

Estructura y función de los receptores acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico

Flores Soto ME,¹ Segura Torres JE¹

RESUMEN

La acetilcolina (AC) fue el primer neurotransmisor caracterizado tanto en el sistema nervioso periférico (SNP) como en el sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos, el cual participa en la regulación de diversas funciones como fenómenos de activación cortical, el paso de sueño a vigilia y procesos de memoria y asociación. La AC se sintetiza a partir de la colina y del acetil CoA, en una reacción catalizada por la colina acetiltransferasa (CAT) y existen mecanismos que regulan de manera precisa su síntesis y liberación. Las técnicas de donación molecular han permitido la identificación de dos tipos de receptores: ionotrópicos (nicotínicos) y metabotrópicos (muscarínicos) todos ellos acoplados a proteínas G. Los receptores M1, M2 y M3 están acoplados a la activación de proteínas Gs, con la consecuente producción del segundo mensajero AMPc. Los receptores M2 y M4 inhiben la formación de AMPc, activan canales de K⁺ y reducen la entrada de iones de Ca⁺⁺ a través de canales dependientes del voltaje, efectos mediados por proteínas G (G_{ai} y G_{ao}). Los receptores de acetilcolina se encuentran ampliamente distribuidos en diversas áreas del SNC y en el SNP, en donde cada uno de ellos presenta un patrón de expresión temporal y espacial particular, los cuales pueden sobreponerse durante el desarrollo y son responsables de las diversas acciones fisiológicas de la acetilcolina. El estudio de los sistemas y receptores colinérgicos del SNC ha generado gran interés, debido a que diversas alteraciones en la transmisión colinérgica han sido relacionadas, directa o indirectamente, con trastornos severos como la enfermedad de Alzheimer y la de Parkinson.

Palabras clave: acetilcolina, acetiltransferasa, receptores ionotrópicos y metabotrópicos, sistemas y receptores colinérgicos, sistema nervioso periférico, sistema nervioso central.

Rev Mex Neuroci 2005; 6(4): 315-326

Structure and function of the acetylcholine of muscarinical and nicotinical type.

ABSTRACT

Acetylcholine (ACh) was the first neurotransmitter characterized as much in the peripheral nervous system (PNS) as in the central nervous system (CNS) of the mammals, which participates in the regulation of diverse functions like phenomena of cortical activation, the passage of dream into wakefulness and memory and association processes. The ACh is synthesized from choline and acetyl CoA, in a reaction catalyzed by the choline acetyltransferase (ChAT) and they're mechanisms that regulate in a precise way their synthesis and liberation. Molecular cloning techniques have permitted the identification of two types of receptors: ionotropic (nicotinic) and metabotropic (muscarinic) all of them connected to proteins G. The receptors M1, M2 and M3 are coupled to the activation of proteins Gs, with the consequent production of the second messenger AMPc. The receptors M2 and M4 inhibit the formation of AMPc, activate channels of K⁺ and reduce the entrance of ions of Ca⁺⁺ through voltage dependent channels, effects that are mediated by proteins G (G_{ai} and G_{ao}). The receptors of acetylcholine are widely distributed on diverse areas of the CNS and in the PNS, where each one of them presents a particular temporospatial expression pattern, which can shift about during the development and they are responsible for the diverse physiological actions of the acetylcholine. The CNS cholinergic systems and receptors study has caused great interest, ever since several alterations in the cholinergic transmission have been related, directly or indirectly, with severe inconveniences as the Alzheimer and Parkinson diseases.

Key words: Acetylcholine, acetyltransferase, ionotropic and metabotropic receptors, cholinergic systems and receptors, peripheral nervous system, central nervous system.

Rev Mex Neuroci 2005; 6(4): 315-326

1. Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular. División de Neurociencias, C.I.B.O., IMSS.

