efectos de la quinasa A¹⁷

Normalmente es importante que los efectos del AMP cíclico sean transitorios, por lo que es evidente que las células han de desfosforilar las proteínas que han sido fosforiladas por la quinasa A. En general la desfosforilación de las serinas y las treoninas fosforiladas está catalizada por cuatro grupos de **fosfoproteína serina/treonina fosfatasas** –las proteína fosfatasas I, IIA, IIB y IIC. Excepto para el caso de la proteína fosfatasa IIC (que es una fosfatasa poco importante, no relacionada con las otras), las demás fosfatasas están compuestas por una subunidad catalítica homóloga que forma un complejo con una o más subunidades reguladoras. La *proteína fosfatasa I* juega un importante papel en la respuesta al AMP cíclico, como veremos a continuación. La *proteína fosfatasa IIA* tiene una especificidad muy amplia y parece ser la principal fosfatasa responsable de revertir muchas de las fosforilaciones catalizadas por serina/treonina quinanas; juega un papel importante en la regulación del ciclo celular. La *proteína fosfatasa IIB*, también denominada *calcineurina*, es activada por Ca^{2+} y es especialmente abundante en el cerebro.

La actividad de cualquier proteína regulada por fosforilación depende del balance en un instante dado entre las actividades de las quinanas que la fosforilan y de las fosfatasas que constantemente la están desfosforilando. La proteína fosfatasa I es responsable de la desfosforilación de muchas de las proteínas que son fosforiladas por la quinasa A. Por ejemplo, inactiva la CREB eliminando su

fosfato activador, inactivando así la respuesta transcripcional causada por un incremento de los niveles de AMP cíclico. En las células del músculo esquelético, la proteína fosfatasa I desfosforila cada una de las tres enzimas clave del metabolismo del glucógeno que, como hemos mencionado antes, resultan fosforiladas por la quinasa A en respuesta a la adrenalina, y hacen que la célula cambie de una situación de síntesis de glucógeno a otra de degradación. La proteína fosfatasa I tiende a contrarrestar estas fosforilaciones, pero en las células musculares activadas por adrenalina su actividad está suprimida por otra enzima diana de la quinasa A, que es una *proteína inhibidora de fosfatasas* específica. Cuando esta proteína inhibidora es fosforilada por la quinasa A, se une a la proteína fosfatasa I inactivándola (Figura 15-26). Activando la fosforilasa quinasa e inhibiendo simultáneamente la acción opuesta de la proteína fosfatasa I, la quinasa A genera un cambio mucho mayor en el metabolismo del glucógeno del que podría obtener mediante su acción a través de una sola de estas enzimas.

Habiendo discutido de qué forma las proteínas G triméricas acoplan los receptores a la adenil ciclasa alterando los niveles de AMP cíclico en las células, ahora consideraremos de qué forma las proteínas G acoplan los receptores a otra enzima crucial –la *fosfolipasa C*. La activación de esta enzima conduce a un incremento de la concentración de Ca^{2+} en el citosol, y el Ca^{2+} es utilizado, de una forma incluso más general que el AMP cíclico, como mediador intracelular.

Para utilizar el Ca^{2+} como señal intracelular, las células han de mantener los niveles basales de Ca^{2+} muy bajos¹⁸

La concentración de Ca^{2+} libre en el citosol de cualquier célula es extremadamente baja ($\leq 10^{-7}$ M), mientras que su concentración en el fluido extracelular ($\sim 10^{-3}$ M) y en el retículo endoplasmático (ER) es alta. Así pues, existe un enorme gradiente de Ca^{2+} que tiende a llevar Ca^{2+} hacia el citosol, tanto a través de la membrana plasmática como a través de la membrana de ER. Cuando una señal abre transitoriamente los canales de Ca^{2+} en alguna de estas dos membranas, el Ca^{2+} fluye precipitadamente al citosol, incrementando dramáticamente la concentración local de Ca^{2+} y activando mecanismos celulares sensibles a Ca^{2+} .

Para que este mecanismo de señalización sea funcional, es necesario que la concentración de Ca^{2+} en el citosol se mantenga baja, lo cual se consigue de dife-

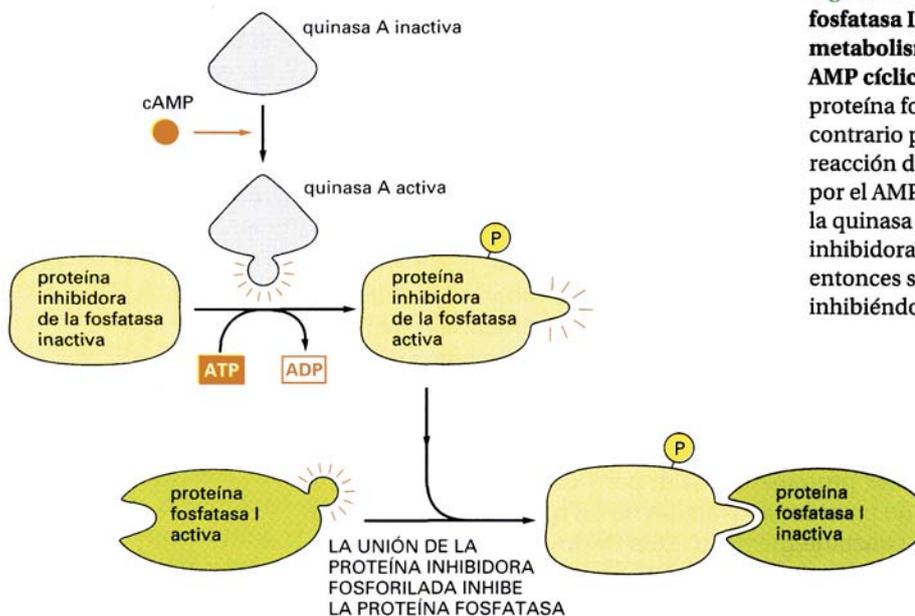


Figura 15-26 Papel de la proteína fosfatasa I en la regulación del metabolismo del glucógeno por el AMP cíclico. El AMP cíclico inhibe la proteína fosfatasa I, que en caso contrario podría oponerse a la reacción de fosforilación estimulada por el AMP cíclico. Ello ocurre ya que la quinasa A fosforila a la proteína inhibidora de la fosfatasa, la cual entonces se une a la fosfatasa I, inhibiéndola.

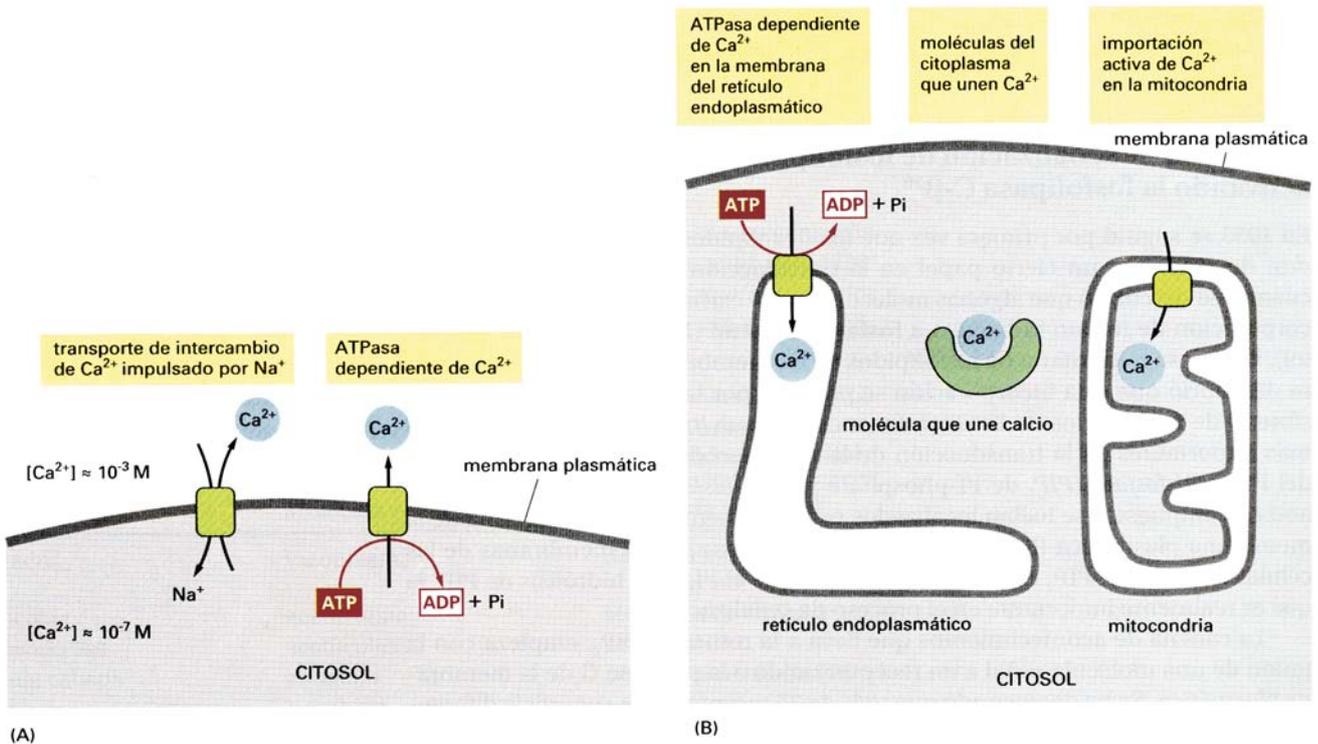
rentes formas. Todas las células eucariotas tienen en su membrana plasmática una ATPasa que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP para bombear Ca^{2+} hacia el exterior del citosol. Las células tales como las musculares y las nerviosas, que utilizan de forma intensa el sistema de señalización del Ca^{2+} , disponen en su membrana plasmática de otra bomba de Ca^{2+} adicional, que acopla el eflujo de Ca^{2+} a un influjo de Na^+ . Este intercambiador Ca^{2+} - Na^+ tiene una afinidad por el Ca^{2+} relativamente baja, por lo cual únicamente actúa de forma eficiente cuando los niveles citoplasmáticos de Ca^{2+} aumentan 10 veces por encima de sus valores normales, tal como ocurre después de que una célula nerviosa o una célula muscular hayan sido estimuladas repetidamente. En la membrana de ER existe otra bomba que también desempeña un papel importante en el mantenimiento de una concentración baja de Ca^{2+} en el citosol: esta ATPasa dependiente de Ca^{2+} permite al ER captar grandes cantidades de Ca^{2+} del citosol, en contra del gradiente de concentración y aunque los niveles de Ca^{2+} en el citosol sean bajos.

Habitualmente, la concentración de Ca^{2+} libre en el citosol varía desde 10^{-7} M cuando la célula está en reposo, hasta alrededor de 5×10^{-6} M cuando está activada por una señal extracelular. Sin embargo, cuando la célula está dañada y no puede extraer Ca^{2+} del citosol de forma eficiente, la concentración de Ca^{2+} puede aumentar de forma peligrosa ($>10^{-5}$ M). En estas circunstancias, comienza a actuar una bomba de Ca^{2+} de baja actividad pero gran capacidad, situada en la membrana interna de la mitocondria, y utiliza el gradiente electroquímico generado a través de esta membrana durante las etapas de transferencia de electrones de la fosforilación oxidativa, para extraer Ca^{2+} del citosol importándolo a la mitocondria. En la Figura 15-27 se resume este mecanismo.

El Ca^{2+} actúa como un mensajero intracelular ubicuo¹⁹

La primera evidencia directa de que el Ca^{2+} actúa como un mediador intracelular proviene de un experimento realizado en 1947, que demostró que la inyección intracelular de una pequeña cantidad de Ca^{2+} provoca la contracción de las fibras musculares esqueléticas. Recientemente se ha puesto claramente de manifiesto que el Ca^{2+} actúa como un mensajero intracelular en una amplia gama de respuestas celulares, entre las que se pueden destacar la secreción y la prolifera-

Figura 15-27 Controles de la concentración citosólica de Ca^{2+} . El dibujo muestra un esquema de los mecanismos principales a través de los cuales la célula mantiene muy bajas las concentraciones de Ca^{2+} en el citosol, en contra de elevadas concentraciones de Ca^{2+} en el fluido extracelular. El Ca^{2+} es bombeado activamente desde el citosol al exterior de la célula (A) y al interior de ER (B). Además, en la célula existen varios tipos de moléculas que unen Ca^{2+} libre. La mitocondria también puede bombear Ca^{2+} extrayéndolo del citosol, pero sólo lo hace de forma eficiente cuando los niveles de Ca^{2+} son extremadamente altos –habitualmente como resultado de una alteración de la célula.



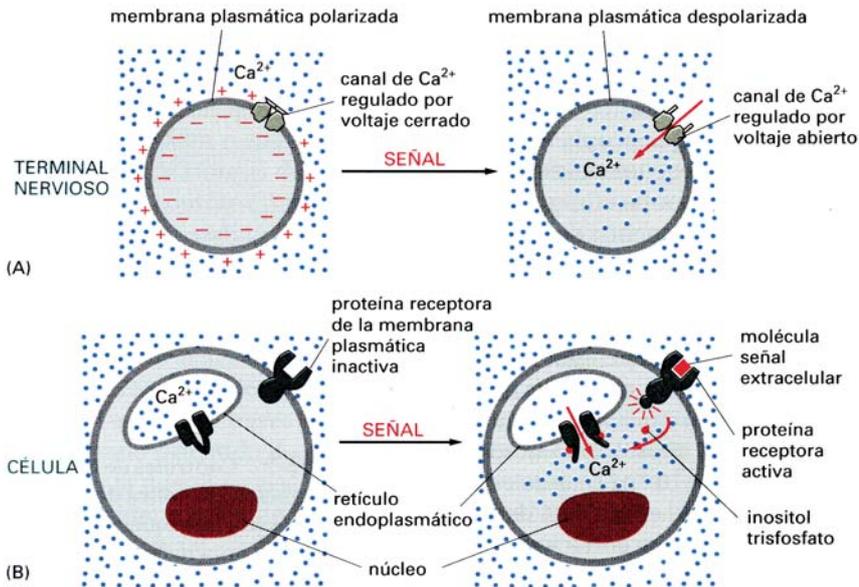


Figura 15-28 Dos procesos comunes a través de los cuales el Ca^{2+} puede entrar en el citosol en respuesta a señales extracelulares. En (A) el Ca^{2+} entra a un terminal nervioso desde el fluido extracelular a través de canales de Ca^{2+} regulados por voltaje, cuando la membrana del terminal nervioso es despolarizada por un potencial de acción. En (B), la unión de una molécula señal extracelular a un receptor de superficie celular genera inositol trisfosfato, el cual estimula la liberación de Ca^{2+} desde el ER.

ción celular. Se han definido dos procesos en la señalización por Ca^{2+} , uno de ellos utilizado principalmente por células con actividad eléctrica (excitables) y el otro utilizado por casi todas las células eucariotas. El primero de estos procesos ha sido particularmente bien estudiado en las células nerviosas, en las cuales la despolarización de la membrana plasmática provoca un influjo de Ca^{2+} al interior del terminal nervioso iniciándose la secreción de un neurotransmisor; el Ca^{2+} entra a través de canales regulados por voltaje que se abren cuando la membrana plasmática del terminal nervioso se despolariza por un potencial de acción que llega hasta el terminal (véase Figura 11-34). En el segundo proceso, que es ubicuo, la unión de moléculas señal extracelulares a receptores de superficie celular provoca la liberación de Ca^{2+} del ER; los acontecimientos que ocurren en la superficie celular están acoplados a la apertura de los canales de Ca^{2+} del ER a través de otra molécula mensajera intracelular, el *inositol trisfosfato* (Figura 15-28), como discutiremos después.

Algunos receptores relacionados con proteínas G activan el proceso de señalización de fosfolípidos de inositol activando la fosfolipasa C- β ²⁰

En 1953 se sugirió por primera vez que los fosfolípidos de inositol (*fosfoinosítidos*) desempeñan un cierto papel en la transducción de la señal extracelular, cuando se descubrió que algunas moléculas señal extracelulares estimulan la incorporación de fosfato radiactivo a **fosfatidilinositol (PI, de phosphatidylinositol)**, una clase minoritaria de fosfolípidos de las membranas celulares. Más tarde se descubrió que esta incorporación se produce por la degradación y posterior síntesis de fosfolípidos de inositol. Se encontró que los fosfolípidos de inositol más importantes en la transducción de la señal son dos derivados fosforilados del PI, el *PI-fosfato (PIP, de PI-phosphate)* y el *PI-bisfosfato (PIP₂)*. Se cree que ambos compuestos se hallan localizados principalmente en la cara interna de la membrana plasmática (Figura 15-29). A pesar de que en las membranas de las células animales el PIP₂ es menos abundante que el PI, es la hidrólisis de PIP₂ la que es realmente importante en el proceso de señalización.

La cadena de acontecimientos que lleva a la rotura de PIP₂, empieza con la unión de una molécula señal a un receptor unido a la proteína G de la membrana plasmática. Se ha demostrado que más de 25 receptores de superficie diferentes utilizan esta vía de transducción; en la Tabla 15-2 se presentan varios ejem-

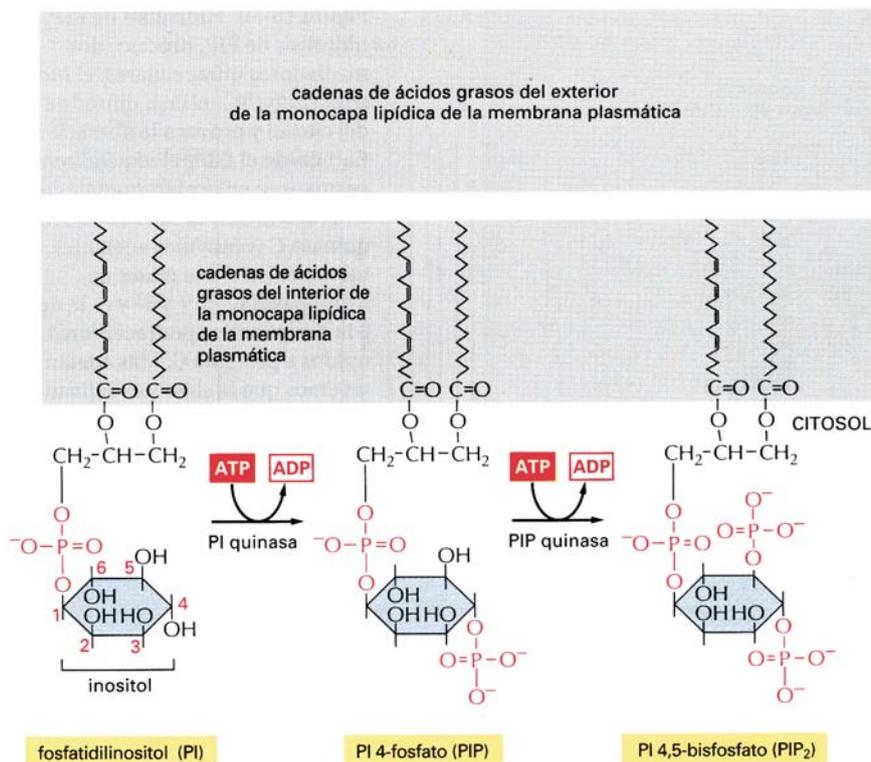


Figura 15-29 Los fosfolípidos de inositol (fosfoinosítidos). Los fosfoinosítidos (PIP y PIP₂) se producen por fosforilación del fosfatidilinositol (PI). A pesar de que los tres fosfolípidos de inositol pueden degradarse en el proceso de respuesta a una señal, la degradación más crítica es la de PIP₂, a pesar de que es el menos abundante, ya que constituye menos del 10% del total de lípidos de inositol y menos del 1% del total de fosfolípidos.

plos de respuestas mediadas de esta forma. Los detalles del proceso de activación no son tan bien conocidos como los del AMP cíclico, pero existen evidencias crecientes de que en la membrana plasmática actúa el mismo tipo de mecanismo constituido por varias etapas. Un receptor activado estimula a una proteína G denominada G_q, la cual, a su vez, activa una *fosfolipasa C específica de fosfoinosítoles*, denominada **fosfolipasa C-β**. En menos de un segundo, esta enzima degrada el PIP₂ generando dos productos: *inositol trisfosfato* y *diacilglicerol* (Figura 15-30). En este punto, el proceso de señalización se bifurca en dos ramas. Ambas moléculas juegan papeles cruciales en la señalización celular, por lo que las consideraremos por separado.

El inositol trisfosfato (IP₃) acopla la activación del receptor con la liberación de Ca²⁺ del ER ²¹

El **inositol trisfosfato (IP₃)** producido por la hidrólisis de PIP₂ es una pequeña molécula hidrosoluble que se libera de la membrana plasmática y difunde rápidamente por todo el citosol. Allí, libera Ca²⁺ del ER uniéndose a *canales liberadores de Ca²⁺ sensibles a IP₃* de la membrana del ER. Los canales son estructural-

Tabla 15-2 Algunas respuestas celulares mediadas por receptores unidos a proteínas G, acoplados al proceso de señalización de los fosfolípidos de inositol

Tejido diana	Molécula señal	Respuesta principal
Hígado	vasopresina	degradación del glucógeno
Páncreas	acetilcolina	secreción de amilasa
Músculo liso	acetilcolina	contracción
Célula cebada	antígeno	secreción de histamina
Plaquetas sanguíneas	trombina	agregación

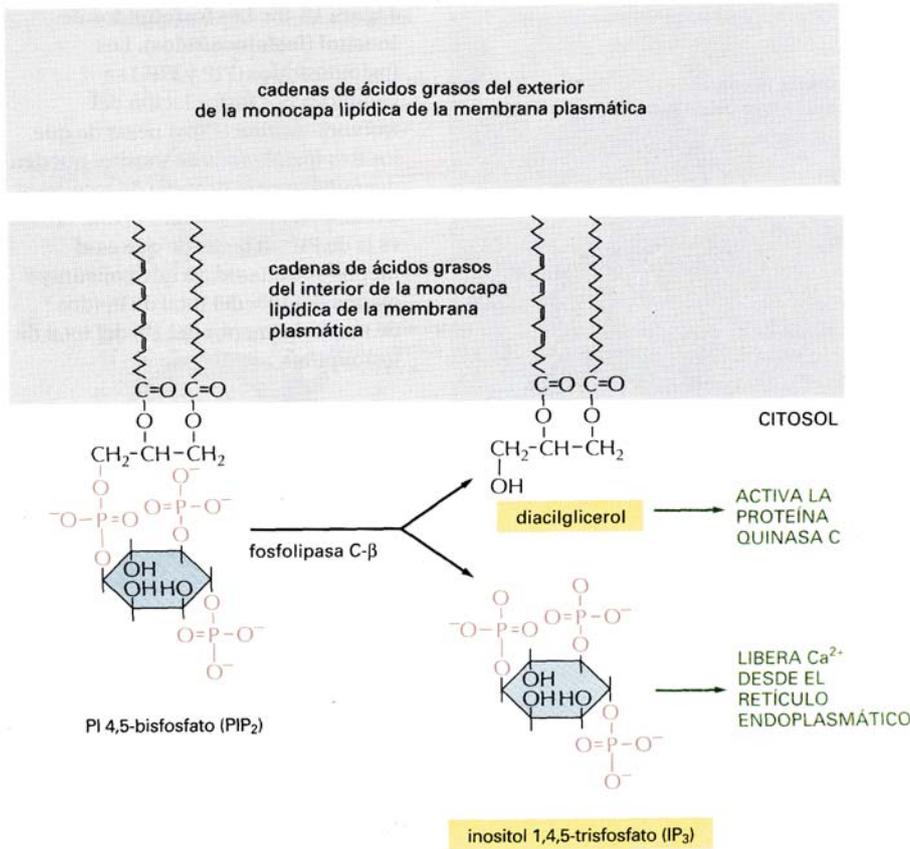


Figura 15-30 Hidrólisis de PIP₂. La hidrólisis de PIP₂ produce dos mediadores intracelulares: el *inositol trisfosfato* (IP₃), el cual difunde a través del citosol y provoca la liberación de Ca²⁺ desde el ER, y el *diacilglicerol*, que permanece en la membrana y colabora en la activación de la enzima proteína quinasa C (véase más adelante). Al menos existen tres clases de fosfolipasas C-β, γ y δ- y es la de clase β la que se activa por receptores unidos a proteína G. Más adelante veremos que la clase γ es activada por otra clase de receptores, denominados *receptores tirosina quinasa*, que activan el proceso de señalización de fosfolípidos de inositol sin ninguna proteína G intermediaria.

mente similares a los canales de liberación de Ca²⁺ (*receptores de rianodina*) del retículo sarcoplasmático de las células musculares, los cuales liberan el Ca²⁺ que desencadena el proceso de contracción muscular (véase Figura 16-92). Ambos tipos de canales están regulados por retroalimentación positiva, ya que el Ca²⁺ liberado puede unirse a los canales incrementando aún más la liberación de Ca²⁺. Ello hace que la liberación de Ca²⁺ ocurra de una manera repentina, tipo "todo o nada". En muchas células incluyendo las células musculares, se encuentran ambos tipos de canales liberadores de Ca²⁺.

Para acabar la respuesta inicial de Ca²⁺ actúan dos mecanismos: (1) el IP₃ es rápidamente desfosforilado (y así inactivado) mediante fosfatasa específicas, y (2) el Ca²⁺ que entra en el citosol es rápidamente bombeado hacia el exterior, principalmente hacia el exterior de la célula.

Sin embargo no todo el IP₃ es desfosforilado: algunas moléculas son fosforiladas hasta 1,3,4,5-tetraquisfosfato (IP₄), el cual puede mediar respuestas lentas pero más prolongadas en la célula o facilitar la recuperación de las reservas intracelulares de Ca²⁺ a partir del fluido extracelular. La enzima que cataliza la producción de IP₄ se activa por un incremento de la concentración citosólica de Ca²⁺ inducida por IP₃, lo cual constituye una forma de retroalimentación negativa de los niveles de IP₃.

A menudo las oscilaciones de Ca²⁺ prolongan la respuesta inicial de Ca²⁺ inducida por IP₃²²

Cuando se utilizan indicadores fluorescentes sensibles a Ca²⁺, como la aecurina o fura-2 (se discute en el Capítulo 4) para estudiar las variaciones de los niveles citosólicos de Ca²⁺ en células individuales en las que se ha activado el proceso de señalización de fosfolípidos de inositol, a menudo se observa que la señal inicial de Ca²⁺ se propaga como una ola a través del citosol desde una zona localizada

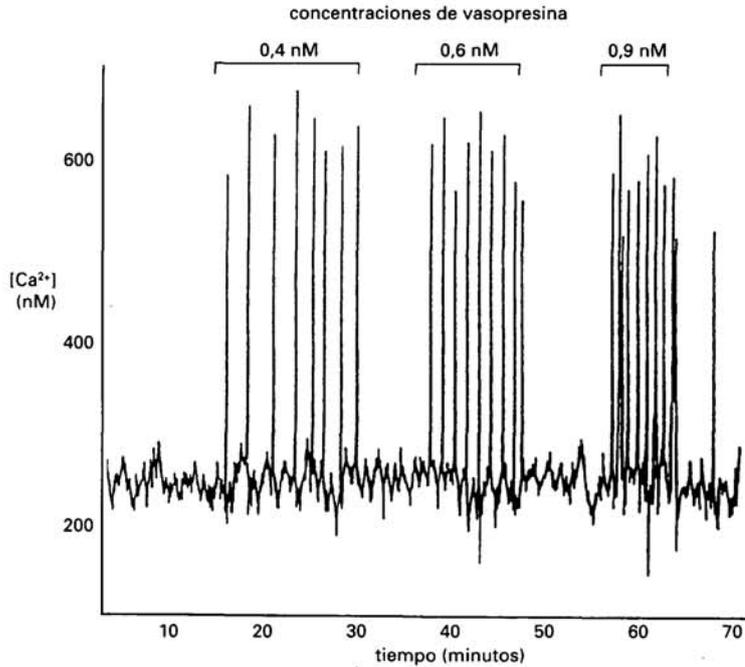


Figura 15-31 Inducción de oscilaciones de Ca^{2+} en una célula hepática por vasopresina. La célula fue cargada con la proteína sensible a Ca^{2+} , aecuarina, y a continuación fue expuesta a concentraciones crecientes de vasopresina. Nótese que la frecuencia de las espigas de Ca^{2+} aumenta a medida que aumenta la concentración de vasopresina, pero que la amplitud de las espigas no se ve afectada. (Adaptado de N.M. Woods, K.S.R. Cuthbertson y P.H. Cobbold, *Nature* 319:600-602, 1986. © 1986 Macmillan Magazines Ltd.)

de la célula. Además, a menudo el incremento transitorio inicial de la concentración de Ca^{2+} viene seguido por series de “espigas” de concentración de Ca^{2+} , cada una de las cuales tarda en producirse del orden de segundos o minutos; estas **oscilaciones de Ca^{2+}** pueden persistir mientras los receptores se mantengan activados en la superficie de la célula (Figura 15-31).

El mecanismo responsable de la propagación de las olas de Ca^{2+} y de la generación de las oscilaciones no es conocido con certeza, a pesar de que se han propuesto una gran cantidad de modelos para explicarlo. En la mayoría de estos modelos tanto la propagación como las oscilaciones dependen de una retroalimentación positiva, en la que el Ca^{2+} activa su propia liberación produciendo una espiga de Ca^{2+} del “todo o nada”. Los modelos se diferencian entre sí principalmente en considerar si el Ca^{2+} actúa directamente sobre los canales de liberación de Ca^{2+} del ER estimulando su propia liberación, o bien si actúa indirectamente incrementando la actividad de la fosfolipasa C, generando así oleadas de IP_3 que, a su vez, inducirían oleadas de liberación de Ca^{2+} .

El significado biológico de las oscilaciones de Ca^{2+} también es incierto. A menudo su frecuencia depende de la concentración del ligando señal extracelular (Figura 15-31) y puede, en principio, traducirse a respuesta celular dependiente de frecuencia. En células de la hipófisis secretoras de hormona, por ejemplo, la estimulación por una molécula señal extracelular induce espigas repetidas de Ca^{2+} , cada una de las cuales está asociada con un pulso de secreción de hormona. Se ha sugerido que este hecho puede maximizar la secreción impidiendo los efectos tóxicos de un incremento sostenido de la concentración citosólica de Ca^{2+} .

El diacilglicerol activa la proteína quinasa C (quinasa C)²³

Al mismo tiempo que el IP_3 producido por la hidrólisis del PIP_2 incrementa la concentración de Ca^{2+} en el citosol, el otro producto de hidrólisis –el **diacilglicerol**– ejerce efectos bastantes diferentes. Tiene dos papeles funcionales potenciales. En primer lugar, puede ser posteriormente degradado, liberando ácido araquidónico que puede actuar como mensajero o ser utilizado en la síntesis de eicosanoides (véase Figura 15-6); En segundo lugar, y mucho más importante, activa una proteína serina/treonina quinasa que fosforila varias proteínas de la célula diana.

La enzima activada por el diacilglicerol se denomina **proteína quinasa C** (**quinasa C** o **PKC** de Protein Kinase C), debido a que es dependiente de Ca^{2+} . Se cree que el incremento inicial de la concentración citosólica de Ca^{2+} inducido por IP_3 altera la quinasa C, trasladándola de la cara citosólica de la membrana plasmática a la cara citoplasmática. Se activa por la combinación de Ca^{2+} , diacilglicerol y el fosfolípido de membrana cargado negativamente, fosfatidilserina. De las ocho o más isoformas diferentes de la quinasa C en mamíferos, al menos cuatro son activadas por diacilglicerol.

Como el diacilglicerol producido inicialmente por la rotura de PIP_2 es rápidamente metabolizado, no puede mantener la actividad de la quinasa C como sería necesario para obtener respuestas mantenidas como la proliferación o la diferenciación. La activación prolongada de la quinasa C depende de una segunda ola de producción de diacilglicerol catalizada por fosfolipasas que rompen el fosfolípido principal de la membrana fosfatidilcolina. No se conoce cómo resultan activadas estas fosfolipasas que actúan retrasadas.

Cuando la quinasa C es activada fosforila residuos determinados de serina o de treonina de proteínas diana, las cuales varían en función del tipo de célula de que se trate. Las mayores concentraciones de quinasa C se han encontrado en el cerebro, donde (entre otras cosas) fosforila canales iónicos de las células nerviosas alterando sus propiedades y, por lo tanto, variando la excitabilidad de las membrana plasmática de las células nerviosas.

En muchas células la activación de la quinasa C incrementa la transcripción de determinados genes. Se conocen por lo menos dos procesos. En uno de ellos, la quinasa C activa una cascada de proteínas quinasa que conduce a la fosforilación, y activación, de una proteína reguladora de genes unida a DNA; en el otro proceso, la activación de la quinasa C conduce a la fosforilación de una proteína inhibidora, liberando así una proteína citoplasmática reguladora de genes que puede migrar al núcleo y estimular la transcripción específica de determinados genes (Figura 15-32).

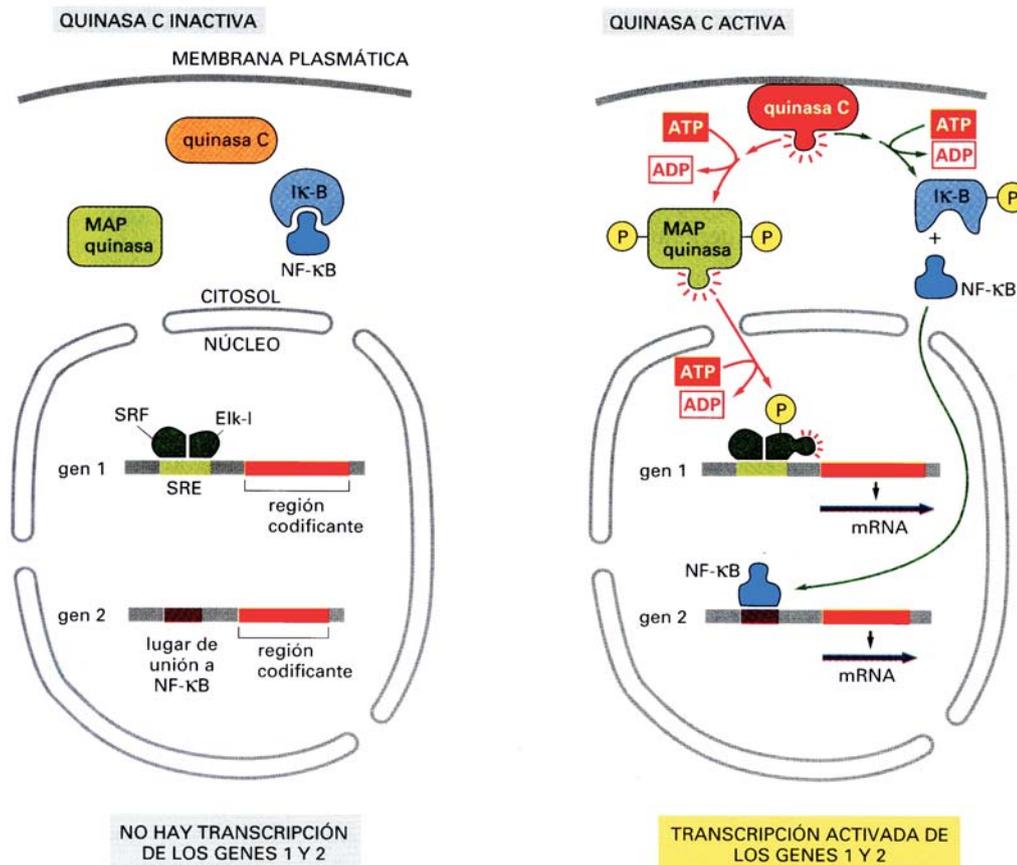
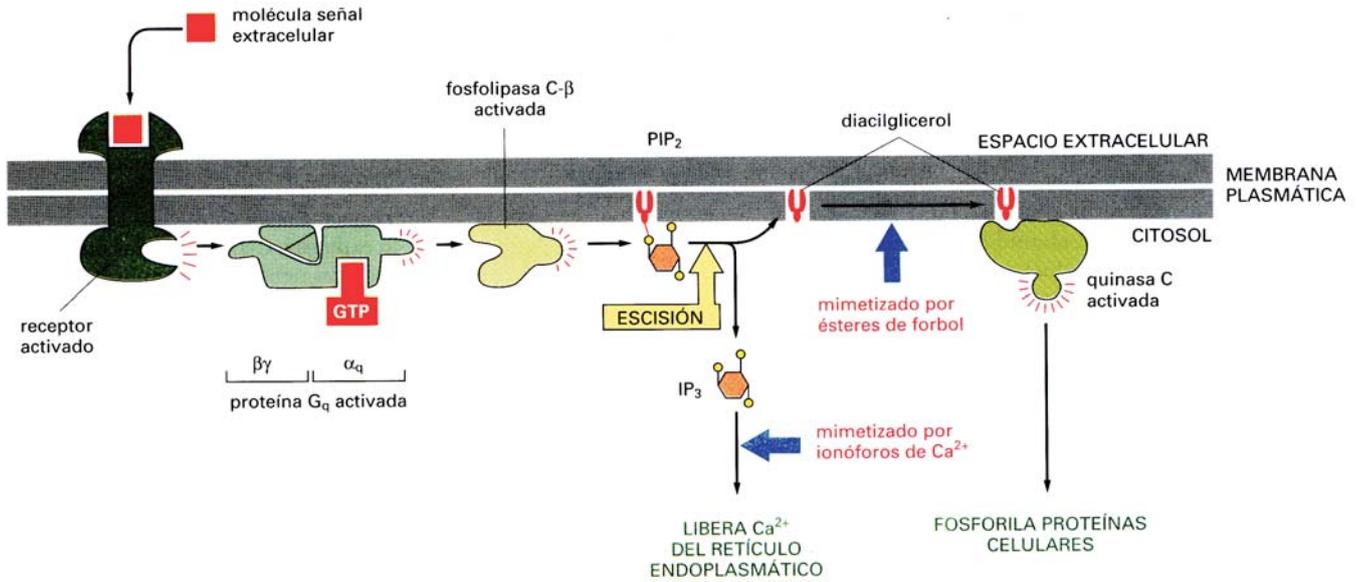


Figura 15-32 Dos procesos intracelulares mediante los cuales la quinasa C activa puede activar la transcripción específica de determinados genes. En uno de ellos (*flechas rojas*), la quinasa C activa una cascada de fosforilaciones que conduce a la fosforilación de una proteína quinasa clave, denominada *MAP quinasa* (se discute más adelante), la cual, a su vez, fosforila y activa la proteína reguladora de genes Elk-1. Elk-1 se halla unida a cortas secuencias de DNA (denominadas *elementos de respuesta sérica, SRE*, de Serum Response Elements) en asociación con otra proteína de unión al DNA (denominada *factor de respuesta sérica, SRF*, de Serum Response Factor). En el otro proceso (*flechas verdes*) la activación de la quinasa C conduce a la fosforilación de Iκ-B, la cual libera la proteína reguladora de genes NF-κB de forma que ahora puede migrar hasta el núcleo y allí activar la transcripción de determinados genes.



En la Figura 15-33 se muestra cada una de las dos ramas del proceso de señalización de fosfolípidos de inositol. Como se indica en la figura, cada rama del proceso puede ser mimetizada mediante la adición a células intactas de agentes farmacológicos específicos. Los efectos de IP₃ pueden ser mimetizados utilizando un *ionóforo de Ca²⁺*, como el A23187 o la ionomicina, los cuales permiten que el Ca²⁺ entre al citosol desde el líquido extracelular (se discute en el Capítulo 11). Los efectos del diacilglicerol se pueden mimetizar por *ésteres de forbol*, productos vegetales que se unen a la quinasa C y la activan directamente. Utilizando estos reactivos, se ha podido demostrar que, a menudo, las dos ramas del proceso colaboran produciendo una respuesta celular completa. Por ejemplo, algunos tipos celulares pueden ser estimulados a proliferar en cultivo cuando son tratados con ionóforos de calcio y con un activador de la quinasa C, pero no si se tratan con uno solo de ambos reactivos.

Figura 15-33 Las dos ramas del proceso de los fosfolípidos de inositol.

El receptor, una vez activado, se une a una proteína G trimérica específica (G_q) haciendo que la subunidad α se disocie y active la fosfolipasa C-β, la cual rompe el PIP₂ generando IP₃ y diacilglicerol. El diacilglicerol (junto con el Ca²⁺ que lleva unido y con fosfatidilserina –no se muestra en el dibujo), activa la quinasa C. Tanto la fosfolipasa C-β como la quinasa C son enzimas solubles en agua que, al activarse, se translocan desde el citosol hasta la cara interna de la membrana plasmática. Los efectos de IP₃ pueden ser mimetizados experimentalmente en células intactas mediante el tratamiento con ionóforos de Ca²⁺ mientras que los efectos del diacilglicerol pueden ser mimetizados mediante el tratamiento con ésteres de forbol, los cuales se unen a la quinasa C activándola.

La calmodulina es un receptor intracelular de Ca²⁺ ubicuo²⁴

Habitualmente la concentración de Ca²⁺ libre en el citoplasma es $\leq 10^{-7}$ M y generalmente no aumenta por encima de 6×10^{-6} M, incluso aunque la célula esté activada por un influjo de Ca²⁺. Así, cualquiera que sea la estructura de la célula que actúe directamente como diana para la regulación dependiente de Ca²⁺ deberá tener una constante de afinidad (K_a) para el Ca²⁺ de unos 10⁶ litros/mol. Además, como la concentración de Mg²⁺ en el citosol es relativamente constante (alrededor de 10⁻³ M), estos lugares de unión al Ca²⁺ deberán presentar una selectividad para el Ca²⁺ sobre el Mg²⁺ de unas 1000 veces como mínimo. Se conocen varias proteínas que unen Ca²⁺, que cumplen estos requisitos.

La primera proteína de este tipo que se descubrió es la *troponina C* de las células del músculo esquelético; en el Capítulo 16 se discute el papel de esta proteína en la contracción muscular. En todas las células animales y vegetales en que se ha estudiado, se ha encontrado otra proteína que une Ca²⁺, estrechamente relacionada con la troponina C, denominada **calmodulina**. Una célula animal típica contiene más de 10⁷ moléculas de calmodulina, lo cual significa aproximadamente el 1% de la masa total de proteína de la célula. La calmodulina actúa como un receptor intracelular polivalente de Ca²⁺ que media la mayoría de los procesos regulados por Ca²⁺. Se trata de una cadena polipeptídica altamente conservada, de unos 150 residuos de aminoácido, con cuatro lugares de unión con una alta afinidad para el Ca²⁺. Cuando une calcio, la calmodulina sufre un importante cambio de conformación (Figura 15-34A).

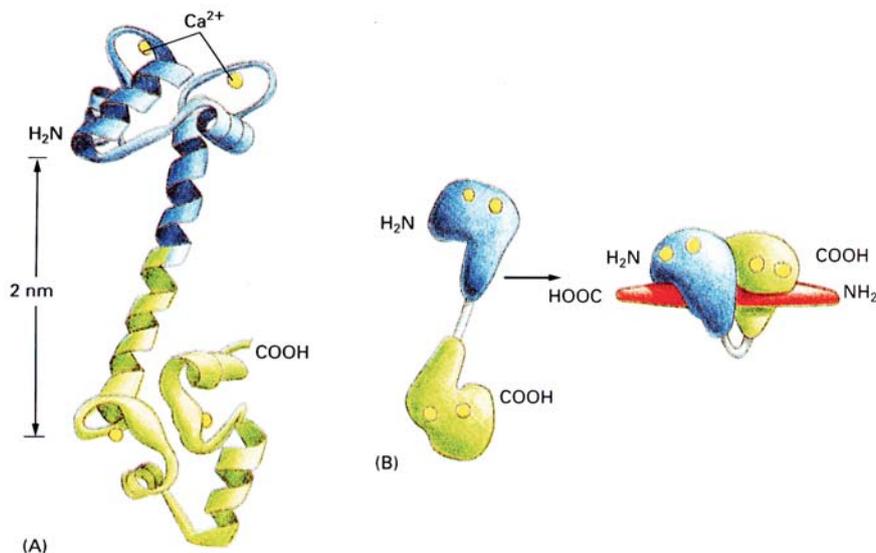


Figura 15-34 Estructura del complejo Ca^{2+} -calmodulina, basada sobre estudios de difracción de rayos X y de resonancia magnética nuclear (NMR, de Nuclear Magnetic Resonance).

(A) La molécula parece una "pesa de gimnasia", con dos cabezas globulares conectadas mediante una larga hélice α expuesta. Cada una de las dos cabezas tiene dos dominios de unión al Ca^{2+} , cada uno de los cuales está constituido por un lazo de 12 residuos de aminoácidos en el que algunas cadenas laterales de ácido aspártico y de ácido glutámico forman enlaces iónicos con el Ca^{2+} . Los dos lugares de unión al Ca^{2+} del extremo carboxilo terminal de la molécula tienen una afinidad por el Ca^{2+} diez veces superior a la del extremo amino terminal. En solución la molécula es flexible, mostrando un abanico de formas, desde formas extendidas (como la de la figura) hasta formas más compactas. (B) Cambios estructurales del complejo Ca^{2+} -calmodulina que ocurren cuando éste se une a una proteína diana (en este ejemplo, un péptido que contiene un dominio de unión para Ca^{2+} -calmodulina de una proteína quinasa dependiente de Ca^{2+} -calmodulina [la quinasa de la cadena ligera de la miosina, tratada más adelante]). Nótese que el complejo Ca^{2+} -calmodulina se dobla como una "navaja de bolsillo" abrazando al péptido. (A, basado en datos de cristalografía de rayos X de Y.S. Babu et al., *Nature* 315:37-40, 1985. © 1985 Macmillan Magazines Ltd.; B, basado en datos de cristalografía de rayos X de W.E. Quioco, *Science* 257:1251-1255, 1992, y en datos de NMR de M. Ikura et al., *Science* 256:632-638, 1992. © the AAAS.)

La activación alostérica de la calmodulina por el Ca^{2+} es análoga a la activación alostérica de la quinasa A por el AMP cíclico, con la diferencia de que el complejo Ca^{2+} -calmodulina no tiene actividad enzimática sino que actúa uniéndose a otras proteínas. En algunos casos, la calmodulina actúa como una subunidad reguladora permanente de un complejo enzimático, pero en la mayoría de los casos la unión del Ca^{2+} induce a la calmodulina a unirse a varias proteínas diana de la célula, alterando su actividad. Cuando el complejo Ca^{2+} -calmodulina se une a su proteína diana puede sufrir un cambio de conformación posterior mucho más importante (Figura 15-34B).

De entre las proteínas diana reguladas por el complejo Ca^{2+} -calmodulina, varias de ellas son enzimas o proteínas de transporte a través de la membrana. En muchas células, por ejemplo, el complejo Ca^{2+} -calmodulina se une, activando, la Ca^{2+} -ATPasa de la membrana plasmática, la cual bombea Ca^{2+} hacia el exterior de la célula. Así, si la concentración de Ca^{2+} en el citosol aumenta, la bomba se activa, lo cual contribuye a que los niveles citosólicos de Ca^{2+} vuelvan a los valores normales. Sin embargo, la mayor parte de los efectos del complejo Ca^{2+} -calmodulina son más directos y están mediados por *proteína quinasas dependientes de Ca^{2+} -calmodulina*.

En las células animales la mayoría de acciones del Ca^{2+} se producen a través de proteína quinasas dependientes de Ca^{2+} -calmodulina (quinasas CaM)²⁵

La mayoría de los efectos de Ca^{2+} en las células animales están mediados por fosforilaciones de proteínas catalizadas por una familia de **proteína quinasas dependientes de Ca^{2+} -calmodulina (quinasas CaM)**. Estas quinasas fosforilan residuos de serina o de treonina de determinadas proteínas y, como en el caso del AMP cíclico, la respuesta de una célula diana a un incremento de la concentración de Ca^{2+} libre en el citosol depende del tipo de quinasas CaM reguladas de que disponga la célula. Las primeras quinasas CaM que se descubrieron —la *quinasa de la cadena ligera de la miosina*, que activa la contracción del músculo liso, y la *fosforilasa quinasa*, que activa la degradación del glucógeno— presentan una especificidad de sustrato muy alta. Más recientemente, sin embargo, se han identificado algunas quinasas CaM con una especificidad más amplia, y que parecen ser las responsables de mediar muchas de las acciones del Ca^{2+} en las células animales.

El ejemplo mejor estudiado de una *quinasa "multifuncional" Ca^{2+} -calmodulina* es la **quinasa-CaM II**, que se encuentra en todas las células animales pero

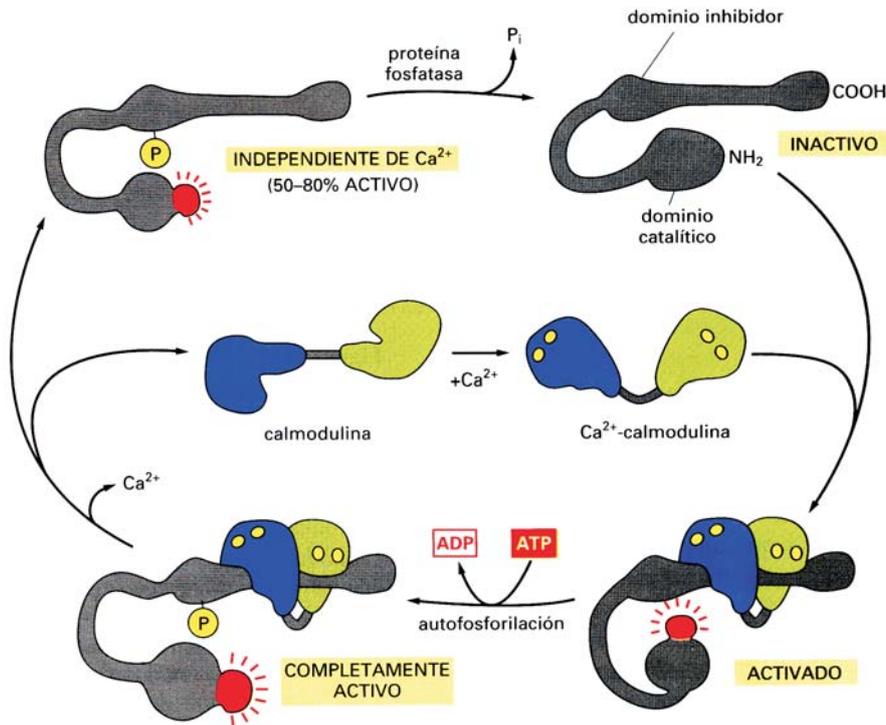


Figura 15-35 Activación de la quinasa CaM II. La enzima es un complejo proteico de unas 12 subunidades. Las subunidades son de cuatro tipos homólogos (α , β , γ y δ) que se expresan en diferentes tipos celulares en proporciones diferentes. En la figura se presenta únicamente la subunidad α (en gris), que se expresa sólo en el cerebro. En ausencia de Ca^{2+} -calmodulina la enzima es inactiva como consecuencia de una interacción entre el dominio inhibidor y del dominio catalítico. La unión de Ca^{2+} -calmodulina altera la conformación de la proteína, permitiendo que el dominio catalítico fosforele el dominio inhibidor de subunidades vecinas del complejo así como otras proteínas de la célula (no se muestran). La autofosforilación del complejo enzimático (por fosforilación mutua de sus subunidades) prolonga la actividad de la enzima de dos maneras: (1) atrapa el complejo Ca^{2+} -calmodulina unido, de forma que no se disocia del complejo enzimático hasta que los niveles citosólicos de Ca^{2+} vuelven a los valores basales, unos 10 segundos después (no se muestra); (2) convierte la enzima en una forma independiente de Ca^{2+} ya que la quinasa se mantiene activa incluso después de que el complejo Ca^{2+} -calmodulina se disocie de ella. La actividad continúa hasta que el proceso de autofosforilación es contrarrestado por una proteína fosfatasa.

especialmente enriquecida en el sistema nervioso. Constituye hasta el 2% de la masa total de proteína en algunas regiones del cerebro, altamente concentradas en sinapsis. Por ejemplo, cuando las neuronas que utilizan *catecolaminas* (dopamina, noradrenalina o adrenalina) como neurotransmisores son activadas, el influjo de Ca^{2+} a través de canales de Ca^{2+} regulados en sus membranas plasmáticas induce a la célula a segregar su neurotransmisor. El influjo de Ca^{2+} también hace que la quinasa CaM II se fosforele, activándose, y activando a la *tirosina hidroxilasa*, la cual es la enzima reguladora de flujo de la síntesis de catecolaminas. De esta forma, cuando la célula se activa se estimula tanto la secreción como la síntesis del neurotransmisor.

La quinasa CaM II tiene una propiedad destacable: puede actuar como un dispositivo de memoria molecular, colocándose en un estado activo cuando es expuesta a Ca^{2+} -calmodulina y permaneciendo activa incluso después de que la concentración de Ca^{2+} haya bajado. Ello es debido a que la quinasa se fosforila a ella misma (un proceso denominado *autofosforilación*), tal como fosforila a otras proteínas celulares cuando es activada por Ca^{2+} -calmodulina. En su estado autofosforilado la enzima permanece activa en ausencia de Ca^{2+} , prolongando así la duración de la actividad de la quinasa después de que acabe la señal inicial activadora de Ca^{2+} ; la actividad se mantiene hasta que las fosfatasas abaten la actividad autofosforilativa de la enzima, inhibiéndola (Figura 15-35).

Debido a estas propiedades, la activación de la quinasa CaM II puede ser utilizada como una memoria traza de un pulso de Ca^{2+} anterior, y al parecer juega un importante papel en algunos tipos de memoria y de aprendizaje del sistema nervioso de los vertebrados. Ratones mutantes que carecen de la subunidad específica de cerebro que se ilustra en la Figura 15-35 tienen defectos específicos en su capacidad de recordar la localización de un objeto –es decir, de aprendizaje espacial.