Correspondencia:

Biol. Mario Eduardo Flores Soto

Laboratorio de Neurobiología Celular y Molecular, División de Neurociencias, CIBO. Apdo. Postal No. 44160. Guadalajara, Jalisco, México, C. P. 44421

Fax: 52 (33) 3618-1756

E-mail: zeppelin924@hotmail.com y mariosoto924@yahoo.com.mx

INTRODUCCIÓN

A pesar de que Langley y Dale habían postulado ya el concepto de neurotransmisor químico a principios del siglo XX, fue Otto Loewi quien en 1921 demostró, mediante un sencillo experimento, la existencia de un mediador químico al estimular la innervación autonómica del corazón de una rana. Esta sustancia fue caracterizada químicamente en

1929 y se le denominó acetilcolina, pues su estructura química resulta ser de gran simplicidad, un éter del ácido acético y la colina (Figura 1). Éste fue el inicio de la gran aventura científica de la señalización química de una célula a otra y del descubrimiento de los neurotransmisores.

En la periferia, la acetilcolina es el neurotransmisor del sistema nervioso parasimpático y se conoce, desde hace más de 60 años, la existencia de diversos subtipos de receptores que median sus acciones. La enorme riqueza de terminales colinérgicas en la placa motora y el órgano eléctrico del pez *Torpedo marmorata* ha constituido una ayuda de primer orden en el esclarecimiento de la neurotransmisión colinérgica. Así, el receptor nicotínico fue el primer receptor de neurotransmisores purificado y del cual se conoció su estructura primaria.

Durante la década de los noventa y gracias a la aplicación de técnicas de biología molecular, se han donado e identificado distintos subtipos de receptores colinérgicos (nicotínicos y muscarínicos), así como el transportador de colina (precursora de la

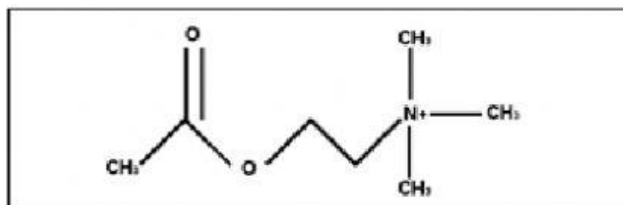


Figura 1. Estructura química de la acetilcolina.

síntesis de acetilcolina) y enzimas de síntesis y degradación de la acetilcolina.¹

La participación de la acetilcolina en multitud de funciones fisiológicas y su carácter de neurotransmisor en la unión neuromuscular, ha propiciado la aparición de una farmacología muy extensa, destinada a bloquear o incrementar la actividad colinérgica en la periferia (Tabla 1); sin embargo, existen pocos fármacos con acción selectiva para los sistemas colinérgicos cerebrales.²

En el cerebro de los mamíferos, el efecto fisiológico más importante de la acetilcolina es una reducción de la permeabilidad a K⁺, de tal forma que las neuronas sensibles a la acetilcolina son más susceptibles a otras influencias excitatorias.

Todas las regiones de la corteza cerebral están inervadas por acetilcolina, por lo que no es de extrañar que la función cortical esté fuertemente influida por la acetilcolina. Por ello, varios grupos neuronales están relacionados esencialmente con fenómenos de activación cortical, el paso de sueño a vigilia y también con la memoria. Así, la actividad colinérgica es esencial para mantener el ritmo hipocampal.

Por otra parte, las lesiones en núcleo basal de Meynert en animales de experimentación provocan pérdida de memoria, que se revierte tras la administración de agonistas. Las vías corticales procedentes de este núcleo juegan un papel preponderante en los procesos de aprendizaje mediante cambios en la

Tabla 1
Fármacos con acción sobre el sistema colinérgico.