Los procesos de Ca^{2+} y de AMP cíclico interactúan entre sí²⁶

Los procesos de señalización a través de calcio y de AMP cíclico interactúan en diversos niveles en la jerarquía de control. En primer lugar, los niveles citosó-

licos de Ca^{2+} y de AMP cíclico pueden influirse respectivamente. Por ejemplo, algunas formas de las enzimas pueden sintetizar y degradar AMP cíclico –la adenil ciclasa y la fosfodiesterasa respectivamente– están reguladas por complejos Ca^{2+} -calmodulina. De forma inversa, la quinasa A puede fosforilar algunos canales y bombas de Ca^{2+} , modificando su actividad; por ejemplo, la quinasa A fosforila el receptor de IP_3 del ER, lo cual puede inhibir o activar la liberación de Ca^{2+} inducida por IP_3 , dependiendo del tipo celular. En segundo lugar, las enzimas reguladas directamente por Ca^{2+} y por AMP cíclico pueden influirse mutuamente. Por ejemplo, algunas quinasas CaM son fosforiladas por la quinasa A. En tercer lugar, estas enzimas pueden tener efectos interactivos sobre las mismas moléculas diana del metabolismo. Así, frecuentemente la quinasa A y la quinasa CaM fosforilan lugares diferentes de la misma proteína la cual, por lo tanto, está regulada tanto por el AMP cíclico como por el Ca^{2+} ; la proteína reguladora del gen CREB, de la que hemos tratado anteriormente (véase pág. 793), constituye un ejemplo de ello.

Como ejemplo de cómo pueden interactuar el Ca^{2+} y al AMP cíclico, consideremos la *fosforilasa quinasa* del músculo esquelético, cuyo papel en la degradación de glucógeno ya hemos explicado. Esta quinasa fosforila la glucógeno fosforilasa, la cual cataliza la degradación del glucógeno (véase Figura 15-25). Se trata de una enzima formada por cuatro subunidades aunque tan sólo una de ellas cataliza la reacción de fosforilación: las otras tres son reguladoras y permiten que el complejo enzimático sea activado por AMP cíclico y por Ca^{2+} . Las cuatro subunidades se designan como α , β , γ y δ . La subunidad γ es la que presenta la actividad catalítica; la subunidad δ es la calmodulina y es la principal responsable de la dependencia de la enzima por el Ca^{2+} . Las subunidades α y β son las dianas de la regulación por el AMP cíclico, siendo ambas fosforiladas por la quinasa A (Figura 15-36).

La misma señal de Ca^{2+} que inicia la contracción muscular también asegura que exista suficiente cantidad de glucosa que aporte la energía necesaria para la contracción. El gran influjo de Ca^{2+} al interior del citosol (se discute en el Capítulo 16) altera la conformación de la subunidad de calmodulina de la fosforilasa quinasa, incrementando su actividad quinasa, con lo que se incrementa la velocidad de degradación de glucógeno varios centenares de veces. Además, el influjo de Ca^{2+} también activa dos quinasas CaM que fosforilan (inhibiéndola) la glucógeno sintasa, con lo que se inhibe la síntesis de glucógeno. Por el contrario, las fosforilaciones de la quinasa A inducidas por la adrenalina que hemos descrito ajustan el metabolismo de la célula muscular anticipándose al incremento de la demanda energética permitiendo a la enzima ser activada cuando existen menos iones calcio unidos a la calmodulina, con lo que la enzima se hace más sensible al Ca^{2+} .

Algunas proteínas G triméricas regulan directamente canales iónicos²⁷

Las proteínas G triméricas no actúan exclusivamente regulando la actividad de enzimas y alterando la concentración de nucleótidos cíclicos o de Ca^{2+} en el citosol. En algunos casos activan o inactivan directamente canales iónicos de la membrana plasmática de la célula diana, alterando así su permeabilidad iónica y, por lo tanto, la excitabilidad de la membrana. Por ejemplo, la acetilcolina liberada por el nervio vago reduce tanto la frecuencia como la fuerza de la contracción de la célula muscular del corazón. El efecto está mediado por una clase especial de receptores de acetilcolina que activan la proteína G inhibidora G_i , de la que hemos tratado previamente. (Estos receptores, que pueden ser activados por el alcaloide de hongos muscarina, se denominan *receptores muscarínicos de acetilcolina* para distinguirlos de otros receptores, muy diferentes a éstos, denominados *receptores nicotínicos de acetilcolina*, que son receptores relacionados con canales iónicos de las células del músculo esquelético y de células nerviosas que pueden ser activadas por nicotina.) Una vez activada, la subunidad α de G_i



Figura 15-36 La fosforilasa quinasa. Dibujo muy esquemático que muestra las cuatro subunidades de la enzima de músculo de mamífero. La subunidad γ presenta la actividad catalítica de la enzima activa; las subunidades α y β y la subunidad δ (la calmodulina) median la regulación de la enzima por AMP cíclico y por Ca^{2+} , respectivamente. El complejo enzimático final contiene cuatro copias de cada subunidad.

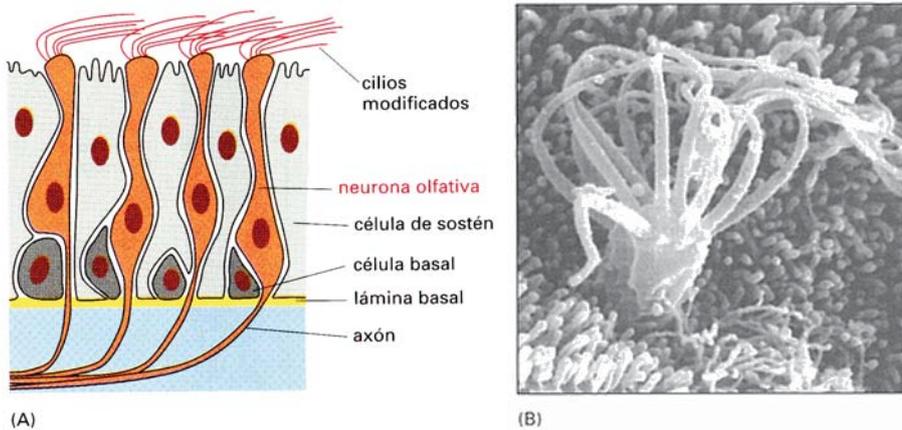


Figura 15-37 Receptores de neuronas olfativas. (A) Dibujo esquemático del epitelio olfativo de la nariz. El receptor olfativo de las neuronas poseen cilios modificados que se proyectan desde la superficie del epitelio y contienen los receptores olfativos y la maquinaria para la transducción de la señal. El axón, que se extiende desde el extremo opuesto de la neurona receptora, conduce las señales eléctricas hasta el cerebro cuando la célula es activada por un odorante. Las células basales actúan como células madre, produciendo nuevas neuronas receptoras durante toda la vida. (B) Electronmicrografía de barrido de cilios de la superficie de una neurona olfativa. (B, de E.E. Morrison y R.M. Costanzo, *J. Comp. Neurol.* 297: 1-13, 1990 © Wiley-Liss, Inc.)

no sólo inhibe la adenil ciclasa (como hemos descrito previamente) sino que también abre directamente canales de K^+ de la membrana plasmática de la célula muscular. La apertura de estos canales de K^+ hace que la célula sea más difícil de despolarizar, lo cual contribuye al efecto inhibitorio de la acetilcolina sobre el corazón.

Otras proteínas G triméricas regulan la actividad de canales iónicos de una forma menos directa, bien regulando la fosforilación de canales (mediante, por ejemplo, la quinasa A, la quinasa C o la quinasa CaM) o bien causando la producción o la destrucción de nucleótidos cíclicos que activan o inactivan directamente canales iónicos. Estos *canales iónicos regulados por nucleótidos* juegan un papel crucial en los procesos de la visión y de la olfacción.

La olfacción y la visión dependen de receptores asociados a proteínas G y de canales iónicos regulados por nucleótidos cíclicos²⁸

Los humanos podemos distinguir más de 10 000 olores diferentes (*odorantes*), los cuales son detectados por neuronas con receptores olfativos especializados en el revestimiento de la nariz. Estas células reconocen odorantes mediante **receptores olfativos** relacionados con una proteína G específica, que se presentan en la superficie de cilios modificados que sobresalen de las células (Figura 15-37). Muchos de estos receptores actúan a través de AMP cíclico; cuando son estimulados por la unión del odorante, activan una proteína G trimérica olfativa específica (G_{olf}), la cual, a su vez, activa la adenil ciclasa; el incremento resultante de los niveles de AMP cíclico abre *canales catiónicos regulados por AMP cíclico*, lo cual permite que se produzca un influjo de Na^+ que despolariza la célula e inicia un impulso nervioso que viaja a lo largo del axón, hasta el cerebro. Otros receptores olfativos actúan a través del proceso de fosfolípidos de inositol y canales de Ca^{2+} regulados por IP_3 de la membrana plasmática, pero respecto a su mecanismo de transducción existe todavía poca información.

Se cree que existen centenares de receptores olfativos diferentes; cada uno está codificado por un gen diferente y reconoce odorantes diferentes, pero todos ellos pertenecen a la superfamilia de receptores asociados a proteínas G. A pesar de que sabemos que cada célula olfativa responde a un conjunto determinado de odorantes, no está claro si cada célula contiene únicamente un tipo de receptor que reconoce toda la serie de odorantes a los que la célula es sensible o si cada célula contiene un juego de receptores, cada uno de los cuales es específico de un solo odorante. Los receptores relacionados con proteínas G también median algunas formas de detección de sabor, pero respecto a ello se conoce todavía muy poca cosa.

Los canales iónicos regulados por nucleótidos cíclicos también participan en la transducción de señales en la visión de los vertebrados, pero el nucleótido crucial en este caso es el **GMP cíclico** (Figura 15-38) en lugar de ser el AMP cíclico.

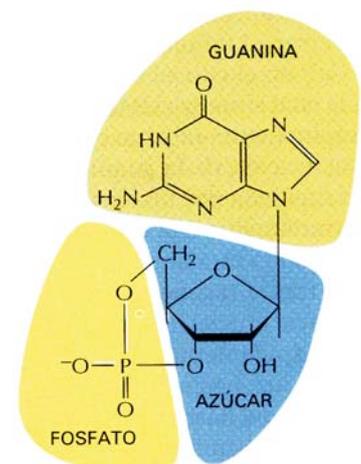


Figura 15-38 El GMP cíclico.

co. Como el AMP cíclico, las concentraciones celulares de GMP cíclico están controladas por una rápida velocidad de síntesis (por la *guanilato ciclasa*) y una rápida degradación (por la *fosfodiesterasa de GMP cíclico*).

En la transducción visual, la activación de los receptores está producida por la luz, y conduce a una disminución, en lugar de un incremento, de los niveles del nucleótido cíclico. El proceso se ha estudiado especialmente bien en el caso de la respuesta a la luz de los **fotorreceptores en forma de bastón (bastones)** de la retina de los vertebrados. Los bastones son responsables de la visión monocromática con luz tenue, mientras que los *fotorreceptores en forma de cono (conos)* son responsables de la visión cromática con luz brillante. Un fotorreceptor en forma de bastón es una célula altamente especializada con un segmento exterior y otro interior, un cuerpo celular y una región sináptica a través de la cual el bastón pasa una señal química a una célula nerviosa retiniana, la cual transfiere la señal a lo largo del proceso visual (Figura 15-39). El aparato fototransductor se halla en el segmento exterior, que contiene *discos* apilados, cada uno de los cuales está formado por una especie de saco de membrana en la que se hallan embebidas las moléculas fotosensibles de **rodopsina**. La membrana plasmática que rodea el segmento exterior contiene canales de Na^+ regulados por GMP cíclico. Estos canales de Na^+ se mantienen abiertos en la oscuridad mediante moléculas de GMP cíclico unidas al canal. Paradójicamente, la luz no causa una despolarización de la membrana plasmática (que podría estimular la señalización sináptica) sino una hiperpolarización de la membrana plasmática (que inhibe la señal sináptica), porque la activación de las moléculas de rodopsina por la luz en la membrana de los discos conduce a que los canales de Na^+ de la membrana circundante se *cierren* (Figura 15-40).

Como hemos indicado anteriormente, la rodopsina es una molécula transmembrana que atraviesa la membrana siete veces, homóloga de otros miembros de la familia de receptores asociados a proteínas G y, como sus primas, actúa a través de una proteína G trimérica. Sin embargo, la señal activadora extracelular no es una molécula sino un fotón de luz. Cada molécula de rodopsina contiene el cromóforo, 11-*cis* retinal, unido covalentemente, el cual se isomeriza casi instantáneamente a todo-*trans* retinal cuando absorbe un solo fotón. La isomerización altera la conformación del retinal, induciendo un cambio de conformación más lento en la proteína (opsina). Entonces, la proteína activada se une a la proteína G trimérica *transducina* (G_t) haciendo que la subunidad α (α_t) se disocie y active una **fosfodiesterasa de GMP cíclico**, la cual hidroliza el GMP cíclico, de forma que los niveles de GMP cíclico del citosol disminuyen. Como consecuencia de ello, el GMP cíclico se disocia de los canales de Na^+ de la membrana plasmática, permitiendo que se cierren. De esta forma la señal pasa de la membrana de los discos a la membrana plasmática, y la señal luminosa se transforma en una señal eléctrica.

Los canales de Na^+ también son permeables al Ca^{2+} , de forma que cuando se cierran el influjo normal de calcio se inhibe, haciendo que la concentración de Ca^{2+} en el citosol disminuya; esta disminución estimula a la guanilato ciclasa, la cual sintetiza GMP cíclico recuperando los niveles y haciendo que la célula rápidamente recobre el estado en el que estaba antes de que la luz la activara. La activación de la guanilato ciclasa por la disminución de los niveles de Ca^{2+} está mediada por una proteína sensible al Ca^{2+} denominada *recoverina* la cual, contrariamente a la calmodulina, es inactiva cuando se halla unida a Ca^{2+} y activa cuando está libre de Ca^{2+} ; estimula la ciclasa cuando los niveles de Ca^{2+} son bajos tras la respuesta a la luz. Este mecanismo dependiente de Ca^{2+} es de importancia crucial, en dos aspectos. En primer lugar, permite al fotorreceptor revertir rápidamente hasta su estado de reposo, típico de la oscuridad, tras un flash de luz, haciendo posible que el fotorreceptor pueda ser sensible a la corta duración del flash. En segundo lugar, contribuye a permitir que el fotorreceptor se *adapte*, disminuyendo la intensidad de la respuesta cuando se expone a la luz continuamente. Como explicaremos más adelante, la adaptación significa que la célula receptora puede actuar como un detector sensible a *cambios* de la

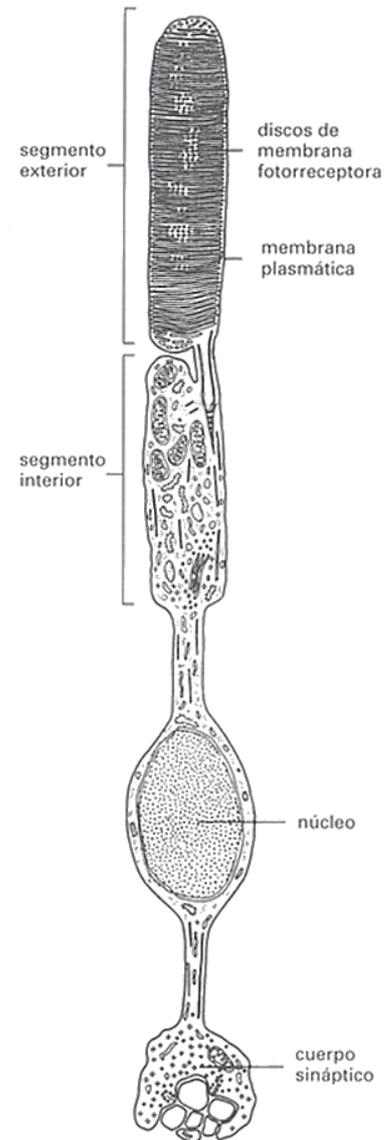


Figura 15-39 Dibujo de una célula fotorreceptora en bastón. En el segmento exterior existen unos 1000 discos; las membranas de cada disco no se hallan conectadas a la membrana plasmática.

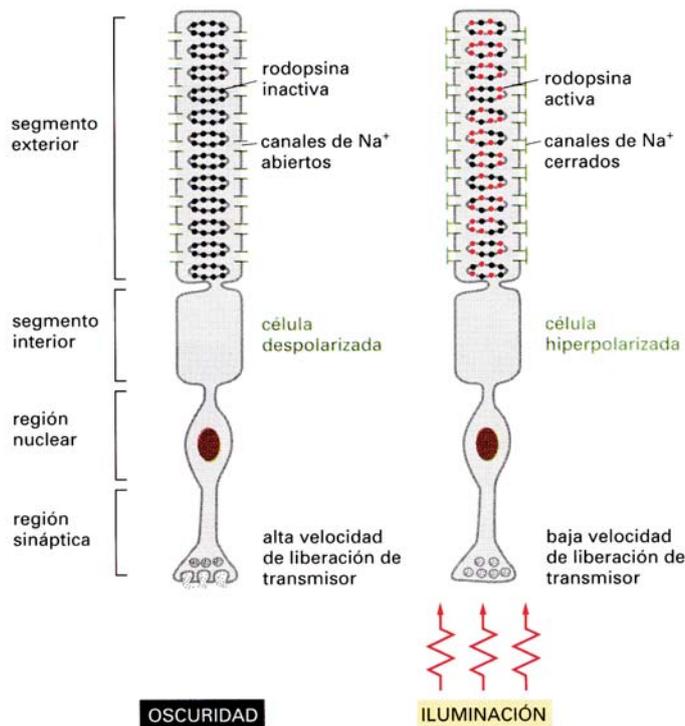


Figura 15-40 La respuesta a la luz de una célula fotorreceptora en bastón. Los fotones son absorbidos por las moléculas de rodopsina situadas en los discos del segmento exterior. Ello determina que los canales de Na⁺ de la membrana plasmática se cierran, lo cual hiperpolariza la membrana y reduce la velocidad de liberación del neurotransmisor desde la región sináptica. Debido a que el neurotransmisor actúa inhibiendo muchas de las neuronas retinianas postsinápticas, la iluminación frena la inhibición y, de esta forma, de hecho, las activa.

intensidad del estímulo en un enormemente amplio abanico de niveles basales de estimulación.

En la Tabla 15-3 se recogen datos de las principales proteínas G tratadas en este capítulo.

Las señales extracelulares son notablemente amplificadas mediante la utilización de mensajeros intracelulares y de cascadas enzimáticas²⁹

A pesar de diferencias en detalles moleculares, todos los sistemas señalizadores iniciados por receptores dependientes de proteínas G comparten ciertas características y están gobernados por principios generales similares. Todos ellos, por ejemplo, dependen de complejas cascadas o inician cadenas de mensajeros intracelulares. A diferencia de lo que ocurre con sistemas de señalización más directos utilizados por los receptores intracelulares discutidos antes y por receptores relacionados con canales iónicos, tratados en el Capítulo 11, las cascadas catalíticas de mediadores intracelulares proporcionan numerosas oportunidades de amplificar y de regular las respuestas a señales extracelulares. En la cascada de la transducción visual que acabamos de describir, por ejemplo, una sola molécula de rodopsina activada cataliza la activación de cientos de moléculas de transducina a una velocidad de unas 1000 moléculas de transducina por segundo. Cada molécula de transducina activada activa una molécula de fosfodiesterasa de GMP cíclico, cada una de las cuales hidroliza unas 4000 moléculas de GMP cíclico por segundo. Esta cascada catalítica se mantiene durante aproximadamente un segundo, produciendo la hidrólisis de más de 10⁵ moléculas de GMP cíclico por cada cuanto de luz absorbida, que cierra transitoriamente centenares de canales de Na⁺ de la membrana plasmática (Figura 15-41).

De forma similar, cuando una molécula señal extracelular se une a un receptor que indirectamente activa la adenil ciclasa vía proteína G_s, cada proteína receptora puede activar muchas moléculas de proteína G_s, cada una de las cuales puede activar a una molécula de adenil ciclasa. Como cada molécula de G_s permanece activa durante algunos segundos antes de hidrolizar su GTP unido,

Tabla 15-3 Las principales familias de proteínas G triméricas*

Familia	Algunos miembros de la familia	Subunidades α	Funciones	Modificado por toxina bacteriana
I	G_s	α_s	activa adenil ciclasa; activa canales de Ca^{2+}	colérica activa
	G_{olf}	α_{olf}	activa adenil ciclasa en neuronas sensoriales al olfato	colérica activa
II	G_i	α_i	inhibe adenil ciclasa; activa canales de K^+	pertúsica inhibe
	G_o	α_o	activa canales de K^+ ; inactiva canales de Ca^{2+} ; activa fosfolipasa C- β	pertúsica inhibe
	G_t (transducina)	α_t	activa fosfodiesterasa de GMP cíclico en fotorreceptores en bastón de vertebrado	colérica activa y pertúsica inhibe
III	G_q	α_q	activa fosfolipasa C- β	no tiene efecto

* Las familias se determinan por la relación entre las secuencias de aminoácidos de las subunidades α . Únicamente se presentan ejemplos seleccionados. En mamíferos se han descrito unas 20 subunidades α y al menos 4 subunidades β y 7 subunidades γ .

puede mantener activa a la ciclasa a la que se halla unida durante algunos segundos, de forma que la ciclasa puede catalizar la conversión de un gran número de moléculas de ATP a AMP cíclico (Figura 15-42). Un tipo de amplificación como éste se presenta en la ruta de los fosfolípidos de inositol. Como resultado de ella, una señal extracelular a concentración nanomolar (10^{-9} M) induce a menudo concentraciones micromolares (10^{-6} M) de un segundo mensajero intracelular como el AMP cíclico o el Ca^{2+} . Estas moléculas actúan como efectores alostéricos activando enzimas determinadas, por lo que una única molécula señal extracelular puede provocar la alteración de varios miles de moléculas en la célula diana. Además, cada una de las proteínas reguladoras de la cadena de procesos que se han activado puede ser una diana independiente de la regulación, tal como ocurre por ejemplo en la cascada metabólica que produce la degradación del glucógeno en las fibras del músculo esquelético.

Estas cascadas metabólicas explosivas han de estar reguladas por mecanismos muy eficientes y sensibles. Por consiguiente, no resulta sorprendente que las células presenten mecanismos eficaces para la degradación rápida del AMP cíclico y para el amortiguamiento y secuestro del Ca^{2+} , así como para la inactivación de las enzimas que responden y para las proteínas transportadoras, una vez se han activado. Todo esto es claramente esencial para parar la respuesta y para definir el estado estacionario a partir del cual la célula ha de responder. Como hemos visto antes (véase pág. 777), en general la respuesta a la estimulación puede ser frenada rápidamente únicamente si los mecanismos también son rápidos.

Las células pueden responder de forma súbita a incrementos graduales de la concentración de una señal extracelular³⁰

Algunas respuestas celulares a ligandos de señalización aumentan gradualmente de forma proporcional a la concentración del ligando. La respuesta primaria a las hormonas esteroideas (véase Figura 15-13) sigue a menudo este patrón, posiblemente porque cada receptor hormonal une una sola molécula de hormona, y cada secuencia de DNA de reconocimiento específico de un gen que responde a las hormonas esteroideas actúa de forma independiente. A medida

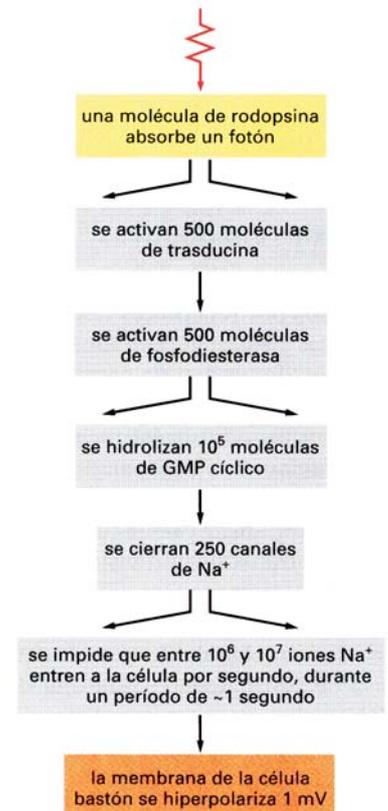


Figura 15-41 Amplificación de la cascada catalítica inducida por la luz, en bastones de vertebrados. Las flechas divergentes indican las etapas en las que se produce amplificación.

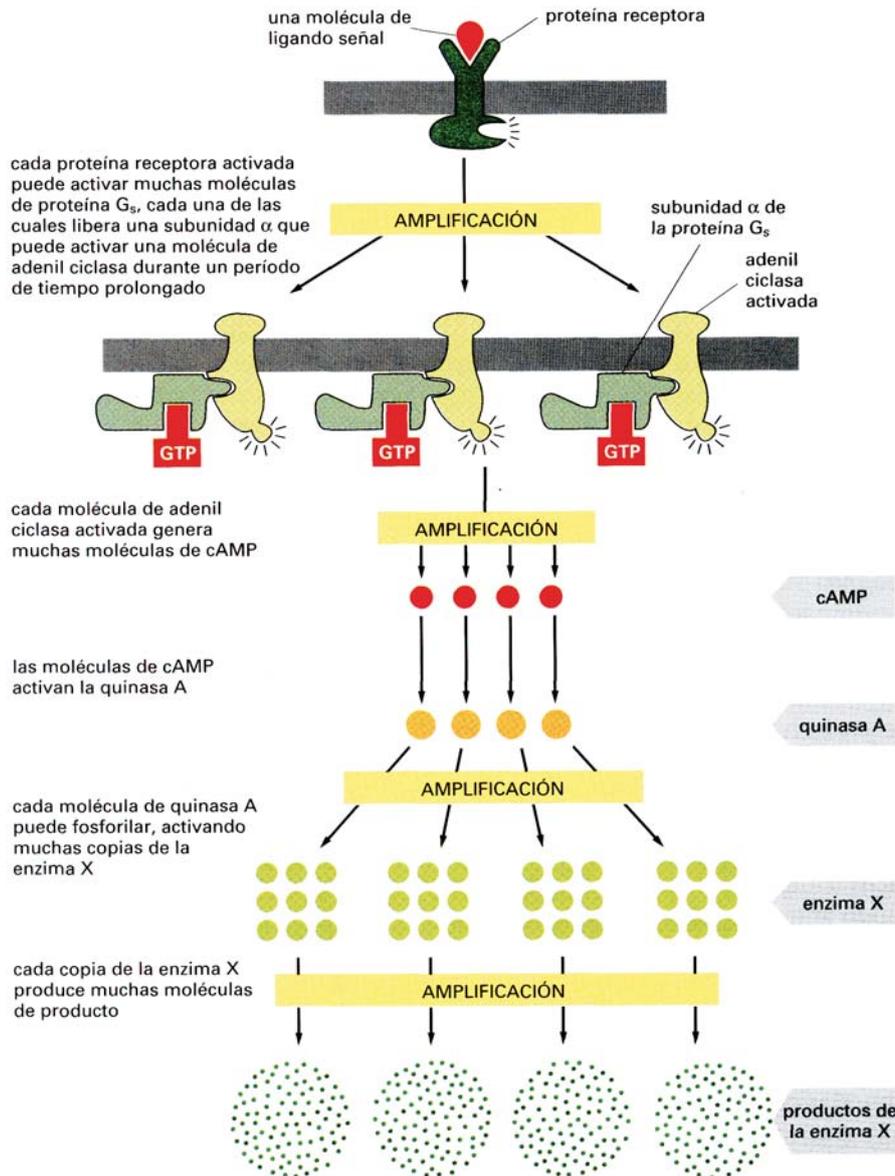


Figura 15-42 Amplificación en una cascada catalítica inducida por un ligando. La primera etapa de amplificación requiere que el ligando se mantenga unido al receptor el tiempo necesario para que el receptor active varias moléculas G_s ; en muchos casos el ligando se disociará muy lentamente para que se produzca esta amplificación.

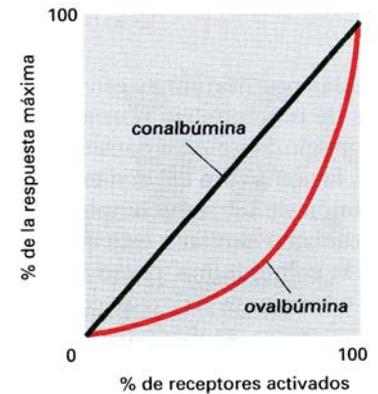


Figura 15-43 Respuesta que presentan las células del oviducto de gallina ante la estimulación por la hormona esteroidea estradiol. Una vez activados, los receptores de estradiol activan la transcripción de varios genes diferentes. La gráfica muestra las curvas dosis-respuesta para dos de estos genes, que codifican las proteínas del huevo *conalbúmina* y *ovalbúmina* el otro. La cinética lineal de respuesta para la *conalbúmina* indica que cada molécula de receptor activado que se une al gen de la *conalbúmina* incrementa la actividad del gen en la misma cantidad. Por el contrario, el retraso seguido del abrupto incremento en la cinética de respuesta para la *ovalbúmina* sugiere que para iniciar la transcripción de este gen se le han de unir simultáneamente más de un receptor activado (en este caso son 2 receptores). (Adaptado de E.R. Mulvihill y R.D. Palmiter, *J. Biol. Chem.* 252:2060-2068, 1977.)

que aumenta la concentración de la hormona, la concentración de los complejos hormona-receptor aumenta de forma proporcional, y también aumenta proporcionalmente el número de complejos unidos a secuencias específicas de reconocimiento de los genes que responden; así pues, la célula responde de una manera lineal.

Sin embargo, otras respuestas a ligandos de señalización empiezan de manera más súbita cuando aumenta la concentración del ligando. Algunas de ellas pueden ocurrir incluso de una forma que casi es del "todo o nada", siendo indetectable por debajo de una concentración umbral de ligando y aumentando hasta un máximo en cuanto esta concentración umbral se sobrepasa. Algunos factores de crecimiento, por ejemplo, actúan como señales de todo o nada indicando a las células que deben empezar a replicar su DNA como prelude de una división celular. ¿Cuál puede ser la base molecular de una respuesta abrupta como ésta, casi a modo de interruptor, ante una señal gradual?

Un posible mecanismo para escalonar la respuesta consiste en que para que se produzca la respuesta haga falta que a una macromolécula diana se le una una molécula o un complejo intracelular. Por ejemplo, en algunas respuestas in-

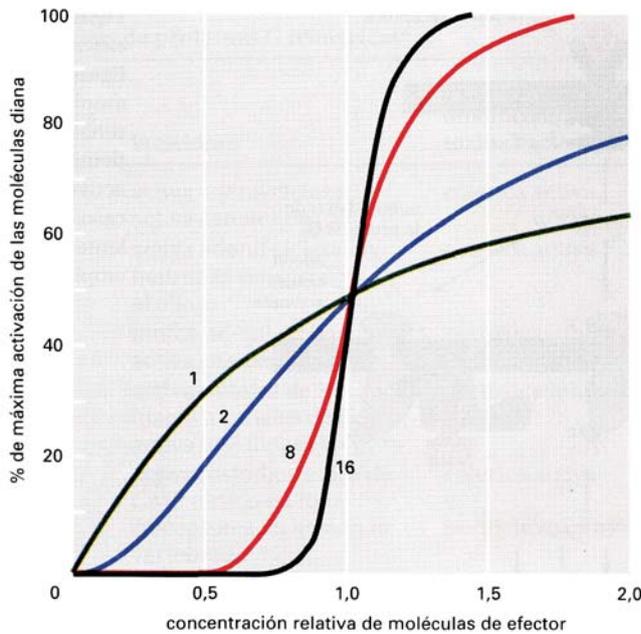


Figura 15-44 Cinéticas de activación en función de la concentración de la molécula señal. Las curvas muestran cómo se incrementa la pendiente de la respuesta a medida que se incrementa el número de moléculas de efector que se han de unir simultáneamente para activar una macromolécula diana. Las curvas de la gráfica son las que cabe esperar si la activación necesitara la unión simultánea de 1, 2, 8 o 16 moléculas de efector, respectivamente.

ducidas por hormonas esteroideas parece que han de unirse simultáneamente más de un complejo hormona-receptor a una secuencia de DNA específica de reconocimiento para conseguir activar un gen determinado. Como resultado de ello, la activación del gen empieza de forma más abrupta que si fuera suficiente la unión de un solo complejo para producir esta activación (Figura 15-43). Un mecanismo similar a éste actúa en las activaciones mediadas por la quinasa A y por la calmodulina, como hemos discutido antes. Por ejemplo, se han de unir dos o más iones Ca^{2+} para conseguir que la calmodulina adopte su conformación activa; como resultado de ello, se produce un incremento de cincuenta veces en la activación del proceso cuando la concentración de Ca^{2+} tan sólo se incrementa diez veces. Este tipo de respuestas son tanto más abruptas cuanto mayor sea el número de moléculas que cooperan, de forma que si el número es suficientemente elevado se pueden conseguir respuestas cercanas al “todo o nada” (Figuras 15-44 y 15-45).

También se consiguen respuestas súbitas cuando un ligando activa a una enzima y al mismo tiempo inhibe otra enzima que cataliza la reacción opuesta a la de la primera enzima. Ya hemos hablado de un ejemplo de este habitual sistema de regulación en la estimulación de la degradación del glucógeno en las células del músculo esquelético, en las cuales un incremento en la concentración intracelular de AMP cíclico activa la fosforilasa quinasa e inhibe la acción opuesta de la fosfoproteína fosfatasa.

Este mecanismo puede producir respuestas muy abruptas, pero en todo caso ligeramente graduales de acuerdo con la variación de la concentración del ligando señal. Sin embargo, existe otro mecanismo por el cual una célula puede responder de forma “todo o nada” de modo que en cuanto la señal sobrepasa un valor umbral se produce una respuesta rápida y máxima. Todas las respuestas “todo o nada” de este tipo dependen generalmente de la *retroalimentación positiva*. Por este mecanismo, las células nerviosas y musculares generan *potenciales de acción* siguiendo la ley del “todo o nada”, en respuesta a neurotransmisores (se discute en el Capítulo 11). La activación de los receptores de acetilcolina en una unión neuromuscular, por ejemplo, abre los canales catiónicos de la membrana plasmática de la célula muscular. El resultado de ello es un influjo neto de Na^+ que despolariza localmente la membrana plasmática. Esto hace que los canales de Na^+ controlados por voltaje situados en esta región de la membrana se abran, produciendo un nuevo influjo de Na^+ , el cual despolariza aún más la

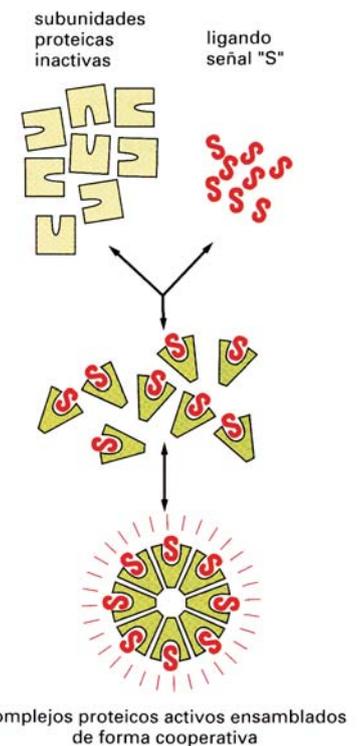


Figura 15-45 Un tipo de mecanismo de señalización del que cabe esperar que presente una respuesta súbita. Aquí se requiere la unión de ocho moléculas de un ligando señal sobre un complejo proteico para activarlo: la capacidad de las subunidades para ensamblarse formando el complejo activo depende del cambio alostérico de conformación que sufre cada subunidad cuando se une a su ligando.

La unión de un ligando formando un complejo de este tipo es generalmente un proceso cooperativo, que genera una respuesta escalonada cuando cambia la concentración del ligando, como se explica en el Capítulo 5. A bajas concentraciones del ligando, el número de complejos activos se incrementará súbitamente en proporción a la octava potencia de la concentración del ligando.

membrana por lo que los canales de Na^+ todavía se abren más, etc. Si la despolarización inicial excede un cierto umbral, esta retroalimentación positiva tiene un efecto “explosivo”, produciendo un potencial de acción que se propaga por toda la membrana del músculo. Como hemos discutido antes, tiene lugar un mecanismo de retroalimentación positiva como éste cuando el Ca^{2+} es liberado del ER o del retículo sarcoplasmático a través de canales de Ca^{2+} : el Ca^{2+} liberado puede unirse a los canales de Ca^{2+} incrementando más la liberación de Ca^{2+} , produciendo así una espiga de Ca^{2+} tipo “todo o nada”.

El efecto de algunas señales puede ser recordado por la célula³¹

Un mecanismo de aceleración por retroalimentación positiva puede establecerse entre proteínas señal que en lugar de ser canales iónicos presenten actividad enzimática. Supongamos por ejemplo que un ligando señal determinado activa una enzima localizada a mitad de la cadena de acontecimientos que transmiten la señal, y que dos o más moléculas del producto de esta reacción enzimática se unen a la enzima activándola aún más (Figura 15-46). La consecuencia será que en ausencia del ligando se producirá una velocidad muy pequeña de síntesis del producto enzimático, y que esta velocidad aumentará muy lentamente cuando aumente la concentración del ligando hasta que, a un determinado valor umbral de concentración del ligando, se formará suficiente cantidad de producto para activar la enzima, estableciéndose entonces un sistema de autoaceleración. Entonces, la concentración del producto enzimático aumentará súbitamente hasta el nivel más alto posible. De esta forma, la célula puede traducir una variación gradual de la concentración de un ligando señal en un cambio de tipo “interruptor” de los niveles de un producto enzimático determinado, generando una respuesta de tipo “todo o nada” en la célula.

Este tipo de mecanismo tiene una importante propiedad que lo hace inutilizable para determinados propósitos y únicamente útil para otros. Si un sistema como éste ha sido activado aumentando la concentración del ligando señal por encima del umbral, generalmente permanecerá activo cuando la señal vuelva a descender por debajo del valor umbral: en lugar de reflejar fielmente los niveles reales de señal en cada momento, este sistema de respuesta tiene memoria. Ya hemos discutido el ejemplo de la CaM quinasa II, la cual es activada por Ca^{2+} -calmodulina a autofosforilarse y a fosforilar otras proteínas. La autofosforilación mantiene activa la quinasa cuando los niveles de Ca^{2+} ya han vuelto a la normalidad y el complejo Ca^{2+} -calmodulina se ha disociado de la enzima (véase Figura 15-35). También puede actuar un mecanismo de autoactivación de memoria más abajo en un proceso de señalización, a nivel de la transcripción génica. Por ejemplo, la señal que desencadena la determinación de la fibra muscular activa una serie de proteínas reguladoras de genes específicos de célula muscular que estimulan tanto la transcripción de estos mismos genes como de otros genes que producen muchas otras proteínas de célula muscular (véase pág. 475).

Resumen

Los receptores asociados con proteínas G activan o inactivan indirectamente enzimas unidas a la membrana plasmática o canales iónicos, a través de proteínas reguladoras G triméricas (proteínas G), que se inactivan a sí mismas mediante la hidrólisis del GTP que llevan unido. Algunos receptores asociados a proteínas G activan o inactivan la adenil ciclasa, alterando así la concentración intracelular del mediador intracelular AMP cíclico. Otros activan una fosfolipasa C específica de fosfolípidos de inositol (la fosfolipasa C-β), la cual hidroliza el fosfatidilinositol bisfosfato (PIP_2) generando dos mediadores intracelulares –el inositol trisfosfato (IP_3), que libera Ca^{2+} desde el ER incrementando así la concentración de Ca^{2+} en el citosol, y el diacilglicerol, que permanece en la membrana plasmática y activa la quinasa C. Un incremento de los niveles de AMP cíclico o de Ca^{2+} afecta la célula es-

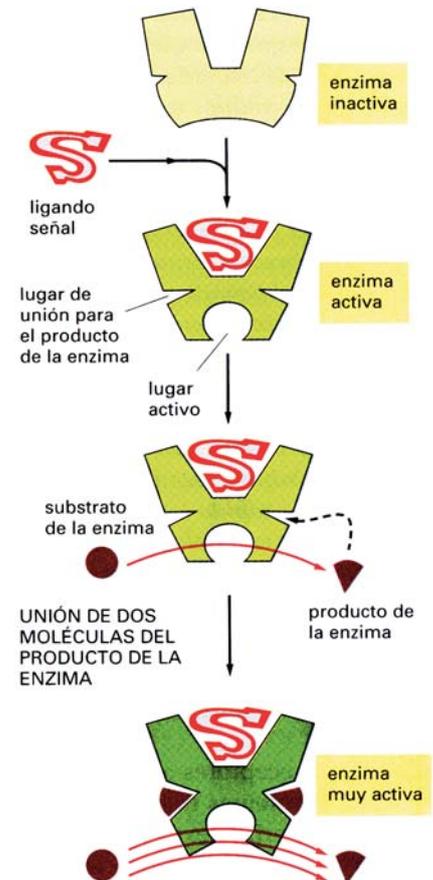


Figura 15-46 Un mecanismo de “retroalimentación positiva acelerante”. La unión inicial del ligando señal activa la enzima para generar un producto, el cual se une a la propia enzima, incrementado aún más su actividad enzimática.

estimulando la quinasa A y la quinasa CaM, respectivamente. La quinasa C, la quinasa A y la quinasa CaM fosforilan proteínas diana determinadas sobre residuos de serina y de treonina, alterando la actividad de estas proteínas. Cada tipo de célula tiene conjuntos característicos de proteínas diana que son reguladas de esta forma, lo cual permite a la célula presentar su respuesta propia y característica a cambios de los niveles intracelulares de AMP cíclico o de Ca^{2+} libre. A través de las cascadas mediadas por el AMP cíclico o por el Ca^{2+} , las respuestas a las señales extracelulares pueden ser enormemente amplificadas.

Las diferentes respuestas mediadas por estos receptores son rápidamente frenadas cuando el ligando señal extracelular es eliminado. Ello es debido a que las proteínas G se autoinactivan hidrolizando el GTP que llevan unido, el IP_3 es rápidamente desfosforilado mediante una fosfatasa (o fosforilado por una quinasa), el diacilglicerol es rápidamente degradado, los nucleótidos cíclicos son rápidamente hidrolizados por una fosfodiesterasa, el Ca^{2+} es rápidamente bombeado hacia fuera del citosol y las proteínas son rápidamente desfosforiladas por proteína fosfatasas. El continuo y rápido recambio de estos mediadores intracelulares hace posible que se produzca un rápido incremento de sus concentraciones cuando las células responden a señales extracelulares. Además, las células pueden utilizar la cooperatividad y la retroalimentación positiva para hacer que sus respuestas sean más súbitas.

Señalización vía receptores de superficie celular asociados a enzimas

Como los receptores asociados a proteínas G, los receptores asociados a enzimas son proteínas transmembrana cuyo dominio de unión al ligando se halla sobre la superficie exterior de la membrana plasmática. En lugar de tener un dominio citosólico que se asocia a una proteína G trimérica, sus dominios citosólicos tienen una actividad enzimática asociada o están asociados directamente a una enzima. Mientras que los receptores asociados a proteínas G atraviesan siete veces la membrana, habitualmente cada subunidad de los receptores catalíticos la atraviesan una sola vez.

Existen cinco clases conocidas de receptores asociados a enzimas: (1) el receptor guanilato ciclasa, que catalizan la producción de GMP cíclico en el citosol; (2) los receptores tirosina quinasa, que fosforilan determinados residuos de tirosina de un pequeño grupo de proteínas señal intracelulares; (3) los receptores asociados a tirosina quinasa, que están asociados a proteínas que tienen actividad tirosina quinasa; (4) los receptores tirosina fosfatasa, que eliminan grupos fosfato de residuos de tirosina de determinadas proteínas señal intracelulares, y (5) los receptores serinaltreonina quinasa, que fosforilan determinados residuos serina o treonina de algunas proteínas intracelulares.

Empezaremos nuestra discusión con el receptor guanilato ciclasa.

Los receptores guanilato ciclasa generan GMP cíclico directamente³¹

Los péptidos natriuréticos atriales (ANP, de Atrial Natriuretic Peptides) constituyen una familia de hormonas peptídicas, muy relacionadas entre sí, que son segregadas por células musculares del atrium del corazón cuando se incrementa la presión de la sangre. Los ANP estimulan el riñón para que segregue Na^+ y agua e inducen a las células musculares lisas de las paredes de los vasos sanguíneos a que se relajen. Ambos efectos tienden a disminuir la presión sanguínea. El receptor de ANP que media estas respuestas se halla presente en las células del riñón y en las células de la musculatura lisa de los vasos sanguíneos; se trata de una proteína que atraviesa una sola vez la membrana plasmática, que tiene un lugar extracelular de unión a ANP y un dominio intracelular con actividad guanilato ciclasa. La unión de ANP activa la ciclasa para producir GMP cíclico, el cual, a su vez, se une y activa una proteína quinasa dependiente de GMP cíclico (quinasa G), la cual fosforila determinadas proteínas sobre residuos de serina o treonina.

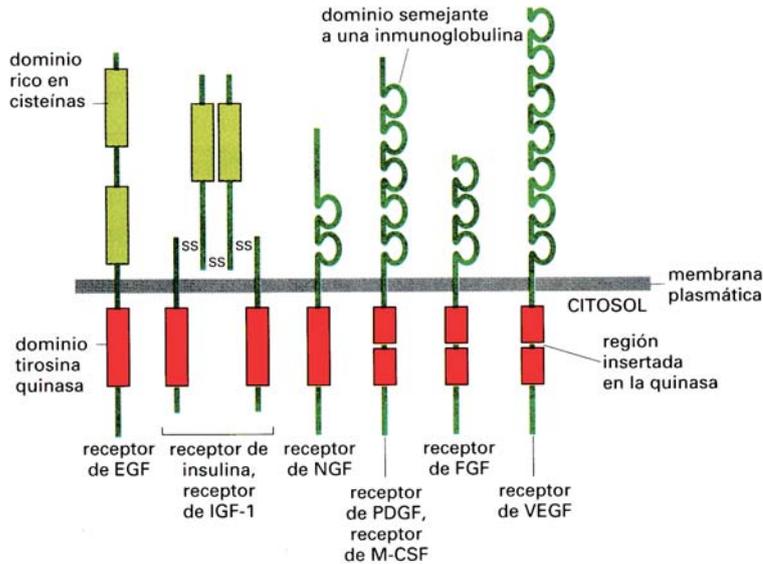


Figura 15-47 Seis subfamilias de receptores tirosina quinasa. Solamente se indican uno o dos miembros de cada subfamilia. Nótese que en algunas subfamilias el dominio tirosina quinasa se halla interrumpido por una “región insertada en la quinasa”. No se conoce el significado funcional de los dominios ricos en cisteína y de los dominios semejantes a una inmunoglobulina.

nina. Así, los **receptores guanilato ciclasa** utilizan el GMP cíclico como mediador intracelular de la misma forma que algunos receptores asociados con proteínas G utilizan el AMP cíclico, con la diferencia de que la unión entre el ligando y la actividad ciclasa se produce directamente en lugar de suceder vía una proteína G trimérica.

A pesar de que conocemos relativamente pocos receptores que pertenezcan a la familia guanilato ciclasa, muchos receptores conocidos pertenecen a la familia *tirosina quinasa*, de la que trataremos a continuación.

Los receptores para la mayoría de los factores de crecimiento son proteínas transmembrana que presentan actividad proteínica tirosina quinasa específica³²

La primera proteína receptora que se reconoció que presentaba **actividad proteínica tirosina quinasa específica** (en 1982) fue el receptor para el *factor de crecimiento epidérmico* (EGF, de Epidermal Growth Factor). El EGF es una pequeña proteína (53 residuos de aminoácido) que estimula la proliferación de las células epidérmicas y de una gran variedad de otros tipos celulares. Su receptor es una proteína transmembrana, que atraviesa la membrana una sola vez, de unos 1200 residuos de aminoácido y que presenta una larga zona extracelular glucosilada que se une a EGF. Cuando el EGF se une a esta porción, se activa un dominio intracelular con actividad tirosina quinasa. Una vez activado, el receptor transfiere un grupo fosfato del ATP a determinadas cadenas laterales de tirosina, tanto de la propia proteína receptora como de otras proteínas celulares determinadas. Muchos otros receptores para factores de crecimiento y diferenciación también son **receptores tirosina quinasa**. Entre ellos, cabe destacar los receptores para el *factor de crecimiento derivado de las plaquetas* (PDGF, de Platelet-Derived Growth Factor), para los *factores de crecimiento de los fibroblastos* (FGF, de Fibroblast Growth Factors), para el *factor de crecimiento de los hepatocitos* (HGF, de Hepatocyte Growth Factor), para el *factor de crecimiento-1 para insulina y compuestos análogos* (IGF-1, de Insulin, insulinlike Growth Factor-1), para el *factor de crecimiento neuronal* (NGF, de Nerve Growth Factor), para el *factor de crecimiento vascular endotelial* (VEGF, de Vascular Endothelial Growth Factor), y para el *factor estimulador de la formación de colonias de macrófagos* (M-CSF, de Macrophage Colony Stimulating Factor), todos los cuales son proteínas. Como se muestra en la Figura 15-47, la familia de receptores con actividad tirosina quinasa puede subdividirse en un determinado número de subfamilias estructurales; en cada

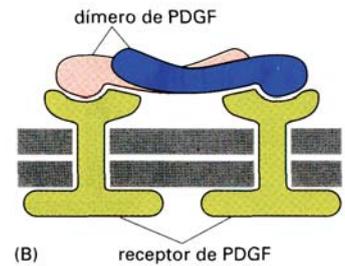
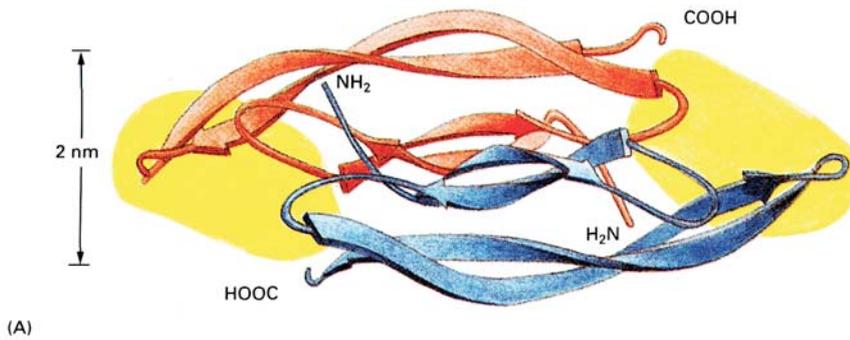


Figura 15-48 Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF).

(A) Estructura dimérica de la proteína, con las regiones de unión al receptor sombreadas en amarillo. El dímero se mantiene por tres enlaces disulfuro (no se muestran). (B) Debido a que PDGF es un dímero con dos lugares de unión, puede unirse a dos receptores adyacentes, iniciando así el proceso de señalización intracelular. El factor de crecimiento neuronal (NGF), como las demás proteínas de la familia de las *neurotrofinas* (discutida en el Capítulo 21), también actúa como dímeros que entrecruzan sus tirosina quinasa.

caso los receptores se fosforilan a sí mismos para iniciar la cascada de señalización intracelular.

¿De qué forma la unión de una proteína específica del dominio extracelular de un receptor tirosina quinasa activa el dominio catalítico que se halla situado al otro lado de la membrana plasmática? Resulta difícil de imaginar que un cambio de conformación pueda propagarse a través de la bicapa lipídica a través de una hélice α sencilla que atraviesa la membrana. El problema quedó resuelto cuando se demostró que la unión de un ligando hace que el receptor de EGF forme dímeros, lo cual permite a los dos dominios citoplasmáticos fosforilarse uno al otro sobre varios residuos tirosina. Esta fosforilación cruzada se denomina *autofosforilación* porque se produce dentro del receptor dimérico. En el caso de los receptores de PDGF el ligando es un dímero que reacciona con dos receptores a la vez (Figura 15-48). El EGF, por el contrario, es un monómero que al parecer induce un cambio de conformación en el dominio extracelular de su receptor, lo cual induce la dimerización del receptor. Se cree que la dimerización del receptor es un mecanismo general de la activación de los receptores asociados a enzima que tienen un único dominio transmembrana.

La dimerización del receptor puede utilizarse experimentalmente para inactivar específicamente determinados receptores, en un intento de determinar su importancia en una respuesta celular particular. La estrategia supone la transfección de células con un DNA que codifica una forma mutante de un receptor tirosina quinasa que dimeriza normalmente pero que tiene un dominio quinasa inactivo. Cuando se coexpresan a elevado nivel con receptores normales, los receptores mutantes actúan de una manera *dominante negativa* (véase Figura 7-44), inhabilitando los receptores normales al formar dímeros inactivos con ellos.

Los procesos de señalización desencadenados por los receptores de EGF, PDGF y de FGF se han analizado con gran detalle. En cada caso las tirosinas de autofosforilación se utilizan como lugares de unión, de alta afinidad, para proteínas señal intracelulares de la célula diana. Cada una de estas proteínas se une a diferentes lugares fosforilados del receptor activado, reconociendo además de la fosfotirosina, determinadas características del entorno de la cadena polipeptídica. Una vez se han unido al receptor, muchas de estas proteínas resultan fosforiladas sobre tirosinas, y así son activadas. De esta forma se cree que la autofosforilación en tirosinas actúa como una especie de interruptor que desencadena el ensamblaje transitorio de un complejo señal intracelular, el cual libera la señal al interior de la célula.