Agonistas muscarínicos. Acetilcolina, muscarina, carbacol, metacolina, betanecol, polícarpina, arecolina, axotremorina.
Agonistas nicotínicos. Acetilcolina, nicotina, arecolina, tetrametilamonio, feniltrimetilamonio, dimetilfenilpiperacina, suberildicolina.
Antagonistas muscarínicos. Atropina, escopolamina, benztropina, bromuro de quinuclidilio, pirenzepina, telencepina.
Antagonistas nicotínicos. <i>α</i> -tubocurarina, succinilcolina, decametoni, galanina, pempidina, mecamilamina, hexameton, <i>α</i> -bungarotoxina.
Liberador de acetilcolina. Veneno de la araña viuda negra.
Inhibidor de la liberación. Toxina botulínica.
Ligados irreversibles. <i>α</i> -bungarotoxina, quinuclidilbencilato.
Inhibidor del transportador. Hemicolinio-3.
Inhibidor de la síntesis. 4-Naftililpiridina.
Inhibidores de la acetilcolinesterasa. Diisopropilfosfofluoridato, neostigmina, fisostigmina, insecticidas organofosforados.

liberación cortical de acetilcolina, que modulan la respuesta cortical a un determinado estímulo.³

Las vías colinérgicas del hipocampo parecen estar también involucradas en procesos de memoria y asociación. El conjunto, la innervación colinérgica de áreas corticales y límbicas, sugiere su participación en procesos de consolidación de la memoria y de componentes emocionales.

Finalmente, las neuronas colinérgicas del estriado juegan un papel primordial en el control de la actividad motora. La degeneración selectiva de las neuronas dopaminérgicas en la enfermedad de Parkinson origina un predominio colinérgico, con hipertonía y rigidez. Por el contrario, la degeneración de las neuronas intrínsecas estriales, características de la corea de Huntington, origina una hiperactividad dopaminérgica que se caracteriza por movimientos estereotipados.³

Vías cerebrales colinérgicas

Muchas de las evidencias sobre la localización de las vías colinérgicas en el cerebro han sido obtenidas por estudios histoquímicos, por lo que se han utilizado anticuerpos específicos para la colina acetiltransferasa (CAT), así como la aplicación de técnicas inmunohistoquímicas para la localización de estructuras colinérgicas, lo que ha hecho posible desarrollar un mapeo sobre la distribución de las neuronas y fibras colinérgicas con un alto grado de precisión.

Recientemente el empleo de anticuerpos contra el transportador vesicular de acetilcolina ha permitido una mejor definición de las terminales sinápticas, donde la acetilcolina es el neurotransmisor. También gracias a los estudios de hibridación *in situ* con sondas para los RNAm de la enzima de síntesis, se ha logrado definir con mayor claridad los cuerpos neuronales, y de este modo se dispone hoy en día de un mapa colinérgico cerebral (Figura 2).³

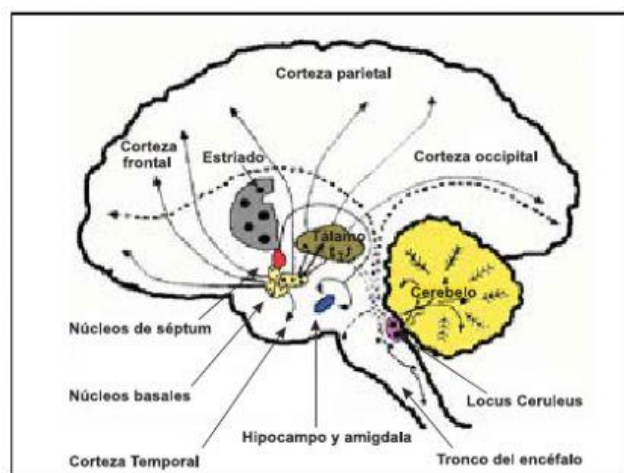


Figura 2. Distribución de las vías colinérgicas en cerebro.