Los receptores de insulina y de IGF-1 actúan de una forma ligeramente diferente. En primer lugar, dado que los receptores son tetrámeros (véase Figura 15-47), se cree que la unión del ligando no induce una dimerización sino una interacción alostérica entre las dos mitades del receptor. En segundo lugar, la unión de insulina hace que el receptor fosforile su dominio catalítico, el cual activa la capacidad de fosforilar otra proteína (denominada *substrato-1 del receptor de insulina* o IRS-1, de *Insulin Receptor Substrate-1*) sobre múltiples tirosinas. Las fosfotirosinas de IRS-1 actúan como lugares de unión de alta afinidad para el acoplamiento y activación de proteínas señal intracelulares, muchas de las cuales también se unen directamente a otros receptores tirosina quinasa activados.

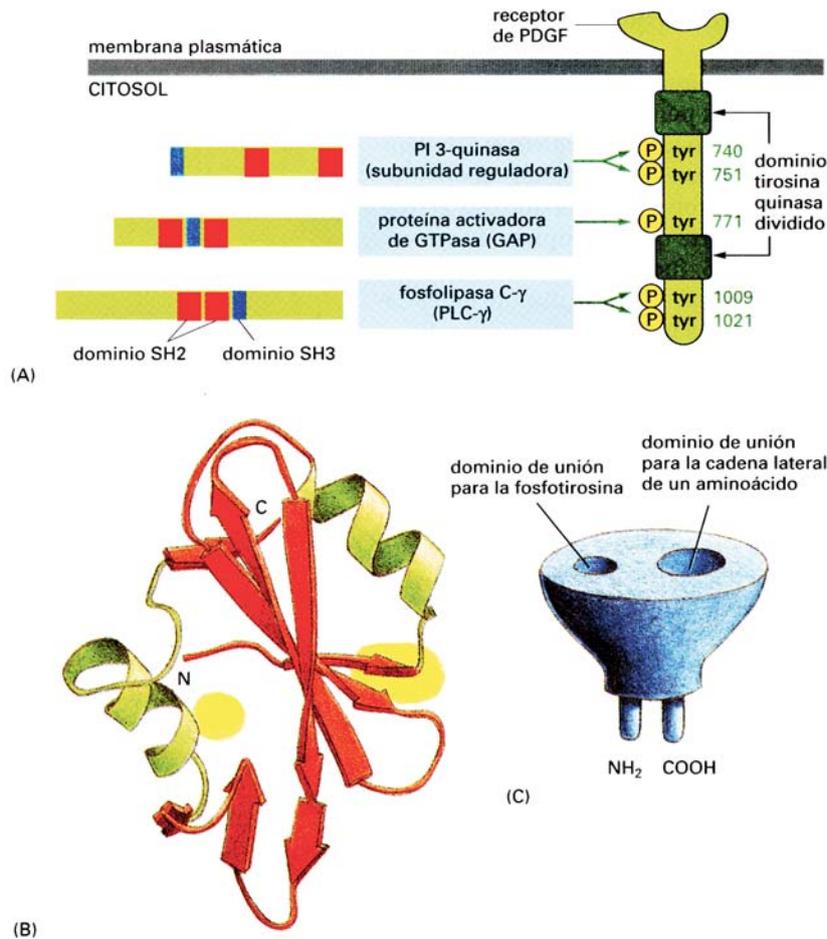


Figura 15-49 Unión de proteínas señal intracelulares que contienen SH2, a un receptor activado de PDGF.

(a) Dibujo esquemático de un receptor de PDGF mostrando cinco lugares de autofosforilación en tirosinas, tres en la región insertada en la quinasa y cinco en la cola carboxilo terminal; a estos lugares se unen las tres proteínas señal que se indican a su izquierda. (Existen otros dos lugares de autofosforilación en tirosinas del receptor, que no se indican en el dibujo, localizados entre el dominio que atraviesa la membrana y el principio del dominio quinasa, que actúan como lugares de unión para tirosina quinasa no receptoras semejantes a Src.) Los números de la derecha indican las posiciones de las tirosinas en la cadena polipeptídica. Estos lugares de unión han sido identificados utilizando la tecnología del DNA recombinante para mutar determinadas proteínas del receptor: la mutación de las tirosinas 1009 y 1021, por ejemplo, impide la unión y la activación de PLC- γ , de forma que la activación del receptor no estimula el proceso de señalización de fosfolípidos de inositol. Se indica la localización de los dominios SH2 (en rojo) y SH3 (en azul) en las tres proteínas señal. (B) Estructura tridimensional de un dominio SH2, determinada por cristalografía de rayos X. En amarillo a la derecha, se muestra el bolsillo para la fosfotirosina y en amarillo a la izquierda se muestra un bolsillo de unión específica a una cadena lateral de un aminoácido. (C) El dominio SH2 es un módulo compacto que puede ser insertado en casi cualquier sitio de una proteína sin alterar ni el plegamiento ni la función de dicha proteína. Debido a que cada dominio tiene diferentes lugares de unión que reconocen fosfotirosinas y determinadas cadenas laterales de aminoácidos, los diferentes dominios SH2 reconocen fosfotirosinas en el contexto de diferentes secuencias de aminoácidos flanqueantes. (B, basado en datos de G. Waksman et al., *Cell* 72:1-20, 1993. © Cell Press.)

Los residuos tirosina fosforilados son reconocidos por proteínas con dominios SH2³³

Se ha encontrado una colección completa de proteínas señal intracelulares que se unen a las fosfotirosinas de receptores tirosina quinasa activados. Algunas de estas proteínas –una *proteína activadora de una GTPasa* (GAP, de GTPase-Activating Protein”), la *fosfolipasa C- γ* (PLC- γ , de phospholipase C- γ) y las *proteína tirosina quinasa no receptoras, semejantes a Src*– tienen funciones más o menos conocidas, como veremos en las próximas páginas. La fosfolipasa C- γ , por ejemplo, actúa de la misma forma que la fosfolipasa C- β , activando el proceso de señalización de los fosfolípidos de inositol, del que hemos tratado anteriormente en conexión con la señalización vía proteínas G. Otras proteínas que se unen a receptores tirosina quinasa activados constituyen un misterio. La enzima *fosfatidilinositol 3'-quinasa* (PI3-quinasa), por ejemplo, parece ser importante en la regulación de la proliferación celular; su acción inmediata es fosforilar el anillo de inositol del fosfatidilinositol en la posición 3 (véase Figura 15-29), pero las funciones de los fosfoinosítidos especiales generados de esta forma son desconocidas.

A pesar de que las proteínas señal intracelulares que se unen a residuos de fosfotirosina de receptores activados tirosina quinasa (y a IRS-1) tienen estructuras y funciones muy variadas, habitualmente comparten dos dominios no catalíticamente conservados, denominados SH2 y SH3 por *regiones homólogas Src 2 y 3*, ya que encontraron por primera vez en la proteína Src (famosa por su papel en el estudio de cáncer, como se discute en el Capítulo 24). Los **dominios SH2** reconocen tirosinas fosforiladas y permiten a las proteínas que los presentan unirse a los receptores tirosina quinasa activados así como a otras proteínas señal intracelulares que hayan sido fosforiladas transitoriamente sobre tirosinas (Figura 15-49). La

función del dominio SH3 es menos clara, pero parece ser que se une a otras proteínas celulares.

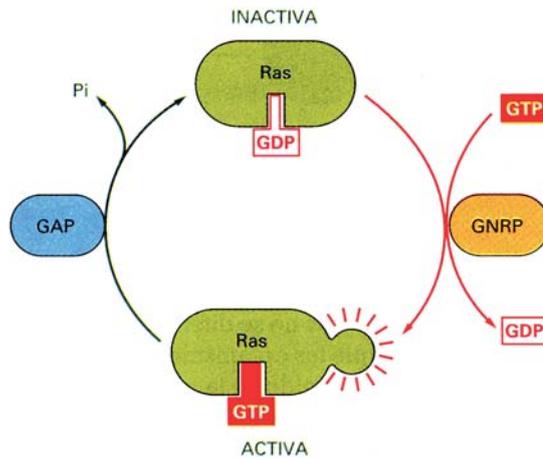
Los estudios sobre una clase de pequeñas proteínas “adaptadoras” que solamente constan de un dominio SH2 y otro SH3 han permitido sugerir que el dominio SH3 debe tener una función de unión. Estas *pequeñas proteínas SH adaptadoras* no presentan actividad catalítica intrínseca y actúan acoplando proteínas fosforiladas en tirosinas, como los receptores tirosina quinasa activados, con otras proteínas que no tienen dominios SH2 o SH3 propios. Una de estas proteínas SH adaptadoras, denominada *Sem-5*, fue descubierta a través de estudios genéticos en el gusano nemátodo *C. elegans*, como se discute en el Capítulo 21. Determinadas mutaciones en el gen *sem-5* bloquean el proceso de señalización que parte desde varios receptores tirosina quinasa y tiene profundos efectos sobre el desarrollo del gusano. Los procesos de señalización son bloqueados con la misma efectividad por mutaciones que afectan al dominio SH2 o a cualquiera de los dos dominios SH3 de la molécula, lo cual sugiere que ambos dominios SH3 son necesarios para unir un componente señal del proceso (véase Figura 15-53). De hecho, parece que en la mayoría de las células animales se hallan presentes proteínas homólogas a *Sem-5*, y existen evidencias tanto genéticas como bioquímicas de que estas proteínas acoplan los receptores proteína quinasa activados con Ras, la importante proteína del proceso de señalización, sobre la que volveremos enseguida.

Las proteínas Ras constituyen un eslabón crucial en la cascada intracelular de señalización activada por receptores proteína quinasa³⁴

Las *proteínas Ras* pertenecen a la gran **superfamilia Ras de GTPasas monoméricas**, que también contiene otras dos superfamilias: (1) las proteínas *Rho* y *Rac*, implicadas en la transmisión de señales desde receptores de la superficie celular hasta el citoesqueleto de actina (discutidas en el Capítulo 16), y (2) la *familia Rab*, implicada en la regulación del tráfico del transporte intracelular de vesículas (discutidas en el Capítulo 13). Como casi todas estas proteínas GTPasa monoméricas, las proteínas Ras contienen un grupo fenil, unido covalentemente, que participa en el anclaje de la proteína a la membrana, en este caso a la cara citoplasmática de la membrana plasmática donde actúa esta proteína.

Las **proteínas Ras** participan en la transmisión de señales desde receptores tirosina quinasa hasta el núcleo, estimulando la proliferación o la diferenciación celular. Si se inhibe la función de Ras mediante la microinyección de anticuerpos anti-Ras o mediante formas mutantes dominantes negativas de Ras, deja de producirse la respuesta de proliferación o de diferenciación normalmente inducida por receptores proteína quinasa activados; contrariamente, si un mutante hiperactivo de proteína Ras es introducido en una célula, el efecto sobre la proliferación o la diferenciación es habitualmente el mismo que el inducido por la unión de un ligando a los receptores de la superficie celular. De hecho, las proteínas Ras fueron descubiertas como los productos hiperactivos de genes *ras* mutantes, que producen cáncer al romper los controles normales sobre la proliferación y la diferenciación; alrededor del 30% de los cánceres humanos presentan estas mutaciones en un gen *ras*.

Como otras GTPasas monoméricas y las proteínas G triméricas, las proteínas Ras actúan como interruptores, alternando entre dos estados conformacionales diferentes –activo cuando unen GTP (véase Figura 15-18) e inactivo cuando unen GDP. Ras hidroliza GTP al menos 100 veces más lentamente que la subunidad α de la proteína G trimérica estimuladora G_s de la que hemos tratado anteriormente, y debido a que en el citosol las concentraciones de GTP son unas 10 veces más altas que las de GDP, en ausencia de otros estímulos, mientras el GTP se halla unido a ella Ras permanece constantemente activa. Sin embargo, en la célula existen dos clases de proteínas señal que regulan la actividad de Ras influyendo en la transición entre el estado activo y el inactivo. Las **proteínas ac-**



Activadoras de GTPasa (GAP, de GTPase-Activating Proteins) incrementan la velocidad de hidrólisis del GTP unido a Ras, de forma que la inactivan. Estos reguladores negativos están compensados por las **proteínas liberadoras de nucleótidos de guanina (GNRP, de Guanine Nucleotide Releasing Proteins)**, las cuales estimulan el intercambio de los nucleótidos unidos estimulando la pérdida de GDP y la posterior captación de GTP del citosol; así, tienden a activar Ras (Figura 15-50). En principio, pues, los receptores tirosina quinasa pueden activar Ras activando una GNRP o inhibiendo una GAP. Los receptores tirosina quinasa activados se unen a GAP directamente, como hemos dicho antes, y se unen a GNRP sólo indirectamente, como discutiremos después. Sin embargo, es la unión indirecta a GNRP la que habitualmente es la responsable de conducir a la proteína Ras a su estado activo, unido a GTP.

Las proteínas Ras y las proteínas que regulan la actividad de Ras han sido muy conservadas durante la evolución; análisis genéticos realizados en *Drosophila* y en *C. elegans* han proporcionado los primeros indicios sobre cómo los receptores tirosina quinasa activan Ras. Han sido particularmente informativos los estudios sobre el desarrollo de la célula fotorreceptora del ojo de *Drosophila*.

Una proteína SH adaptadora acopla los receptores tirosina quinasa con Ras: evidencias que provienen del desarrollo del ojo de *Drosophila*³⁵

El ojo compuesto de *Drosophila* está formado por unas 800 unidades idénticas denominadas *ommatidios*, cada una de las cuales está formada por 8 células fotorreceptoras (R1-R8) y 12 células accesorias (Figura 15-51). El ojo se desarrolla a partir de una lámina epitelial simple, y las células que forman cada ommatidio son reclutadas desde toda la lámina a través de una secuencia fija mediante una serie de interacciones célula-célula. Empezando con el desarrollo de R8, cada célula diferenciada induce a su célula vecina inmediata, hasta este momento no comprometida, a adoptar un destino y a ensamblarse de una manera especial en el desarrollo del ommatidio (Figura 15-52).

El desarrollo del fotorreceptor R7, necesario para la detección de la luz ultravioleta, ha sido estudiado más intensamente, empezando en 1976 con la descripción de una mosca mutante denominada *sevenless* (*sev*, de "sin el siete") en la que el único defecto observado es que R7 no se desarrolla. Estos mutantes son fáciles de seleccionar sobre la base de su ceguera a la luz ultravioleta. El gen *sev* fue aislado y se observó que codifica un receptor tirosina quinasa que se expresa en las células precursoras de R7. Posteriores análisis genéticos de mutantes en los que se halla bloqueado el desarrollo de R7 pero en los que la proteína R7 no está afectada, llevaron a la identificación del gen *bride-of-sevenless* (*boss*, o "compañero de sevenless"), que codifica el ligando de la proteína receptora Sev.

Figura 15-50 Regulación de la actividad Ras. Las proteínas activadoras de GTPasa (GAP) inactivan Ras al estimularlas a que hidrolizen el GTP que llevan unido. Las proteínas liberadoras de nucleótidos de guanina (GNRP) activan Ras al estimularlas a que liberen el GDP que llevan unido; dado que la concentración de GTP en el citosol es 10 veces mayor que la de GDP, Ras tendrá tendencia a unir GTP cuando se haya liberado de su GDP. En células de mamífero se han identificado hasta ahora dos GAP reguladoras de Ras (*Ras GAP*) -*p120^{GAP}* y *neurofibromina* (denominada así porque está codificada por el gen que se halla mutado en la mayoría de la enfermedad humana común llamada neurofibromatosis, asociada con tumores de los nervios). A pesar de que las dos Ras GAP se expresan de forma ubicua, parece que en los diferentes tipos celulares una de las dos domina al mantener la mayoría de las proteínas Ras (~95%) en su estado inactivo, unido a GDP.

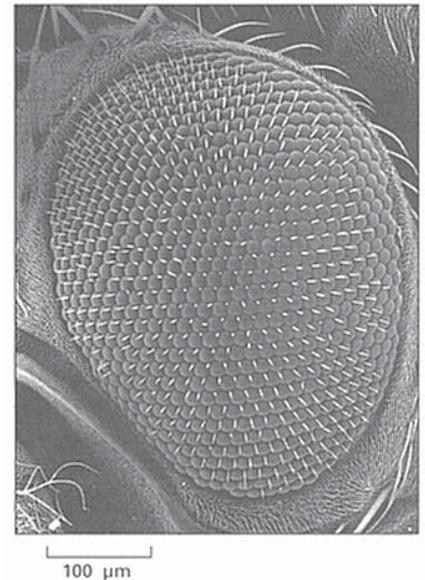


Figura 15-51 Electronmicrografía de barrido de un ojo compuesto de *Drosophila*. El ojo está compuesto de unas 800 unidades idénticas (*ommatidios*), cada una de las cuales tiene una lente independiente que enfoca la luz sobre las ocho células fotorreceptoras de su base. (Por cortesía de Ernst Hafen.)

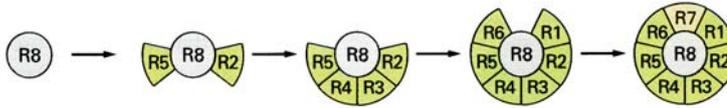


Figura 15-52 Ensamblaje de las células de un fotorreceptor en un ommatidio en desarrollo de *Drosophila*. Dibujo esquemático del reclutamiento secuencial de fotorreceptores, empezando con R8 y acabando con R7, que es la última célula fotorreceptora que se desarrolla.

Boss es una proteína que atraviesa 7 veces la membrana, que exclusivamente se expresa en la superficie de la célula adyacente R8, y que cuando se une a una Sev la activa induciendo a la célula precursora de R7 a diferenciarse en un fotorreceptor R7. La proteína Sev también se expresa en algunas otras células precursoras del ommatidio en desarrollo, pero ninguna de estas células entran en contacto con R8, por lo que la proteína Sev no es activada y las células no se diferencian a fotorreceptores R7. A pesar de que puede sospecharse que los organismos pluricelulares hacen un uso muy extendido de ligandos señal unidos a la superficie celular como Boss, tales moléculas han sido muy difíciles de identificar y caracterizar mediante técnicas bioquímicas típicas. La identificación de Boss ilustra el poder de las aproximaciones genéticas.

Ha resultado más difícil identificar los componentes del proceso intracelular de señalización activado por Sev en la célula precursora de R7 que el receptor o su ligando, debido a que estos componentes son utilizados por células de una gran cantidad de órganos en desarrollo además del ojo, y las mutaciones que inactivan el proceso son letales. Sin embargo, algunas de estas mutaciones son letales únicamente cuando están afectadas ambas copias del gen, por lo que pueden mantenerse en animales heterocigotos que presentan una copia del gen mutante y la otra normal. Aislando estos mutantes así como utilizando otras estrategias genéticas, se han podido identificar algunos genes que codifican proteínas de señalización intracelular. Uno de ellos codifica la proteína Ras. Mientras que las moscas en las que ambas copias del gen *ras* están inactivadas por mutación mueren, las que presentan únicamente una copia inactivada sobreviven aunque carecen de R7. Contrariamente, si uno de los genes *ras* se hace hiperactivo mediante mutación, R7 se desarrolla incluso en mutantes en los que tanto *sev* como *boss* son inactivos. Así pues, la activación de Ras parece ser necesaria y suficiente para inducir la diferenciación de R7. Un segundo gen, el llamado *hijo-de-sevenless* (*sos*, de "son-of-sevenless") codifica una proteína liberadora de nucleótidos de guanina (GNRP), que es necesaria para que el receptor tirosina quinasa Sev active a Ras. Un tercer gen codifica una proteína semejante a Sem-5 denominada *Drk* (de *downstream of receptor kinases*, "más adelante de los receptores quinasa") que acopla el receptor Sev a la proteína Sos; el dominio SH2 de Drk se une a Sev, activándola, mientras que parece que los dos dominios SH3 se unen a Sos. Un cuarto gen codifica una proteína activadora de GTPasa (GAP). Si este gen es inactivado, R7 se desarrolla incluso aunque *sev* haya sido inactivado, probablemente porque Ras es hiperactivo cuando GAP no lo inhibe (Figura 15-53). En este sistema de señalización, sin embargo, y en muchos otros sistemas estudiados, la activación de Ras por receptores tirosina quinasa depende de la activación de GNRP más que de la inactivación de GAP.

Una vez activada, Ras transmite la señal activando una cascada de fosforilación serina/treonina, que está altamente conservada en las células eucariotas, desde las levaduras hasta los humanos. Un componente crucial en esta cascada es un nuevo tipo de proteína quinasa denominado *MAP-quinasa*, que consideraremos a continuación.

Ras activa una cascada de fosforilaciones serina/treonina que activa la MAP-quinasa³⁶

Las fosforilaciones en tirosina y la activación de Ras, estimuladas por receptores quinasa de la superficie citoplasmática de la membrana plasmática, tienen una vida muy corta: las fosforilaciones son revertidas rápidamente por proteína tirosina fosfatasas específicas (discutidas más adelante), y Ras cuando está activa se inactiva a sí misma hidrolizando el GTP que tiene unido, a GDP. Para poder esti-

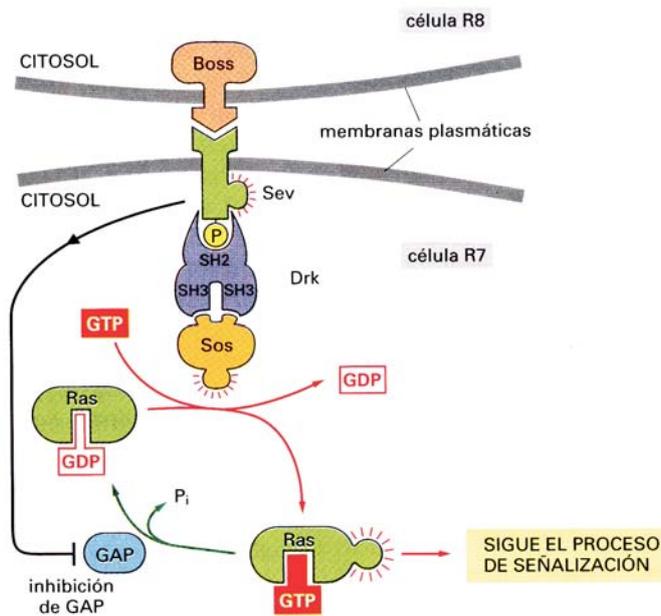


Figura 15-53 Procesos de señalización celular tempranos en el desarrollo de R7. La activación del receptor tirosina quinasa Sev de la superficie de la célula precursora de R7 por la proteína Boss de la superficie de R8 está acoplada con la activación de la proteína liberadora de nucleótidos de guanina Sos, a través de la pequeña proteína adaptadora SH, Drk. Drk reconoce una determinada tirosina autofosforilada de la proteína Sev mediante un dominio SH2 e interactúa con Sos mediante dos dominios SH3. Sos estimula la proteína inactiva Ras para eliminar el GDP que tiene unido y así a captar GTP, lo cual activa a Ras para transmitir la señal siguiendo el curso del proceso de señalización. (A pesar de que no se muestra aquí, Ras se halla unida a la cara citosólica de la membrana plasmática.) Se cree que Sev activa también inhibe GAP, la cual podría, caso de estar activa, contrarrestar la función de Sos estimulando a Ras para hidrolizar el GTP que llevara unido, inactivándose. Parece que el acoplamiento del receptor tirosina quinasa con Ras ocurre a través del mismo mecanismo que en las células de mamífero.

mular las células para proliferar o para diferenciarse, estos cortos eventos señal han de convertirse en eventos más duraderos que puedan mantener la señal y transmitirla hacia el núcleo. El sistema de transmisión está formado por múltiples cascadas de fosforilación en serinas/treoninas, que interactúan entre sí, las cuales son procesos más duraderos que las fosforilaciones en tirosinas. En estas cascadas participan muchas serina/treonina quinasas, pero una familia que contiene al menos cinco miembros parece desempeñar un papel especialmente importante –las **proteína quinasas activadas por mitógenos (MAP, de Mitogen Activated Proteins)** (también denominadas *quinasas reguladas por señales extracelulares*, [ERK, de Extracellular Signal Regulated Kinases]). Estas quinasas son activadas por una gran variedad de señales inductoras de proliferación y diferenciación celular, algunas de las cuales activan receptores tirosina quinasa mientras que otras activan receptores asociados con proteínas G.

Una característica extraordinaria de las MAP-quinasa es que para que se produzca su activación completa hace falta que se fosforilen sobre una treonina y sobre una tirosina que en la proteína se hallan separadas por un solo aminoácido. La proteína quinasa que cataliza ambas fosforilaciones se denomina *MAP-quinasa-quinasa*. Los requerimientos de fosforilación sobre tirosina y treonina aseguran que MAP-quinasa se mantenga inactiva mientras no se active específicamente la MAP-quinasa-quinasa, cuyos únicos substratos conocidos son las MAP-quinasa. A su vez, la MAP-quinasa-quinasa se activa por fosforilación en serinas/treoninas catalizada por una MAP-quinasa-quinasa-quinasa, que al parecer se activa por unión a Ras activa (Figura 15-54).

Cuando MAP-quinasa se halla activada, transmite señales fosforilando varias proteínas celulares, incluyendo otras proteína quinasas y proteínas reguladoras de genes. A menudo, en cuestión de minutos después de que la célula haya sido estimulada por un factor de crecimiento, se activa la transcripción de un conjunto de *genes tempranos inmediatos*. Un complejo proteico que desempeña un importante papel en esta activación de la transcripción es el complejo discutido anteriormente formado por el factor de respuesta sérica (SRF, de Serum Response Factor) y Elk-1. El complejo se halla unido constitutivamente a una secuencia determinada de DNA (el elemento de respuesta sérica) que se halla en la región reguladora de un gen denominado *fos* y de otros genes (véase Figura 15-32). Además, las MAP-quinasa pueden fosforilar la proteína Jun, que se combina con la proteína recién formada Fos formando una proteína activa reguladora de genes denominada AP-1. Entonces, esta proteína AP-1 activa otros ge-

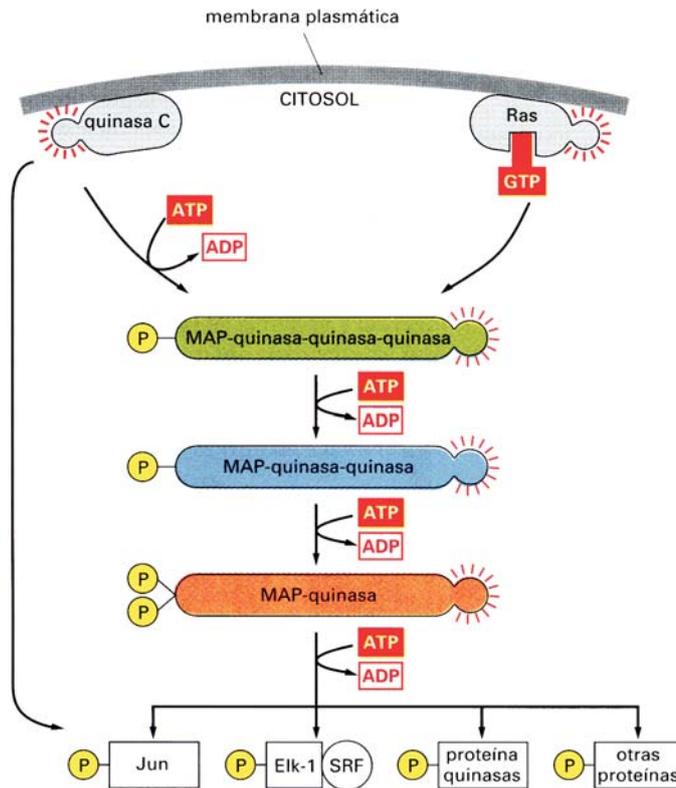


Figura 15-54 Cascada de fosforilaciones serina/treonina activada por Ras y quinasa C. En el proceso activado por receptores tirosina quinasa a través de Ras, a menudo MAP-quinasa-quinasa-quinasa es una serina treonina quinasa denominada *Raf*, que al parecer se activa por la unión de una Ras activada. En el proceso activado por receptores asociados a proteínas G a través de quinasa C, MAP-quinasa-quinasa-quinasa puede ser tanto *Raf* como otra proteína serina/treonina quinasa. En levaduras y en todos los animales en que se ha estudiado, se ha encontrado una cascada de fosforilaciones serina/treonina semejante a ésta, en la que participan proteínas relacionadas estructural y funcionalmente con éstas. Estas cascadas de fosforilación integran y amplifican señales que provienen de diferentes estímulos extracelulares. Los receptores tirosina quinasa también pueden activar un proceso de señalización más directo hacia el núcleo mediante la fosforilación directa de proteínas reguladoras de genes, que así se activan, que contienen dominios SH2.

nes, aunque no se conoce con total exactitud cuál es el papel que desempeña en la proliferación celular.

La quinasa C también puede fosforilar Jun y, como se ilustra en la Figura 15-54, puede activar la MAP-quinasa-quinasa-quinasa, de forma que tanto Jun como MAP-quinasa-quinasa-quinasa constituyen ejemplos de puntos de integración donde convergen varios procesos de señalización.

La actividad de los receptores asociados a tirosina quinasa depende de tirosina quinasas que no son receptores³⁷

Muchas de las proteínas receptoras de la superficie celular que han sido aisladas y caracterizadas no encajan en ninguna de las familias principales de receptores que hemos descrito hasta aquí: no están asociadas a canales iónicos ni a proteínas G, y carecen de dominio catalítico evidente. Este gran y heterogéneo surtido de receptores incluye receptores para la mayoría de los mediadores locales (denominados *citoquinas*) que regulan la proliferación y diferenciación en el sistema hematopoyético, así como receptores para algunas hormonas (por ejemplo, hormona de crecimiento y prolactina) y los receptores específicos de antígenos de los linfocitos T y B. Muchos de los receptores de esta categoría trabajan a través de tirosina quinasas asociadas que fosforilan varias proteínas diana cuando el receptor se une a su ligando. La mayoría de las quinasas asociadas con estos **receptores asociados a tirosina quinasa** son miembros de la bien caracterizada *familia Src* de proteína tirosina quinasas no receptoras mencionadas anteriormente, o de la recientemente descrita *familia Janus* también de proteína tirosina quinasas no receptoras. Se cree que estos receptores actúan casi de la misma forma que los receptores tirosina quinasa, excepto en que su dominio quinasa está codificado por otro gen y se halla asociado no covalentemente con la cadena polipeptídica del receptor. Como los receptores tirosina quinasa, parece que a menudo en su activación participa una dimerización del receptor inducida por el ligando (Figura 15-55).

En mamíferos existen al menos ocho miembros de la **familia Src** de proteína tirosina quinasa no receptoras: *Src*, *Yes*, *Fgr*, *Fyn*, *Lck*, *Lyn*, *Hck* y *Blk*. Contienen dominios SH2 y SH3 y todos ellos se hallan localizados en la cara citoplasmática de la membrana plasmática, unidos a ella en parte a través de su interacción con proteínas receptoras transmembrana y en parte por su unión covalente a cadenas lipídicas. Varios miembros de la familia se hallan asociados con diferentes receptores y fosforilan de forma solapada distintos juegos de proteínas diana. Por ejemplo, *Lyn*, *Fyn* y *Lck* se hallan asociadas a diferentes juegos de receptores en los linfocitos. Todos los miembros de la familia Src tirosina quinasa se activan cuando un ligando extracelular se une a una proteína receptora adecuada.

Los miembros de esta familia Src quinasa pueden asociarse tanto a receptores que no tienen actividad tirosina quinasa intrínseca como a receptores que sí la tienen. En varias células no-linfocíticas, por ejemplo, *Fyn* se une vía su dominio SH2 a receptores PDGF activados, los cuales fosforilan a *Fyn* en residuos tirosina, activando así su actividad quinasa. Por ello no resulta sorprendente que los receptores tirosina quinasa y los receptores de la familia Src de receptores asociados a actividad tirosina quinasa, en algunos casos activen los mismos procesos de señalización.

De mucha menos información disponemos sobre la **familia Janus** de proteína tirosina quinasa no receptoras, que incluye JAK1, JAK2 y Tyk2. Participan en la señalización a partir de varios receptores asociados a tirosina quinasa, incluyendo los de hormona de crecimiento, prolactina y varias citoquinas que actúan sobre células hematopoyéticas (se discuten en el Capítulo 22).

En muchos receptores asociados a tirosina quinasa, la unión del ligando genera el ensamblaje de dos o más subunidades receptoras transmembrana diferentes. Un ejemplo de ello, bien estudiado, es el receptor para *interleucina-2* (*IL-2*), un mediador local segregado por los linfocitos T que estimula la proliferación de los linfocitos (se discute en el Capítulo 23). El **receptor IL-2** está compuesto de tres cadenas polipeptídicas (α , β y γ), que al parecer se ensamblan después de que el ligando se una a un complejo receptor funcional, como se ilustra en la Figura 15-56.

Algunos receptores son proteína tirosina fosfatasa³⁸

Como hemos mencionado previamente, los residuos de tirosina que son fosforilados por proteína tirosina quinasa son rápidamente desfosforilados por **proteína tirosina fosfatasa**. Desde el punto de vista estructural, estas enzimas no están relacionadas con las proteína serina/treonina fosfatasa de las que hemos tratado antes, y únicamente eliminan un grupo fosfato de determinados grupos fosfotirosina de determinados tipos de proteínas. Estas fosfatasa se encuentran tanto en formas solubles como unidas a membrana, y de ellas existen muchas más variedades que de serina/treonina fosfatasa. Su elevada especificidad asegura que las fosforilaciones en tirosina tengan una vida media muy corta y que el nivel de fosforilación en tirosinas que presentan las células en reposo sea muy

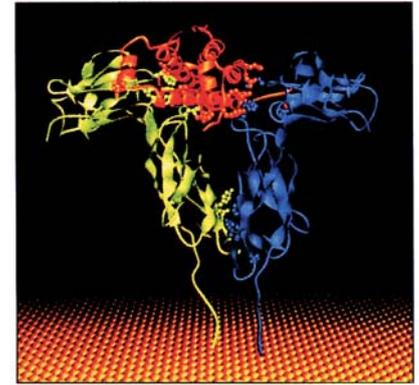


Figura 15-55 Estructura tridimensional de la hormona de crecimiento humana unida a su receptor. La hormona (en rojo) se ha unido, entrecruzándolos, a dos receptores idénticos (uno se muestra en verde y el otro en azul), formando un receptor homodímero. (No podía preverse en absoluto que un ligando monomérico como la hormona de crecimiento pudiera unirse, entrecruzándolos, a dos receptores, ya que ello supone que los dos receptores idénticos han de reconocer zonas diferentes de la hormona.) Se cree que la dimerización inducida por la unión de un ligando une los dominios citoplasmáticos de las dos proteínas receptoras transmembrana de un solo paso. Ello, a su vez, activa una tirosina quinasa no receptora (no se muestra). Las estructuras mostradas aquí han sido determinadas por estudios de cristalografía de rayos X de complejos formados entre la hormona y los dominios extracelulares del receptor producidos por la tecnología del DNA recombinante. (De A.M. deVos, M. Ultrecht y A.A. Kossiakoff, *Science* 255:306-312, 1992. © the AAAS.)

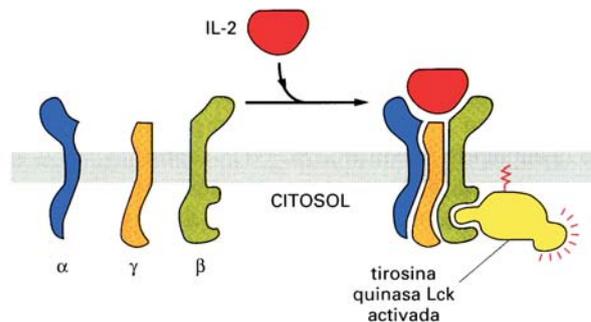


Figura 15-56 Ensamblaje inducido por ligando en un receptor IL-2. Parece que la unión de baja afinidad de IL-2 a la cadena α desencadena el ensamblaje del receptor heterotrimérico, de alta afinidad, el cual entonces se une, activándola, a la tirosina quinasa Lck, interaccionando con ella a través de la cola citoplasmática de la subunidad β .

bajo. Las proteína tirosina fosfatasa no actúan simplemente revertiendo continuamente el efecto de las proteína tirosina quinasas, sino que pueden estar reguladas y desempeñar funciones específicas en la señalización celular, así como en el control del ciclo celular (se discute en el Capítulo 17).

Un importante ejemplo de proteína tirosina fosfatasa regulada es la *proteína CD45*, que se encuentra sobre la superficie de los linfocitos y juega un papel esencial en la activación tanto de los linfocitos B como de los linfocitos T por antígenos extraños. CD45 es una glucoproteína que atraviesa la membrana una sola vez, cuyo dominio tirosina fosfatasa se halla expuesto sobre la cara citoplasmática de la membrana plasmática. Cuando se activa por la reacción de un anticuerpo extracelular (su ligando normal no es conocido), su dominio catalítico se activa eliminando grupos fosfato de residuos de tirosina de determinadas proteínas diana de la célula. Se cree que una de estas proteínas es la tirosina quinasa Lck mencionada anteriormente. Cuando es desfosforilada por CD45, Lck se activa fosforilando otras proteínas de la célula.

La utilización de oncogenes que provocan cáncer ha permitido identificar muchos componentes del proceso de señalización de los receptores tirosina quinasa³⁹

Normalmente, las células de los animales superiores se dividen únicamente cuando son estimuladas por factores de crecimiento, producidos por otras células y que habitualmente actúan uniéndose a receptores tirosina quinasa. Las células cancerosas proliferan excesivamente principalmente porque, como resultado de mutaciones acumuladas, son capaces de dividirse sin ser estimuladas por otras células, por lo que no se hallan sujetas al control "social" normal de la proliferación celular (se discute en el Capítulo 17). No es sorprendente que muchas de estas mutaciones afecten a genes que codifican proteínas que participan en los procesos de señalización utilizados por los receptores tirosina quinasa. De hecho, muchos de los genes que codifican las proteínas señal discutidas en esta sección, incluyendo Ras, Src (y los otros miembros de la familia Src), Raf, Fos y Jun, fueron identificadas por primera vez como formas mutantes en células cancerosas o en virus tumorales productores de cáncer. Como se discute en el Capítulo 24, los genes mutantes se denominaron *oncogenes* antes de que se comprendiera su origen a partir de genes normales; por ello, a los genes normales habitualmente se les denomina *proto-oncogenes*.

En principio podría esperarse que cualquier mutación que provocara la producción de una proteína anormalmente activa de cualquier paso del proceso de señalización que va desde el factor de crecimiento hasta el núcleo pudiera producir cáncer al estimular a la célula a proliferar en ausencia de las señales extracelulares apropiadas. Las evidencias de que disponemos corroboran esta idea. El oncogén *sis*, por ejemplo, codifica una forma funcionalmente activa de PDGF que se expresa de forma inadecuada; las células que presentan el oncogén *sis* y también expresan receptores para PDGF, continuamente se autoestimulan a proliferar. El oncogén *erbB* codifica una forma truncada del receptor de EGF que tiene un dominio intracelular tirosina quinasa que se halla activo continuamente; las células que expresan este oncogén se comportan como si estuvieran estimuladas continuamente a proliferar por un factor de crecimiento. Las células se comportan de una forma similar a como lo harían si hubieran estado infectadas por un virus que transportara el oncogén *v-src*, que codifica una forma constitutivamente activa de la proteína tirosina quinasa Src, o como si expresara un oncogén *ras*, que codifica una forma anormal de una proteína Ras que no puede inactivarse a sí misma ya que ha perdido la capacidad de hidrolizar GTP. De forma similar, las células proliferan de forma anormal si expresan un oncogén que codifica una forma constitutivamente activa de una proteína reguladora de un gen activado por factores de crecimiento, como Jun o Fos. Los estudios sobre oncogenes de este tipo no sólo han iluminado los mecanismos moleculares que están en la base del cáncer, sino que también han descubierto muchas proteínas

desconocidas de los procesos de señalización activados por factores de crecimiento.

Algunas hormonas que estimulan sus células diana a proliferar se unen a receptores asociados a proteínas G en lugar de unirse a receptores tirosina quinasa. Por ejemplo, el *factor liberador de hormona de crecimiento* (GHF, de Growth Hormone Releasing Factor) estimula las células secretoras de hormona de crecimiento de la glándula hipófisis a proliferar; GHF se une a los receptores de GHF que activan la adenil ciclasa a través de una proteína G estimuladora G_s . El incremento resultante de los niveles de AMP cíclico induce a las células de la hipófisis a dividirse. Como era de esperar, las mutaciones del gen α_s que inactivan la actividad GTPasa de la subunidad α de G_s (y por lo tanto hacen que la proteína esté activa de forma constitutiva) producen un oncogén que se halla frecuentemente en los tumores humanos de hipófisis.

Las proteínas de la superfamilia TGF- β activan receptores que son proteína serina/treonina quinasas⁴⁰

Los **factores- β transformantes del crecimiento** (TGF- β , de Transforming Growth Factors- β) constituyen una familia de mediadores locales que regulan la proliferación y otras funciones de la mayoría de tipos celulares de los vertebrados. Los cinco miembros de la familia (TGF- β 1 al β 5) son proteínas de estructuras y funciones similares. Sus efectos sobre las células son variados. Dependiendo del tipo celular, pueden suprimir la proliferación, estimular la síntesis de matriz extracelular, estimular la formación del hueso y atraer células por quimiotaxis. Los TGF- β son sintetizados como largos precursores y secretados como complejos inactivos que más tarde son activados por procesamiento proteolítico.

Algunas otras proteínas señal extracelulares están estructuralmente relacionadas con los TGF- β . Entre ellas, encontramos las *activinas*, que juegan un papel importante en la inducción del mesodermo en el desarrollo de los vertebrados (se discute en el Capítulo 21), y las *proteínas de morfogénesis del hueso*, que estimulan la formación del hueso. En conjunto, estas proteínas constituyen la *superfamilia TGF- β* .

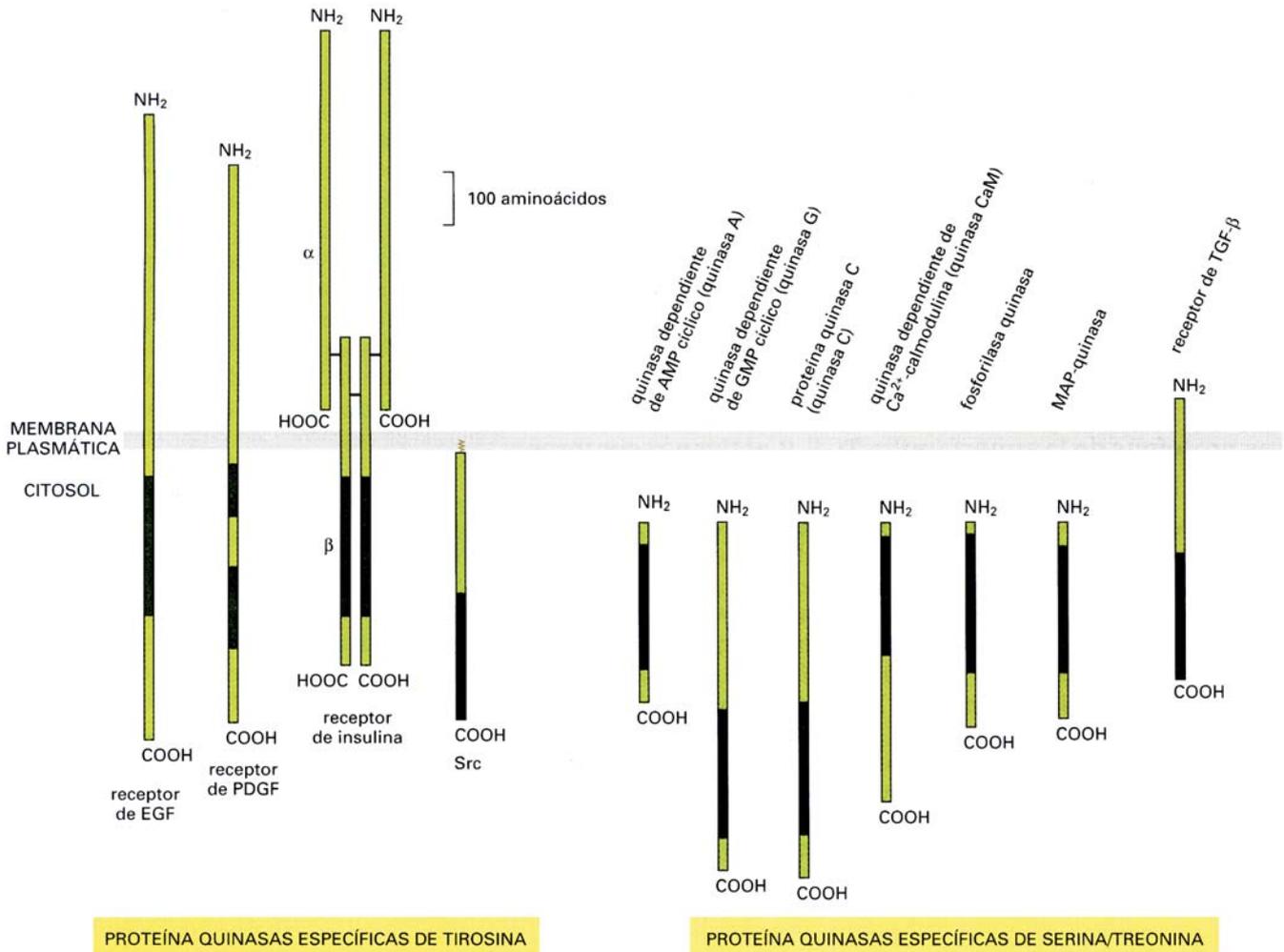
Recientemente se han clonado y secuenciado los cDNA que codifican algunos receptores de miembros de esta superfamilia. Estos receptores son proteínas que atraviesan una vez la membrana y con dominios serina/treonina quinasa sobre la cara citosólica de la membrana plasmática. Se trata de los primeros **receptores serina/treonina quinasa** que se han identificado, y todavía conocemos muy poca cosa acerca de los procesos de señalización que ellos activan.

En la Figura 15-57 se resumen algunas de las proteína quinasas específicas de tirosina o específicas de serina/treonina de que hemos tratado en este capítulo.

El receptor transmembrana Notch media la inhibición lateral mediante un mecanismo desconocido⁴¹

La clase de receptores de superficie celular asociados a enzimas es grande y variada. Incluye, además de los que ya hemos considerado, las *integrinas*, que se unen a componentes de la matriz extracelular. Como se discute en el Capítulo 19, estas proteínas transmembrana no sólo unen células a la matriz a través de contactos focales sino que también generan señales intracelulares en estos lugares de unión, probablemente desencadenando el ensamblaje de un complejo señal intracelular (véase Figura 17-42).

El mecanismo de señalización utilizado por algunas proteínas receptoras es todavía tan desconocido que resulta difícil clasificar tales receptores. Un ejemplo importante de ello lo constituye la proteína de *Drosophila Notch*. Como se explica en el Capítulo 21, esta proteína transmembrana que la atraviesa una sola vez juega un papel crucial en las interacciones célula-célula que controlan el delicado patrón de diversificación celular durante el desarrollo de la mosca. Típi-



amente, una célula que carece de Notch no responde a la *inhibición lateral* –señales inhibitorias que provienen de sus vecinas inmediatas y que normalmente harían que se diferenciara siguiendo un camino diferente a ellas. En un embrión normal de mosca, por ejemplo, un precursor de célula nerviosa inhibe a sus vecinas para impedir que también se transformen en células nerviosas, por lo que dichas células se transforman en células epiteliales; en mutantes Notch esta inhibición no se produce y todas las células se transforman en células nerviosas.

Como en el caso de la proteína Sev de la que hemos tratado anteriormente, Notch se activa al unirse no a moléculas señal solubles sino a proteínas que se presentan sobre la superficie de las células adyacentes. Aunque se conoce la secuencia de Notch y se han identificado algunas de las proteínas del proceso de señalización, mediante análisis genéticos, todavía no está claro de qué forma Notch transmite la señal al interior de la célula. Otras proteínas semejantes a Notch también desempeñan papeles importantes en el desarrollo de los vertebrados, pero en estos casos, los mecanismos que participan en los procesos de señalización también resultan un misterio.

Resumen

Se conocen cinco clases de receptores asociados a enzimas: (1) receptores guanilato ciclasa transmembrana, que generan GMP cíclico directamente; (2) receptores tirosina fosfatasa, que eliminan fosfatos de cadenas laterales de fosfotirosina de determinadas proteínas; (3) receptores serina/treonina quinasa transmembrana, que añaden un grupo fosfato a cadenas laterales de serina o de treonina de proteínas

Figura 15-57 Algunas de las proteína quinazas discutidas en este capítulo. Se muestra el tamaño y la localización de sus dominios catalíticos (en verde oscuro). En cada caso el dominio catalítico es de unos 250 residuos de aminoácidos de longitud. Todos estos dominios tienen una secuencia similar, lo cual sugiere que todos ellos han evolucionado a partir de una quinasa primordial común. Nótese que todas las tirosina quinazas mostradas se hallan unidas a la membrana plasmática, mientras que la mayoría de las serina/treonina quinazas se hallan en el citosol.

diana; (4) receptores tirosina quinasa, y (5) receptores asociados a tirosina quinasa. Los dos últimos tipos de receptores son, con diferencia, los más numerosos y al parecer actúan de una manera similar: habitualmente la unión del ligando induce la dimerización del receptor, lo cual activa la actividad tirosina quinasa del propio receptor o de la enzima tirosina quinasa asociada al receptor. Una vez activada, habitualmente la actividad tirosina quinasa se autofosforila a sí misma sobre múltiples residuos tirosina, que entonces actúan como lugares de unión para un reducido número de proteínas señal intracelulares las cuales, a través de sus dominios SH2, se unen específicamente a determinados residuos fosfotirosina. De esta forma se activa un complejo señal multiproteína, a partir del cual la señal se transmite al interior celular.

Las proteínas Ras actúan como uniones cruciales del sistema intracelular de transmisión de señales. Son GTPasas monoméricas que actúan como interruptores moleculares; son activadas por proteínas que liberan nucleótidos de guanina e inactivadas por GAP. Cuando las proteínas Ras son activadas, inician una cascada de fosforilaciones serina/treonina que convergen sobre MAP-quinasas, las cuales colaboran en la transmisión de la señal al núcleo. Muchos de los genes que codifican proteínas de las cascadas intracelulares de señalización que son activados por receptores tirosina quinasa fueron identificados como oncogenes en células cancerosas o como virus tumorales, ya que su activación inadecuada hace que la célula prolifere excesivamente.

Adaptación de las células diana

Normalmente, cuando las células y los organismos responden a algún estímulo, pueden detectar el mismo porcentaje de variación de la señal en una gama muy amplia de intensidades del estímulo. A nivel celular, esto requiere que las células diana sufran un proceso de **adaptación** o **desensibilización**, mediante el cual su respuesta va disminuyendo cuando se halla expuesta a un estímulo durante un período prolongado de tiempo. De esta forma, la célula ajusta de forma reversible su sensibilidad al nivel del estímulo. En el caso de la señalización química, la desensibilización permite a la célula responder a *cambios* de la concentración de la molécula ligando (en lugar de responder a concentraciones absolutas del ligando) en un amplio margen de concentraciones absolutas. El principio general es sencillo: la adaptación se consigue a través de una retroalimentación negativa que actúa con un cierto retraso. La retroalimentación negativa significa que una respuesta fuerte modifica la maquinaria que produce dicha respuesta, de forma que se inhibe a sí misma; pero gracias al retraso, un cambio repentino del nivel de estímulo es capaz de producir una respuesta intensa durante un período de tiempo corto, antes de que la retroalimentación negativa tenga tiempo de actuar.

La adaptación a señales químicas puede producirse de diferentes formas. En algunos casos, se produce por la disminución progresiva del número de proteínas receptoras específicas de superficie, la cual normalmente se produce en un intervalo de horas. En otros casos se produce por una rápida inactivación de estos receptores, lo cual se produce en cuestión de minutos. En otros casos es debida a cambios en las proteínas que participan en la transducción de la señal tras la activación de los receptores, los cuales se producen habitualmente a unas escalas de tiempo intermedias.