La distribución y morfología de las neuronas colinérgicas es muy variada. Las que tienen axones cortos se pueden considerar como interneuronas, son muy abundantes en el estriado, donde establecen una estrecha relación funcional con las neuronas dopaminérgicas, cuyas terminales son muy abundantes en esta zona. Los núcleos de los pares craneales tienen también abundantes interneuronas colinérgicas, lo mismo que toda la médula espinal. Otras interneuronas colinérgicas se encuentran en la corteza cerebral de los roedores, pero no tienen su equivalente en primates.¹

Las vías cerebrales colinérgicas con axones largos tienen una localización más difusa que las aminérgicas, y no siempre sus cuerpos celulares se corresponden con núcleos definidos. La vía colinérgica que sale de la base del cerebro anterior, cuyos cuerpos celulares se encuentran en el septum, la banda diagonal de Broca, pallidum ventral y, sobre todo, el núcleo basal de Meynert, se extiende hasta el bulbo olfativo, corteza, amígdala y/o hipocampo, quedando toda la vía del sistema de recompensa cerebral bajo su influencia.^{4,5}

Una disminución de la funcionalidad de esta vía parece ser el origen de disfunciones cerebrales, como el Alzheimer, la demencia asociada con aparición de cuerpos de Lewy, incluso alguna variante de Parkinson. Es de destacar que el núcleo basal de Meynert, que consta de unas 200,000 neuronas de cada lado del cerebro del individuo sano, suele perder hasta 90% de sus neuronas en enfermos de Alzheimer.³

Una segunda vía colinérgica tiene sus cuerpos neuronales localizados más caudalmente, en la zona del mesencéfalo y del núcleo tegmental lateral, en el piso del cuarto ventrículo. Los axones de este sistema inervan el tálamo, hipotálamo, prácticamente todos los núcleos del cerebro medio, la habénula etc. (Figura 2).³ Su relevancia en enfermedades neurodegenerativas está todavía discutida.

SÍNTESIS Y LIBERACIÓN DE LA ACETILCOLINA

Síntesis

En el cerebro de los mamíferos, la información entre las neuronas se transmite a través de una sustancia química denominada neurotransmisor, que se libera en las sinapsis como respuesta a un estímulo específico. El neurotransmisor secretado actúa en sitios receptores especializados y altamente selectivos, que se localizan en la célula postsináptica, lo que provoca cambios en el metabolismo de ésta, los cuales modifican su actividad celular.⁶

Uno de los neurotransmisores involucrados en este proceso es la acetilcolina (AC). Se calcula que de 5% a 10% de las sinapsis en el sistema nervioso central (SNC) son de tipo colinérgico.⁷

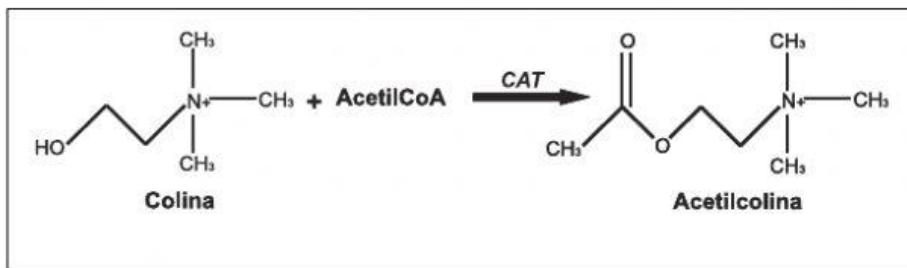


Figura 3. Síntesis de la acetilcolina.

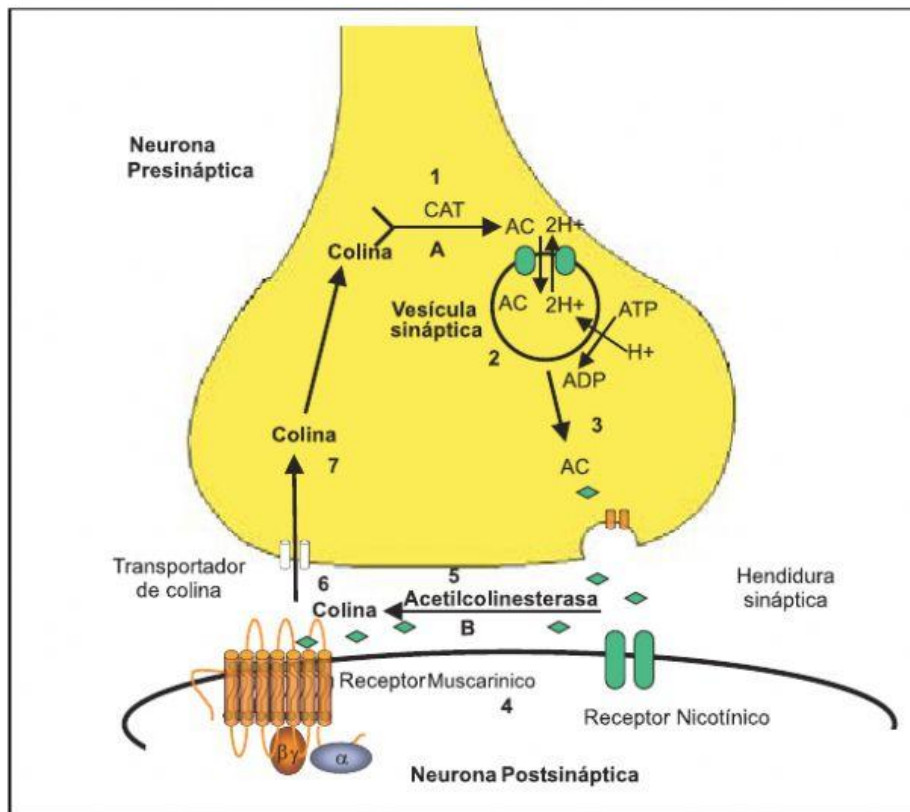


Figura 4. Sinapsis colinérgica.

La AC se sintetiza a partir de la colina, que se acumula en las neuronas colinérgicas mediante una reacción con la acetil CoA y bajo la influencia enzimática de la colina acetiltransferasa (CAT) (Figura 3).⁶

La CAT se localiza en el SNC, específicamente donde tiene lugar la síntesis de AC. La mayor actividad de la CAT se encuentra en el núcleo interpeduncular, el núcleo caudado, la retina, el epitelio corneal, el hipocampo, la corteza cerebral y las raíces ventrales de la médula espinal;⁸ se sintetiza en el soma neuronal y viaja a lo largo del axón, posiblemente unida a los neurotúbulos, que actúan como transportadores; sin embargo, también se ha señalado la síntesis de esta proteína en los axones preterminales y botones terminales.⁹

Libерación

En las terminales colinérgicas el neurotransmisor es sintetizado en el citoplasma, de donde puede ser liberado directamente al espacio sináptico, o bien,

ser transportada al interior de las vesículas sinápticas para ser liberada por exocitosis.¹⁰

En este proceso, la acetilcolina contenida en vesículas es liberada al exterior al fusionarse la membrana vesicular con la membrana de la terminal presináptica. Este mecanismo está constituido por varias etapas;¹⁰ primeramente, las vesículas transportan el neurotransmisor a su interior mediante una proteína transportadora con 12 dominios transmembranales, que utilizan un gradiente electroquímico generado por una bomba (ATPasa) de protones (H⁺).¹¹ La mayor parte de las vesículas sinápticas (~90%) que contienen el neurotransmisor, no están libres en el citoplasma, sino que se encuentran unidas al citoesqueleto de la terminal presináptica mediante la interacción de proteínas presentes en la membrana de la vesícula (sinapsinas I y II) con proteínas del citoesqueleto.

Característicamente, las sinapsinas son fosforiladas por diversas cinasas de proteína, que

incluyen las cinasas I y II, dependientes de iones de Ca^{++} y de la proteína calmodulina (CaMK I y CaMK II), y por la cinasa dependiente de AMPc (PKA). Cuando un potencial de acción alcanza la terminal nerviosa, se genera un potencial de membrana que activa canales de Ca^{++} . Debido al gradiente electroquímico, se genera un influjo de iones de Ca^{++} , que en conjunto con la calmodulina activan las cinasas CaMK I y CaMK II, las que fosforilan a la sinapsina I (CaMK I y CaMK II) y a la sinapsina II (CaMK II).