La adaptación lenta depende de la regulación por disminución del número de receptores⁴²

A menudo, después de que una hormona o un factor de crecimiento se haya unido a su receptor de la superficie de las células diana, son ingeridos por la célula por endocitosis mediada por receptor y liberados a los endosomas (se discute en el Capítulo 13). La mayoría de los receptores descargan su ligando en el ambiente ácido de los endosomas y se reciclan de nuevo hacia la membrana,

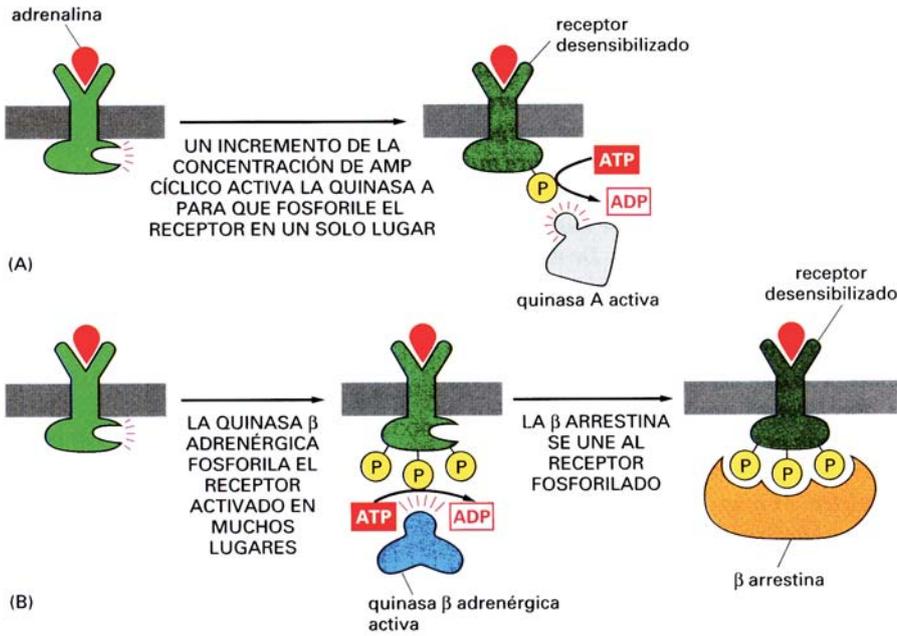


Figura 15-58 Dos mecanismos de la rápida desensibilización del receptor β_2 adrenérgico. Ambos dependen de la fosforilación del receptor. Tanto la fosforilación en (A) como la unión de arrestina en (B) inhiben la capacidad del receptor para interactuar con G_s , disminuyendo así la respuesta a la adrenalina.

mientras que el ligando es transferido a los lisosomas y es degradado. Este proceso, por lo tanto, constituye el principal mecanismo de degradación de muchas proteínas señal. A pesar de que muchas moléculas de receptor son recuperadas del endosoma y recicladas, una cierta proporción de ellas no se liberan de su ligando y acaban en los lisosomas, donde son degradadas con el ligando. Así, cuando una célula es expuesta continuamente a elevadas concentraciones de un ligando, el número de receptores de su superficie va disminuyendo progresivamente, con una disminución concomitante de la sensibilidad de la célula diana al ligando. Mediante este tipo de mecanismos, conocido como **regulación por disminución del número de receptores (receptor down-regulation)**, las células pueden, lentamente (durante horas) ajustar su sensibilidad a la concentración de un ligando estimulador.

A menudo la adaptación rápida se produce por fosforilación de los receptores⁴³

Frecuentemente en la adaptación de la célula diana participa, además de la lenta regulación por disminución del número de receptores, una rápida fosforilación del receptor inducida por el ligando. El ejemplo mejor conocido es el receptor β_2 adrenérgico, que activa la adenil ciclasa a través de la proteína G estimuladora G_s . Cuando las células son expuestas a elevadas concentraciones de adrenalina, pueden desensibilizarse en cuestión de minutos, a través de dos procesos que dependen de la fosforilación del receptor β_2 adrenérgico. En uno de ellos, el incremento de los niveles de AMP cíclico causado por la unión de la adrenalina activa la quinasa A, la cual fosforila el receptor β_2 sobre un residuo de serina, interfiriendo así con la habilidad del receptor de activar G_s . En el otro proceso, el receptor β_2 una vez activado se convierte en sustrato de otra proteína quinasa más específica (denominada *quinasa β adrenérgica*) que fosforila el extremo carboxilo de la cola citoplasmática del receptor activado, sobre múltiples residuos de serina y treonina; esta cola fosforilada se une a una proteína inhibidora denominada *β arrestina* (del inglés "arrest": parar), la cual bloquea la capacidad del receptor para activar G_s (Figura 15-58). En las células fotorreceptoras de los vertebrados, la rodopsina, que como hemos visto está estructuralmente relacionada con los receptores β adrenérgicos, se inactiva mediante un mecanismo altamente relacionado al descrito basado en la acción de la arrestina, después de haber sido activado por la acción de un fotón. Estas células tienen una capaci-

dad de adaptación excepcionalmente rápida y sofisticada, en la que participan, además del mecanismo basado en la arrestina, muchos otros; uno de ellos fue discutido anteriormente, en la página 806.

El mecanismo de desensibilización del receptor β_2 adrenérgico dependiente de la quinasa A actúa cuando los niveles de AMP cíclico aumentan en la célula. Así, la activación de cualquier tipo de receptor de la célula diana que active la adenil ciclasa puede desensibilizar el receptor β_2 –lo cual constituye un ejemplo de *desensibilización heteróloga*, mediante el cual un ligando desensibiliza la célula diana a otro ligando. El mecanismo dependiente de la β arrestina, por el contrario, únicamente actúa cuando los receptores β_2 han sido activados por la unión de un ligando –un ejemplo de *desensibilización homóloga*, mediante el cual un ligando desensibiliza la célula diana únicamente a sí mismo.

Algunas formas de adaptación son debidas a cambios en el proceso de señalización⁴⁴

A pesar de que la mayoría de los mecanismos conocidos de adaptación suponen cambios en la proteína receptora, en principio la adaptación puede producirse por modificaciones de cualquier componente del proceso de señalización. Se conocen varios casos en los que la adaptación de la célula diana se produce por modificación de una proteína G trimérica. Ello ocurre, por ejemplo, en la respuesta de las células de levadura a feromonas de apareamiento.

Las alteraciones más adelante de la proteína G en el proceso de señalización también pueden contribuir a la adaptación de las células diana, como en el caso de los fotorreceptores (véase pág. 806). En los adictos a la morfina, por ejemplo, las neuronas sensibles a los opiáceos del cerebro se desensibilizan a la morfina, de forma que los adictos necesitan dosis de morfina muy superiores a las que requieren los individuos normales para eliminar el dolor o para causar sensación de euforia (Figura 15-59). Las células adaptadas, sin embargo, tienen niveles normales de receptores de superficie celular funcionales contra la morfina (opiáceos). Los mecanismos de adaptación se han estudiado tanto en rata como en líneas celulares neurales sensibles a la morfina, mantenidas en cultivo. Los receptores a la morfina de la superficie de estas células activan la proteína G inhibidora G_i , que inhibe la adenil ciclasa, causando así una disminución de los niveles intracelulares de AMP cíclico. Ello disminuye la actividad de la quinasa A y, por lo tanto, la fosforilación de varios tipos de canales iónicos, lo cual disminuye la excitabilidad eléctrica de las neuronas. Las células cultivadas mantenidas durante mucho tiempo en presencia de elevadas concentraciones de morfina se adaptan mediante un incremento compensatorio de la expresión de los genes de quinasa A y de adenil ciclasa, lo cual hace que los niveles tanto de actividad adenil ciclasa como de AMP cíclico vuelvan a los valores normales aunque los receptores de la superficie celular estén ocupados por morfina. Sin embargo, como las células adaptadas tienen niveles incrementados de adenil ciclasa y de quinasa A, cuando se elimina la morfina se produce un marcado incremento de la actividad adenil ciclasa y de la actividad quinasa A, que provoca que los niveles de AMP cíclico aumenten hasta alcanzar valores anormalmente elevados. Ello incrementa la excitabilidad de las neuronas y conduce a los síntomas extremadamente desagradables de la privación, (ansiedad, sudoración, temblores, alucinaciones, etc.) que experimentan los adictos a la morfina cuando tienen “el mono”.

La adaptación desempeña un papel crucial en la quimiotaxis bacteriana⁴⁵

Muchos de los mecanismos que participan en la señalización química entre células en los animales pluricelulares han evolucionado a partir de mecanismos utilizados por organismos unicelulares para responder a cambios químicos de su entorno. De hecho, ambos tipos de organismos utilizan algunos mediadores intracelulares comunes. Entre las reacciones de los organismos unicelulares me-

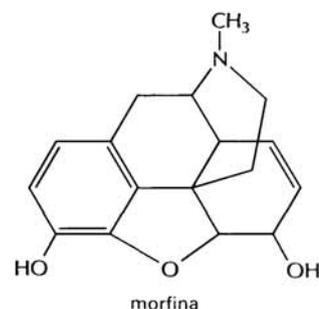


Figura 15-59 Estructura de la morfina. ¿Por qué algunas de nuestras células tienen receptores para una droga como la morfina, que proviene de las semillas de la adormidera? Durante mucho tiempo los farmacólogos han sospechado que la morfina puede mimetizar alguna molécula señal intracelular que regule el humor y la percepción del dolor. En 1975 se aislaron a partir de cerebro de cerdo dos pentapéptidos con actividad semejante a la morfina denominados **encefalinas**, y poco más tarde a partir de hipófisis y de otros tejidos se aislaron unos polipéptidos más grandes con actividad semejante, denominados **endorfinas**. Todas estas sustancias, denominadas **opiáceos endógenos**, presentan una secuencia común de cuatro aminoácidos y se unen al mismo tipo de receptores de la superficie celular al que se une la morfina (y otros narcóticos relacionados con ella). A diferencia de la morfina, sin embargo, estos compuestos son rápidamente degradados tras ser segregados, de forma que nunca se acumulan en cantidades suficientes como para inducir la tolerancia que se observa en los adictos a la morfina.

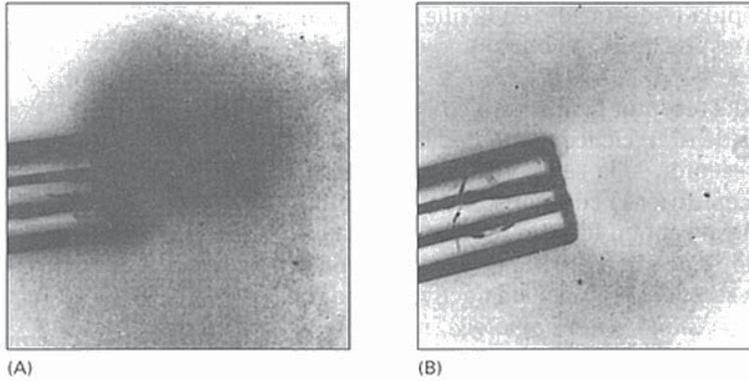


Figura 15-60 Quimiotaxis bacteriana. Las fotografías muestran bacterias *Salmonella typhimurium* atraídas hacia un pequeño tubo capilar de vidrio que contiene el aminoácido serina (A) y repelidas por un tubo capilar que contiene fenol (B). Las fotografías fueron tomadas a los cinco minutos de haber introducido los tubos capilares en las placas de cultivo en que se encontraban las bacterias. Esta prueba del tubo capilar es un método sencillo para demostrar la existencia de quimiotaxis bacteriana (De B.A. Rubik y D.E. Koshland, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75:2820-2824, 1978.)

por estudiadas frente a señales extracelulares, se encuentran las respuestas quimiotácticas, en las cuales el movimiento celular se dirige hacia o escapa de una fuente de algún compuesto químico del medio. Concluimos este capítulo con una descripción de la quimiotaxis bacteriana la cual, a través de la potencia del análisis genético, nos proporciona una ilustración clara y elegante del papel crucial que supone la adaptación en respuesta a señales químicas. En el Capítulo 16 se discute la quimiotaxis de las células eucariotas.

Las bacterias móviles han de nadar hacia los lugares donde haya elevadas concentraciones de nutrientes (*atraymentes*), como los azúcares, los aminoácidos y pequeños péptidos, y alejarse de lugares donde haya elevadas concentraciones de productos químicos nocivos (*repelentes*) (Figura 15-60). Este comportamiento quimiotáctico, relativamente simple pero claramente adaptativo, se ha estudiado especialmente en *E. coli* y en *Salmonella typhimurium*. Aquí nos centraremos principalmente en la quimiotaxis hacia los atrayentes; la quimiotaxis que huye de los repelentes se produce esencialmente por los mismos mecanismos, actuando a la inversa.

Las bacterias nadan gracias a los flagelos, que son completamente diferentes de los flagelos de las células eucariotas. Los flagelos bacterianos consisten en un cilindro helicoidal que contiene un solo tipo de subunidad proteica, llamada *flagelina*. Cada flagelo está unido por su base, gracias a un corto codo flexible, a un pequeño disco proteico localizado a nivel de la membrana de la bacteria. Por increíble que pueda parecer, este disco forma parte de un diminuto "motor" que

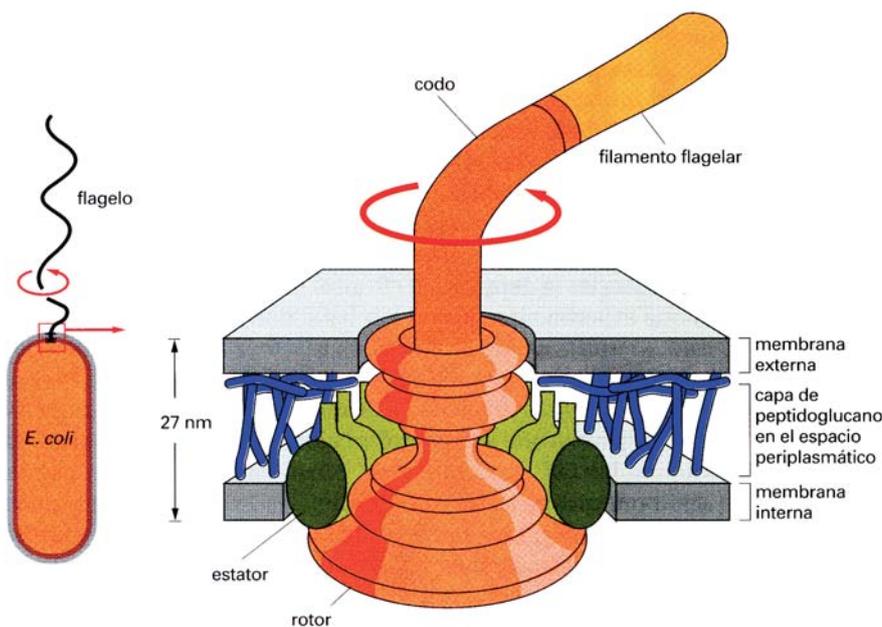


Figura 15-61 Dibujo esquemático del motor del flagelo bacteriano. El flagelo está unido a un codo flexible. El codo está unido a varias proteínas circulares (mostradas en rojo) que se hallan integradas en las membranas interior y exterior (plasmática), y giran con el flagelo aproximadamente a 150 revoluciones por segundo. Se cree que la rotación está dirigida por un flujo de protones a través de un anillo exterior de proteínas (el *estator*), que también contiene las proteínas responsables de cambiar la dirección de giro. (Basado en datos de T. Kubori et al., *J. Mol. Biol.* 226:433-446, 1992 y N.R. Francis et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:6304-6308, 1992.)

utiliza la energía almacenada en el gradiente transmembrana de H^+ girando rápidamente y moviendo el flagelo helicoidal (Figura 15-61).

Debido a que los flagelos de la superficie bacteriana tienen una "orientación" intrínseca, diferentes direcciones de rotación tienen efectos distintos sobre el movimiento. La rotación en el sentido opuesto a las agujas del reloj hace que los flagelos se unan formando un haz, con lo que la bacteria nada de forma uniforme en una dirección. Pero la rotación en el sentido de las agujas del reloj hace que los flagelos se separen unos de otros, con lo que la bacteria se mueve de forma caótica sin avanzar (Figura 15-62). En ausencia de estímulos ambientales, la dirección de giro de los flagelos se revierte cada pocos segundos produciendo un patrón característico de movimientos en el que la natación suave en línea recta se halla interrumpida por cambios abruptos de dirección (Figura 15-63A).

Este patrón normal de natación de la bacteria se modifica por atrayentes o por repelentes quimiotácticos, los cuales se unen a proteínas receptoras específicas afectando la frecuencia de cambios de dirección, incrementando o disminuyendo la duración de los intervalos de tiempo entre los cambios sucesivos de dirección de giro de los flagelos. Cuando las bacterias están nadando en una dirección favorable (hacia concentraciones elevadas de un atrayente o huyendo de concentraciones elevadas de un repelente), cambian de dirección menos frecuentemente que cuando están nadando en una dirección desfavorable (o cuando no existe ningún gradiente). Como los períodos de natación suave son más largos cuando la bacteria se desplaza en una dirección favorable, gradualmente progresará en esta dirección –hacia un atrayente (Figura 15-63B) o apartándose de un repelente.

En su ambiente natural, una bacteria detecta un gradiente espacial de atrayentes o de repelentes en el medio, nadando a una velocidad constante y comparando la concentración de compuestos químicos en función del *tiempo* (no monitoriza los cambios de concentración utilizando receptores separados en el *espacio* a lo largo de su longitud; ello sería extremadamente difícil dado el pequeño tamaño de la bacteria). En el laboratorio se pueden generar artificialmente variaciones de concentración en función del tiempo, mediante la adición o la eliminación de productos químicos del medio de cultivo. Cuando se añade, de esta forma, un atrayente al medio, la bacteria, tal como era de esperar, cesa de cambiar de dirección durante algunos segundos. Pero transcurrido este tiempo, incluso aunque se mantenga la presencia de atrayente en el medio, la frecuencia de cambio de dirección de la bacteria se recupera hasta valores norma-

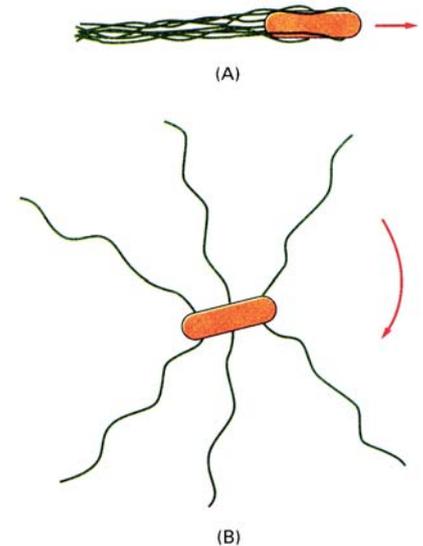


Figura 15-62 Posiciones de los flagelos de *E. coli* durante la natación. Cuando los flagelos giran en sentido opuesto al de las agujas del reloj (A) quedan unidos en un solo haz que actúa como hélice, dando lugar a una natación suave. Cuando los flagelos giran en el sentido de las agujas del reloj (B) se separan entre sí, generando un movimiento caótico.

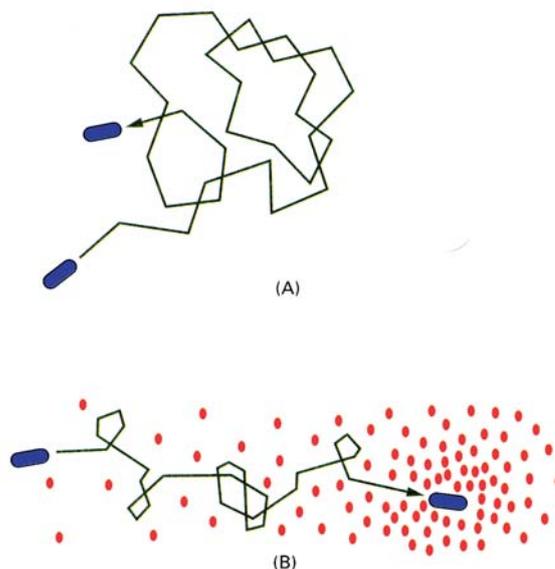
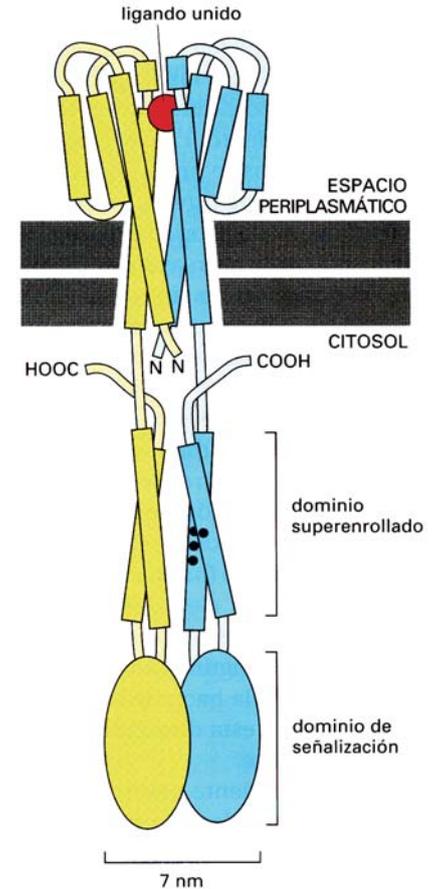


Figura 15-63 Caminos recorridos por una bacteria al nadar. En ausencia de señales quimiotácticas (A), los períodos de natación suave se interrumpen con breves movimientos caóticos que modifican al azar la dirección del desplazamiento. Así pues, la bacteria se desplaza en tres dimensiones de una forma caótica, con continuos cambios de dirección que alternan con períodos de natación suave. En presencia de un atrayente quimiotáctico (B), el movimiento caótico queda parcialmente suprimido mientras la bacteria se desplaza hacia una concentración más alta del atrayente, de modo que se va acercando gradualmente al atrayente –un desplazamiento al azar sesgado.

Figura 15-64 Modelo de la estructura homodimérica de la proteína receptora quimiotáctica del aspartato. La estructura tridimensional del dominio extracelular ha sido obtenida por difracción de rayos X. Los dominios intracelulares superenrollados son una predicción a partir del análisis de la secuencia de aminoácidos. Contienen los lugares de metilación (mostrados como *puntos negros*), de los que hay cuatro en cada una de las dos cadenas polipeptídicas (los lugares de una de las cadenas están fuera de visión en la figura). Se cree que la unión del ligando, en el espacio periplasmático, induce un cambio de conformación en el receptor que se propaga por toda la membrana mediante un movimiento de toda la molécula semejante al de una tijera. (Basado en M.V. Milburn et al., *Science* 254:1342-1347, 1991 © 1991 the AAAS; y J.B. Stock et al., *J. Biol. Chem.* 267:19753-19756, 1992, publica ASBMB.)



les. La bacteria se mantiene en este estado adaptado mientras no se produzca ninguna disminución o aumento de la concentración de atrayente en el medio; la adición de más atrayente de nuevo suprimirá durante unos segundos los cambios de dirección de la bacteria mientras que la eliminación de atrayente en el medio incrementará, también durante unos segundos, la frecuencia de cambios de dirección, hasta que la bacteria se haya vuelto a adaptar al nuevo nivel. La adaptación constituye una parte crucial de la respuesta quimiotáctica en tanto que permite a la bacteria responder a *cambios* de concentración en lugar de responder a niveles estacionarios de un atrayente, y responde a estos cambios en un extraordinariamente amplio rango de concentraciones del atrayente (en algunos casos desde menos de 10^{-10} M hasta más de 10^{-3} M).

La quimiotaxis bacteriana está mediada por una familia de cuatro receptores transmembrana homólogos y por un sistema de fosforilación que transmite la señal⁴⁶

El desenmarañamiento de los mecanismos moleculares responsables de la quimiotaxis bacteriana ha dependido fundamentalmente del aislamiento y análisis de mutantes con comportamiento quimiotáctico defectuoso. De esta forma, se ha demostrado que la quimiotaxis a varios compuestos depende de una pequeña familia de proteínas receptoras transmembrana relacionadas entre sí, que son responsables de la transmisión de señales quimiotácticas a través de la membrana plasmática. Estos **receptores quimiotácticos** se metilan durante la adaptación (véase más adelante), por lo que a menudo se les denomina *proteínas de quimiotaxisceptoras de metilos* (MCP, de Methyl-Accepting Chemotaxis Proteins). Como veremos, la actividad del receptor se estimula por un incremento de la concentración de atrayente: un solo receptor se afecta por ambos tipos de moléculas, con consecuencias opuestas.

Existen cuatro tipos de receptores quimiotácticos de membrana, cada uno de los cuales está relacionado con la respuesta a un pequeño grupo de compuestos químicos. Los receptores de tipo 1 y de tipo 2 median la respuesta a la serina y al aspartato, respectivamente, uniéndose a estos aminoácidos directamente y transduciendo el evento unión en forma de señal en el citosol. En la Figura 15-64 se presenta un modelo de la estructura de uno de estos receptores. Los receptores de tipo 3 y 4 median la respuesta a azúcares y a dipéptidos, respectivamente, de una manera ligeramente menos directa (Figura 15-65).

Estudios genéticos indican que cuatro proteínas citoplasmáticas –*CheA*, *CheW*, *CheY* y *CheZ*– participan en el proceso de señalización que acopla el receptor quimiotáctico con el motor bacteriano. *CheY* actúa en el final efector del proceso, controlando la dirección de giro del flagelo. Cuando está activada, se une al motor haciendo que gire en el sentido de las agujas del reloj, lo cual produce cambios de dirección del movimiento de la bacteria; los mutantes que carecen de esta proteína nadan de forma continua sin cambiar de dirección. *CheA* es una histidina proteína quinasa. Cuando está unida tanto al receptor quimio-

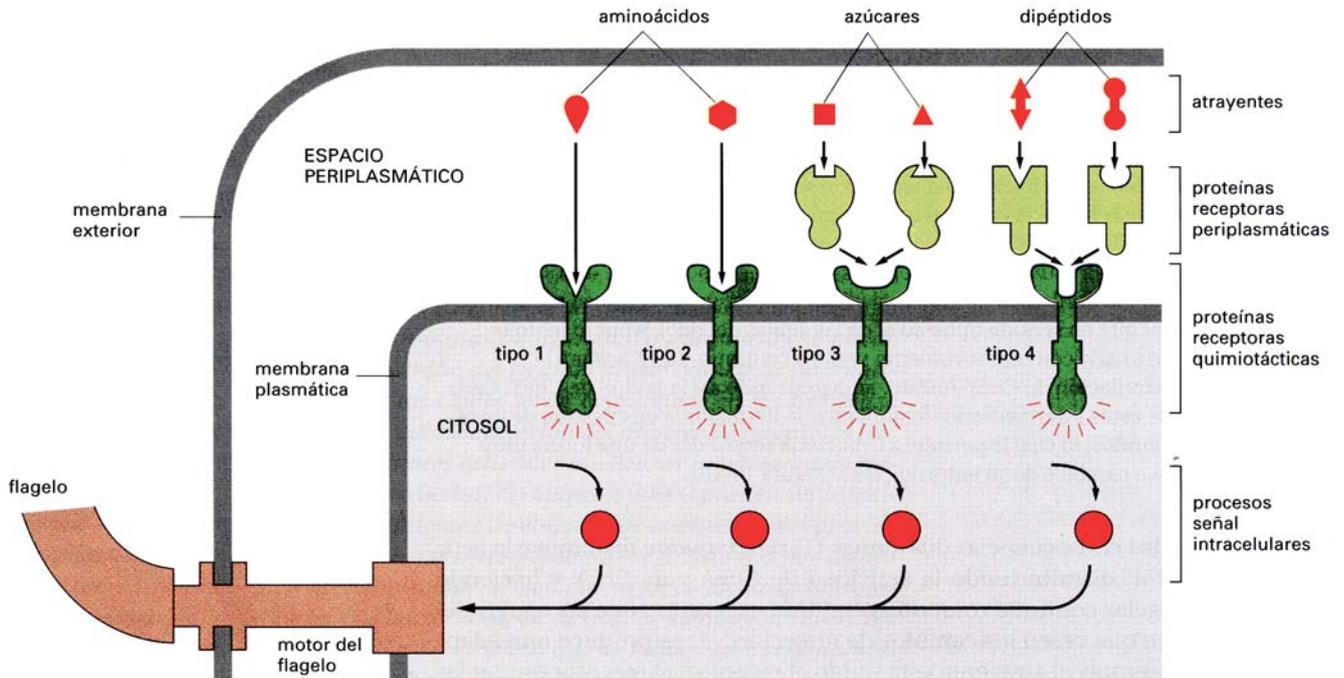


Figura 15-65 Diferentes tipos de receptores quimiotácticos. Los atrayentes químicos se unen a los receptores quimiotácticos de la membrana plasmática de tipo 1 o de tipo 2 o a proteínas receptoras específicas del espacio periplasmático (entre las membranas exterior e interior de la bacteria), las cuales entonces se unen a receptores quimiotácticos de tipo 3 o de tipo 4. La unión de un atrayente disminuye la actividad del receptor quimiotáctico, inhibiendo la cascada de señalización intracelular y haciendo que el motor del flagelo continúe girando en sentido opuesto al de las agujas del reloj, suprimiendo pues los cambios de dirección del desplazamiento de la bacteria y generando un movimiento suave y continuado. Los atrayentes difunden en el espacio periplasmático desde el exterior de la célula, a través de grandes canales situados en la membrana exterior (no mostrados aquí).

táctico como a CheW, y activada por ellos, se autofosforila sobre un residuo de histidina y casi inmediatamente transfiere el fosfato a un residuo de ácido aspártico de CheY. La fosforilación de CheY activa la proteína de manera que se une al motor flagelar y genera una rotación en el sentido de las agujas del reloj, y cambios de dirección. CheZ rápidamente inactiva a la CheY fosforilada, estimulando su desfosforilación (Figura 15-66).

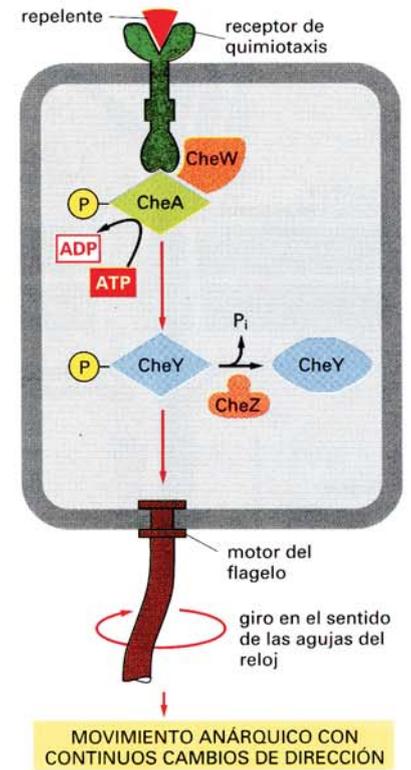
La unión de un repelente a un receptor quimiotáctico incrementa la actividad del receptor, el cual, a su vez, incrementa la actividad de CheA y por lo tanto la fosforilación de CheY, que genera cambios de dirección. Estas fosforilaciones se producen rápidamente: el tiempo necesario para que se produzca la respuesta de cambios de dirección tras la adición de un repelente es de alrededor de 200 milisegundos. La unión de un atrayente tiene el efecto opuesto. Disminuye la actividad del receptor, el cual disminuye la actividad de CheA, de forma que CheY permanece desfosforilada, el motor continuará girando en sentido contrario al de las agujas del reloj y la bacteria nadará de manera continua.

La función de CheY en la quimiotaxis bacteriana es análoga a la función de las proteínas Ras en la señalización de las células animales. Como Ras, CheY actúa como un interruptor de encendido/apagado: se halla activa cuando está fosforilada e inactiva cuando está desfosforilada, tal como ocurre con Ras, que está activa cuando tiene unido GTP e inactiva cuando tiene unido GDP. CheY se activa por CheA y se inactiva por CheZ, tal como Ras se activa por GNRP y se inactiva por GAP (véase Figura 15-50). En efecto, las estructuras tridimensionales de CheY y de Ras son similares.

En la quimiotaxis bacteriana, la metilación del receptor es responsable de la adaptación⁴⁶

En la quimiotaxis bacteriana la adaptación resulta de la metilación covalente de las proteínas receptoras quimiotácticas. Si se bloquea el proceso de metilación mediante una mutación, la adaptación se inhibe marcadamente y la exposición de la bacteria mutante a un atrayente produce el cese de los cambios de dirección de su movimiento durante días, en lugar de durante algunos segundos o un minuto. Así pues, la activación de los receptores quimiotácticos por un quimio-

Figura 15-66 Sistema de transferencia de fosforilación que permite a los receptores quimiotácticos controlar el motor del flagelo. La unión de un repelente incrementa la actividad del receptor, el cual se une a CheW y a CheA, estimulando así CheA a que se autofosforile. Rápidamente CheA transfiere el grupo fosfato que tiene unido de forma covalente a través de un enlace de alta energía, directamente a CheY generando CheY-fosfato, el cual se une al motor del flagelo haciéndolo girar en el sentido de las agujas del reloj, lo cual hace que la bacteria entre en un movimiento anárquico, con constantes cambios de dirección. La unión de un atrayente tiene los efectos contrarios. Disminuye la actividad del receptor con los que produce una disminución del grado de fosforilación de CheA y de CheY, lo cual provoca que el motor flagelar gire en sentido opuesto al de las agujas del reloj, y por lo tanto la bacteria nade con un movimiento suave y continuo. CheZ acelera la desfosforilación de CheY-fosfato, antagonizando así la acción de CheY. Cada uno de estos intermediarios fosforilados se desfosforila en cuestión de unos 10 segundos, lo cual le permite a la bacteria responder de una forma muy rápida a cambios de su entorno (véase Figura 15-10).



atrayente tiene dos consecuencias diferentes: (1) rápidamente disminuye la actividad del receptor, disminuyendo la actividad de CheA y de CheY y haciendo que el motor flagelar continúe rotando en sentido contrario al de las agujas del reloj, lo cual hace que cesen los cambios de dirección; (2) se produce una adaptación ya que, mientras el atrayente está unido al receptor, el receptor es metilado por una enzima del citoplasma, lo cual revierte la activación durante un período de algunos minutos (Figura 15-67).

La metilación del receptor está catalizada por una enzima soluble (la *metil transferasa*) que actúa sobre la proteína receptora. Se pueden llegar a transferir ocho grupos metilo a cada receptor, por lo que el grado de metilación se incrementa a elevadas concentraciones del atrayente (cuando cada receptor está unido al ligando durante períodos de tiempo prolongados). Cuando el atrayente se elimina del medio, el receptor es desmetilado mediante una enzima desmetilante soluble (metil esterasa). A pesar de que el nivel de metilación varía durante la respuesta quimiotáctica, permanece constante mientras la bacteria está adaptada, ya que se alcanza un balance exacto entre las velocidades de metilación y de desmetilación. La metil esterasa que elimina los grupos metilo de los receptores quimiotácticos también está regulada mediante fosforilación mediada por CheA, lo cual proporciona otra forma de regulación por retroalimentación negativa que también contribuye al proceso de adaptación.

Probablemente quedan otras interacciones y retroalimentaciones por descubrir en la quimiotaxis bacteriana. Sin embargo, ya se han identificado todos los genes y todas las proteínas que participan en este comportamiento altamente adaptativo, y en la mayoría de los casos se conocen las secuencias de las proteínas, y estas proteínas se encuentran disponibles en grandes cantidades. Por ello, parece que la quimiotaxis bacteriana será el primer sistema de señalización

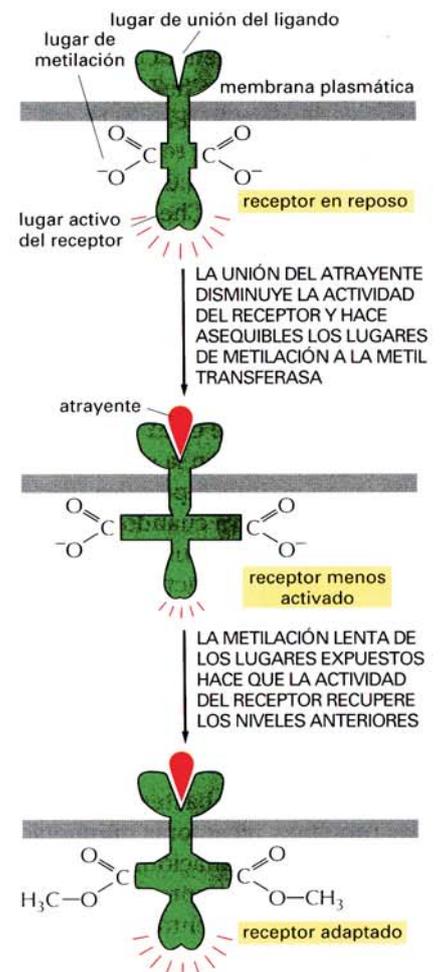


Figura 15-67 Activación secuencial y adaptación (vía metilación) de un receptor quimiotáctico. Nótese que la actividad del receptor, y por lo tanto la frecuencia de cambios de dirección de la bacteria, es la misma en el estado basal que en el estado de adaptación. El receptor se ha representado con dos lugares de metilación, para simplificar el dibujo; en realidad existen ocho lugares de metilación en cada receptor. A medida que la concentración del atrayente va aumentando, la fracción de tiempo durante la cual el receptor está ocupado por el ligando también aumenta. A elevados niveles del atrayente pues, se producirá un cambio de conformación del receptor mayor que a bajos niveles de ligando, empujando aún más al receptor hacia su estado completamente alterado. Sin embargo, se produce un ligero grado de metilación, de forma que en cuestión de algunos minutos la alteración conformacional del receptor se habrá revertido completamente y la actividad del receptor se incrementará hasta su nivel anterior. El receptor se ha adaptado.

celular que será comprendido completamente en términos moleculares. Pero incluso cuando se hayan definido todas las moléculas y sus interacciones, resultará todavía difícil comprender de qué forma actúan los procesos de señalización de una red integrada, como discutiremos a continuación.

Resumen

Mediante la adaptación a altas concentraciones de un ligando señal, de una forma reversible y dependiente del tiempo, las células pueden ajustar su sensibilidad al nivel de estímulo, respondiendo pues a cambios de la concentración en un rango amplísimo, y no a concentraciones absolutas de ligando. La adaptación se puede producir de diferentes formas: (1) la unión del ligando puede inducir la internalización de los receptores, algunos de los cuales serán degradados en los lisosomas –un proceso denominado regulación por disminución del número de receptores (receptor down-regulation); (2) los receptores activados pueden ser inactivados de forma reversible siendo fosforilados o metilados; (3) las proteínas G pueden ser inactivadas de forma reversible; y (4) las proteínas de etapas más avanzadas del proceso de señalización pueden ser reguladas por incremento (up-regulation) o por disminución (down-regulation). A nivel molecular, el ejemplo mejor conocido de adaptación tiene lugar en las quimiotaxis bacteriana, en la cual la metilación reversible de proteínas clave en la transducción de la señal, que se hallan en la membrana plasmática, permite a la célula nadar hacia los ambientes óptimos.

La lógica de la señalización intracelular: lecciones de “redes neuronales” basadas en los ordenadores

Cada una de las células de un organismo pluricelular está bombardeada con señales químicas que han sido producidas por otras células –señales que regulan su metabolismo, señales que alteran o mantienen su estado de diferenciación, señales que determinan cuándo se han de dividir las células y señales que dictan cuándo la célula ha de vivir o morir. En general, estas señales se unen a receptores de la superficie extracelular, los cuales activan varios procesos intracelulares de señalización, de forma que las señales intracelulares generadas por receptores diferentes interactúan entre sí de maneras muy complejas.

¿De qué forma una célula integra toda esta información de modo que puede comportarse de la manera que es óptima para el organismo en su conjunto? La tarea de entender de qué manera la célula controla su magia parece abrumadora. Incluso en el caso relativamente sencillo de la quimiotaxis bacteriana, en el que existen relativamente pocos componentes, y probablemente todos ellos conocidos, las complejidades de las integraciones es demasiado enorme para poderse visualizar fácilmente y comprender completamente, por el momento. Todavía no podemos predecir realmente, por ejemplo, el comportamiento de un mutante bacteriano en el que se hayan alterado los niveles de un receptor de membrana o de una proteína citoplasmática, especialmente si el estímulo quimiotáctico incluye más de un atrayente o repelente o si el estímulo cambia rápidamente con el tiempo. ¿De qué forma podemos esperar, entonces, entender las redes mucho más complejas de señalización intracelular de las células animales, en las que participan cientos de componentes, muchos de los cuales todavía no conocemos?

A medida que vamos disponiendo de más información, resulta más evidente que las simulaciones basadas en los ordenadores deberán jugar un papel cada vez más importante en nuestros intentos de entender de qué forma actúan estos procesos de señalización. Construyendo un modelo del proceso en un ordenador, se puede visualizar y manipular la red de componentes interactivos, de formas que son imposibles de estudiar en las células.

Los análisis basados en el ordenador son útiles desde otro punto de vista –que no depende del conocimiento cuantitativo detallado de las reacciones que participan. Los procesos de señalización intracelular, vistos como un todo, forman una red altamente interconectada en la que las señales son procesadas a través de múltiples rutas paralelas que interactúan una con otra. Así, uno puede aprender acerca del comportamiento de las redes de señalización comparándolas con otras redes altamente interconectadas. Las redes basadas en el ordenador, a menudo denominadas **redes neuronales**, se desarrollaron originalmente para comprender de qué forma las células nerviosas transmiten y procesan la información en el cerebro, pero existen propiedades que también son relevantes para la señalización intracelular.

Las redes neuronales basadas en el ordenador pueden ser entrenadas⁴⁷

Uno de los tipos más sencillos de redes neuronales basadas en el ordenador está compuesto de tres niveles de *unidades* interconectadas –un *nivel de entrada (input)*, un *nivel escondido* y un *nivel de salida (output)*. Cada una de las muchas unidades de la red actúa como un modelo de célula nerviosa (neurona), cuya salida individual está controlada por múltiples señales de entrada. Las conexiones entre las unidades son análogas a las sinapsis y tienen *pesos de conexión* modificables, que controlan la fuerza con la que una unidad influye en otra unidad. La actividad de la red como un todo depende tanto de los valores de estos pesos de conexión como de las reglas matemáticas mediante las cuales cada unidad suma sus señales de entrada para generar una señal de salida. Un patrón de señales de entrada recibido por las unidades de entrada es transformado según estos pesos y reglas en otros patrones diferentes de actividad en las unidades de salida, vía conexiones a través de las unidades escondidas (Figura 15-68).

La característica más remarcable y más útil de las redes neuronales basadas en el ordenador es que pueden ser *entrenadas* para reconocer patrones específicos de señales de entrada, y para responder a cada uno de ellos con un patrón de actividad de salida determinado. El entrenamiento se consigue confrontando la red con ejemplos de entrenamiento en forma de series de señales de entrada acompañadas de los correspondientes patrones deseados de señales de salida. Por ejemplo, las entradas pueden ser series de letras presentadas en una orientación determinada en la pantalla, y la salida deseada puede ser simplemente la identificación correcta de cada letra. La entrada también puede ser las secuencias de aminoácidos de varias cadenas polipeptídicas y la salida los tipos de estructuras secundarias que forma cada cadena polipeptídica. Cualquiera que sea la tarea, cuando se ha presentado un ejemplo concreto de entrenamiento, la salida que propone la red se compara con la salida deseada y se asigna un valor de “error” basado en lo cerca que estén las señales real y deseada. Tras procesar todos los ejemplos de la serie de entrenamiento, se calcula una medida general de realización, que caracteriza lo bien que ha trabajado la red en toda la serie de entrenamiento.

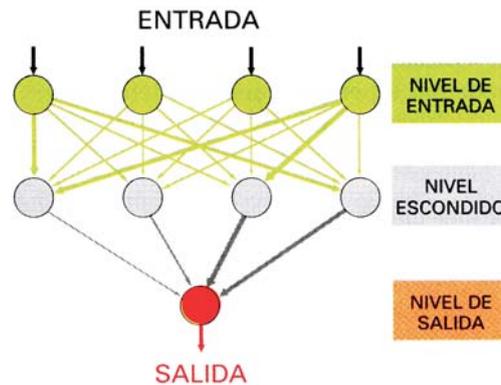


Figura 15-68 Una red neuronal sencilla. La actividad de cada unidad neuronal (mostrada como círculos) se determina por las unidades de entrada. Habitualmente la salida de cada unidad es una función no lineal de las unidades de entrada. Cada una de las conexiones entre unidades tiene una fuerza particular o “peso”, que se indica por las diferencias de grosor de las flechas que las conectan.

La ventaja del entrenamiento es que pueden cambiarse los valores de peso de la red, de forma que su realización mejore en presentaciones posteriores de series de entrenamiento. Se han diseñado varios algoritmos de entrenamiento para realizar estos cambios de los pesos de las conexiones. Uno de los métodos conceptualmente más sencillos, y quizás el más relevante para la señalización celular (como se discute más adelante), es aquel en el que los pesos de las conexiones se cambian al azar, y los cambios que producen una mejora de la realización de la red tienden a mantenerse. Sea cual fuere el algoritmo utilizado, el proceso de entrenamiento se repite una y otra vez hasta que la salida real de la red se asemeja a la salida deseada. Los pesos finales de la red no está predeterminados por el algoritmo sino que emergen de una forma autónoma como resultado de la presentación repetida de los ejemplos de entrenamiento. Cuando la red ha “aprendido” la tarea deseada, a menudo puede reconocer y dar la respuesta correcta de patrones de entrada nuevos, que no formaron parte de los ejemplos de entrenamiento.

Las redes de señalización celular pueden observarse como redes neuronales entrenadas por la evolución⁴⁸

A pesar de que las redes neurales se utilizaron originalmente para estudiar sistemas de neuronas interconectadas, no existe ninguna razón para que las unidades de estas redes tengan que representar únicamente neuronas; por ejemplo pueden ser enzimas u otro tipo de moléculas señal intracelulares. Consideremos las proteína quinasas que participan en la señalización celular. Estas enzimas reciben señales de entrada (en forma de fosforilaciones o de sencillas uniones de proteínas) a partir de componentes de varios procesos intracelulares de señalización, y estas señales de entrada, colectivamente, regulan la actividad catalítica de la quinasa. A su vez, cada quinasa genera una señal de salida (la fosforilación de otras proteínas) que regula la actividad de determinadas proteínas diana, las cuales pueden ser componentes más alejados del propio proceso de señalización o procesos de señalización paralelos. En términos de una red, en este ejemplo las quinasas actúan exactamente como lo hacen las neuronas: integran varias señales de entrada y responden con una señal de salida adecuada.

Al menos en principio, puede entrenarse una red altamente interconectada de reacciones señal intracelulares para que reconozcan ciertos patrones de señales de entrada y respondan con patrones de salida específicos, de una forma similar a como hemos descrito para las redes neuronales basadas en ordenador. En este esquema, el entrenamiento debió de ocurrir durante la evolución, mediante mutación y selección natural, de forma que mutaciones al azar en los genes que codifican proteínas señal ejercieron la misma función que las variaciones al azar en los pesos de las conexiones introducidas por el ordenador. Una mutación que cambie la actividad de una proteína quinasa señal, por ejemplo, puede incrementar el peso de una o más conexiones de la red, mientras que un cambio de la especificidad de unión de una proteína SH adaptadora puede añadir nuevas conexiones. Las mutaciones que mejoran la realización de una red de señalización, por ejemplo, al permitirle reconocer una nueva combinación de factores de crecimiento o discriminar entre dos señales extracelulares que previamente la célula era incapaz de distinguir, pueden proporcionar al organismo una ventaja selectiva y por ello, ser retenidas para ser mejoradas posteriormente. De esta forma, pudo evolucionar una red de señalización cada vez más compleja.

Las redes de señalización capacitan a las células para responder a complejos patrones de señales extracelulares^{47, 49}

Cuando se analizan las redes neuronales entrenadas para determinar como reconocen complejos patrones de señales de entrada, se encuentra que las unidades individuales del nivel escondido (véase Figura 15-68) han quedado fuertemente

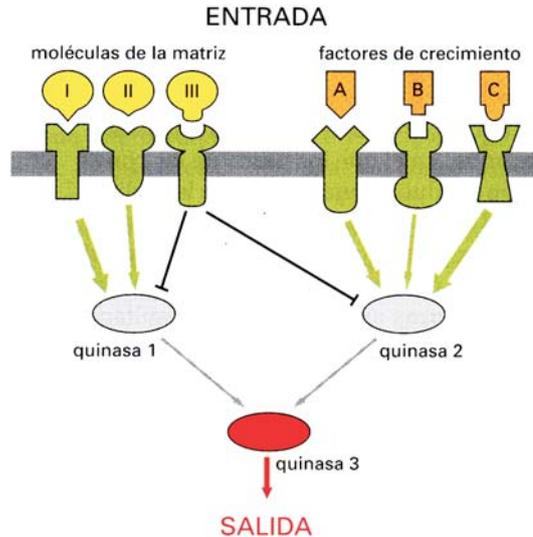


Figura 15-69 Una hipotética red de señalización sencilla. La red consta de seis receptores y tres proteína quinasas citosólicas. Cada receptor activa (flechas verdes) o inhibe (líneas negras) la quinasa 1, la quinasa 2 o ambas, mediante un mecanismo no específico. Dado que las señales convergen en la quinasa 3 (la quinasa de salida), esta red será activa al máximo únicamente cuando se presenten las combinaciones específicas de estímulos extracelulares. A pesar de que esta red es mucho más sencilla que cualquiera de las que se halla en una célula viva, puede formar parte de un proceso de señalización más complejo.

interconectadas a conjuntos significativos de unidades del nivel de entrada, de forma que las unidades escondidas pasan a representar características significativas del patrón de entrada aplicado a la red. En una red entrenada para reconocer letras representadas en cualquier orientación sobre la pantalla, por ejemplo, determinadas unidades escondidas pueden empezar para reconocer líneas curvas o pares de líneas en ángulo recto, mientras que en una red entrenada para pronunciar palabras escritas, determinadas unidades escondidas pueden representar sonidos de vocales o de consonantes.

De una forma similar, moléculas determinadas de señalización intracelular de una célula pueden haber evolucionado para reconocer combinaciones determinadas de señales extracelulares, contribuyendo así a traducir estas combinaciones de señales en una respuesta celular particular. Consideremos la hipotética red mostrada en la Figura 15-69, que casi con toda seguridad es mucho más sencilla que cualquier red de señalización encontrada en una célula. Consta de seis tipos de receptores de superficie que están acoplados funcionalmente a tres proteína quinasas citosólicas. Cada uno de los receptores I, II y III reconocen diferentes componentes de la matriz extracelular, mientras que cada uno de los receptores A, B y C reconocen diferentes factores de crecimiento. La quinasa 3 trabaja en una etapa posterior del proceso que las quinasas 1 y 2 y actúa como salida de la red, quizás estimulando a la célula a proliferar al fosforilar un conjunto de proteínas reguladoras de genes. Debido a las diferentes fuerzas de las conexiones de la red, algunas de las cuales son excitadoras y otras inhibitoras, cada una de las tres quinasas serán estimuladas de forma óptima por diferentes combinaciones de señales extracelulares. La quinasa 1 es más activa cuando la célula encuentra los componentes I y II de matriz y no encuentra los componentes III, mientras que la quinasa 2 es más activa cuando la célula encuentra factores de crecimiento A, B y C y no el componente III de matriz. Los requerimientos para la actividad óptima de la quinasa 3 son más complejos, ya que es sensible al entorno extracelular únicamente a través de las quinasas 1 y 2. Presentará máxima actividad, y estimulará a la célula a proliferar, cuando las quinasas 1 y 2 sean activas simultáneamente –es decir, cuando la célula haya encontrado los factores de crecimiento A, B y C y las moléculas de matriz I y II, y no la molécula de matriz III, lo cual constituye un patrón sorprendentemente complejo si consideramos la sencillez de la red. De acuerdo con este punto de vista, la quinasa 3 ha “aprendido” a lo largo de la evolución a asociar esta particular combinación de estímulos extracelulares con la necesidad de la célula para proliferar. De la misma forma algunas de las importantes moléculas señal de una célula real han aprendido a reconocer y responder a combinaciones relevantes de características del entorno celular.

Las redes señal son robustas

Una importante consecuencia de la arquitectura altamente interconectada de una red neuronal es que, una vez ha sido entrenada para realizar una tarea, su realización no es fácilmente destruida por la modificación o la eliminación de unidades de la red. Si una determinada unidad responde de forma óptima cuando recibe señales de entrada de otras seis unidades, también responderá, aunque no tan bien, a tan sólo cinco de estas señales. Si por ejemplo se introducen cambios al azar en el peso de las conexiones en una red neuronal entrenada para reconocer letras, la capacidad para realizar esta tarea no se suprime, sino que únicamente se degrada ligeramente.

De una forma similar, una respuesta celular que depende de procesos de señalización intracelular altamente interconectados no será fácilmente alterada si se elimina o se cambia un solo elemento señal de uno de estos procesos. Por ello, no debemos sorprendernos demasiado de encontrar que una célula eucariota pueda actuar casi con normalidad aunque una proteína quinasa haya sido inactivada por mutación, incluso si esta proteína quinasa ha sido muy conservada durante la evolución. Probablemente esta estabilidad de las redes de señalización es importante para células perfectamente normales y para células que no contienen números determinados de forma precisa de proteínas intracelulares; además, las concentraciones de metabolitos importantes pueden fluctuar con el estado metabólico de la célula. El extenso entrecruzamiento entre los procesos señal en las células animales puede haber evolucionado, en parte, para permitir que los procesos funcionen normalmente en el seno de estas fluctuaciones.

Las propiedades semejantes a las de redes neuronales de los sistemas altamente interconectados de proteínas, puede ayudarnos a entender otros aspectos de la biología celular, además de la señalización celular. Estas mismas consideraciones se pueden aplicar, por ejemplo, a las complejas redes de proteínas que interactúan entre sí, que forman el citoesqueleto, que es el tema del próximo capítulo.

Resumen

La construcción de modelos en el ordenador puede ayudarnos a iluminar los complejos comportamientos de las cascadas de señalización que se encuentran en las células. En particular, las redes neuronales basadas en el ordenador tienen una serie de propiedades que es posible que las redes de señalización intracelular compartan. Tal como las redes neuronales pueden ser entrenadas para responder de forma adecuada a determinados patrones de señales de entrada, estas redes de señalización, mediante procesos darwinianos de cambio aleatorio y selección pueden haber desarrollado la capacidad de responder de forma apropiada a complejas combinaciones de señales extracelulares. La arquitectura altamente interactiva de las redes neuronales está mimetizada por las redes de proteínas señal intracelulares. Ambas redes pueden, en principio, actuar como elementos de reconocimiento de patrones, que responden de forma óptima a combinaciones seleccionadas de estímulos de entrada. Las redes de este tipo también son relativamente resistentes a las fluctuaciones de fondo o a las alteraciones, de forma que eliminando uno de sus componentes no se altere completamente la red.