La adición de un grupo fosfato a las sinapsinas debilita la unión de las vesículas sinápticas al citoesqueleto, facilitando así su transporte a la zona activa. Una vez transportadas, las vesículas se fijan a la zona activa (andaje o "docking"), donde experimentan un proceso que las hace competentes para la exocitosis (maduración o "priming").

La propagación del impulso nervioso hacia la terminal axónica, despolariza la terminal, llevando su potencial desde -70 mV hasta +20 o +30 mV, lo que permite la apertura de canales de Ca^{++} sensibles al voltaje, particularmente aquellos que se abren en el rango de -20 a 0 mV (canales de alto umbral, que incluyen a los tipos L, N, P y Q). La apertura de estos canales permite que en su vecindad se formen zonas de alta densidad ("nubes") de Ca^{++} , donde su concentración llega a ser hasta de 100-200 M, es decir, 1,000 veces la concentración en reposo (100-200 nM).

El aumento de la concentración de Ca^{++} afecta a diversas proteínas, entre ellas, aquellas involucradas en la exocitosis, en un proceso donde una proteína, la sinaptotagmina, parece funcionar como un sensor de Ca^{++} , que termina de manera súbita el proceso de fusión de la vesícula una vez que se han formado complejos por proteínas, como la syntaxina, la SNAP-25, el factor sensible a N-etilmaleimida (NSF) y proteínas de unión a NSF o SNAPs.¹⁰

La acetilcolina liberada al espacio sináptico actúa sobre sus receptores, o puede ser hidrolizada por acción de la acetilcolinesterasa. Lo anterior permite la inducción de cambios bioquímicos y eléctricos en la célula postsináptica, que depende del tipo de receptor y de la forma en que éste se encuentre sincronizado con los sistemas de transducción (Figura 4).¹²

RECEPTORES A ACETILCOLINA

Los receptores de membrana, cuya función principal es la transducción de señales, pueden dividirse en dos tipos:

1. Los receptores que permiten la apertura de canales iónicos, como los nicotínicos para AC,

GABA_A y los de glicina, que poseen un sitio de unión para el neurotransmisor y contiene el canal iónico responsable de transmitir la señal hacia el interior de la célula.

2. Un segundo tipo de receptor que interactúa con proteínas unidas a nucleótidos de guanina (proteína G), como los colinérgicos de tipo muscarínico.¹³

Los receptores muscarínicos están presentes en diversos órganos y tejidos en la periferia (tejido cardíaco, músculo liso y glándulas exocrinas) y dentro del sistema nervioso central. En el cerebro, los receptores muscarínicos están presentes en terminales sinápticas, regulando la liberación de neurotransmisores autorreceptores y heterorreceptores. Poseen, asimismo, una localización somatodendrítica en diversos tipos de neuronas, tanto colinérgicas como de otros tipos. Estos receptores se pueden clasificar, según su afinidad por pirenzepina, en dos tipos, denominados como M1, que son de alta afinidad y predominantes en el cuerpo estriado, el hipocampo y la corteza cerebral, y los de tipo M2, de baja afinidad y localizados en la corteza cerebral.¹⁴ Por su parte, los M3 han sido identificados mediante la utilización de [³H]-4-DAMP.^{15,16}

La autorradiografía de los M4 y M5 aún no ha sido desarrollada; sin embargo, se han realizado estudios de biología molecular, mediante los cuales se han identificado al menos cinco genes diferentes denominados m1, m2, m3, m4 y m5, que codifican para receptores muscarínicos. Los subtipos m1 y m2 parecen coincidir con los M1 y M2, caracterizados por su afinidad a pirenzepina. Los m3 y m5 presentan afinidad con [³H]-4-DAMP, en tanto que el m4 es de alta afinidad a pirenzepina.^{15,16} Estos receptores pertenecen a la denominada superfamilia de receptores acoplados a proteínas G;^{17,18} todos son receptores de membrana con una estructura común, con siete dominios transmembranales y los extremos, tanto amino como carboxilo terminal, dentro y fuera de la neurona, respectivamente.

El tercer budo intracelular es el más largo y constituye el nexo de unión con las proteínas G, cuyo acoplamiento es necesario para la activación de los mecanismos efectoros.¹⁴ Así, los sistemas de receptores dependientes de proteínas G están formados por tres proteínas distintas: la proteína receptora o de reconocimiento, la proteína G y la proteína efectora (Figura 5).¹⁴

Los receptores acoplados con proteínas G, entre los que se encuentran los muscarínicos, pueden ejercer gran variedad de acciones intracelulares, según el tipo de proteína G a la que se encuentren acoplados, que incluyen respuestas rápidas o lentas, con activación/inhibición de diversas vías de mensaje-

Tabla 2
Número de aminoácidos (% de identidad con la secuencia en humanos) y distribución de las subunidades del receptor a acetilcolina, de tipo muscarínico.

ESPECIE	M 1	M 2	M 3	M 4	M 5
Humano	460	466	590	479	532
Rata	458 (99%)	466 (95%)	589 (92%)	478 (95%)	531 (89%)
Ratón	460 (98%)			479 (95%)	
Distribución	Corteza cerebral, ganglios basales, tubérculo olfativo, cerebro medio e hipocampo.	Cerebro, tronco del encéfalo, hipocampo, cerebro medio, tubérculo olfativo, corazón y músculo liso.	Hipocampo, corteza cerebral estriado y estructuras talámicas.	Estriado, tubérculo olfativo, corteza cerebral hipocampo y pulmón.	Cuerpo estriado, hipocampo y corteza cerebral.

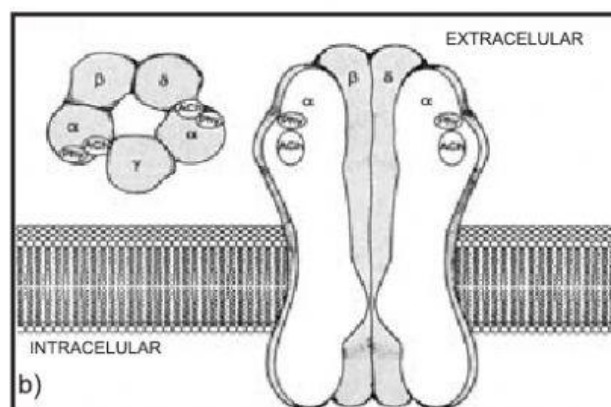
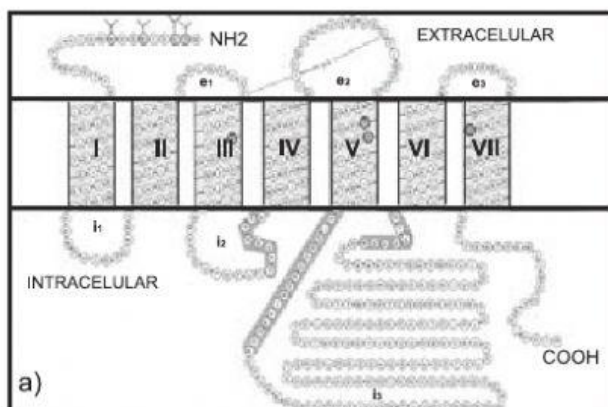


Figura 5. Estructura de los receptores de acetilcolina. a) Se esquematiza la estructura del receptor de tipo muscarínico. I-VII, dominios transmembranales. i1, i2, i3; asas citoplasmáticas; e1, e2, e3; asas extracelulares. NH2, extremo amino terminal; COOH, extremo carboxilo terminal y nicotínico. b) Este tipo de receptores contienen dos subunidades del tipo a y el resto de los tipo b, d y g y varios sitios de unión a agonistas y antagonistas selectivos.

ros intracelulares o segundos mensajeros. Las cuatro vías principales están mediadas por AMP cíclico, GMP cíclico, iones Ca^{++} y por productos de la hidrólisis de fosfato de fosfatidilinositol (Tabla 2).¹⁹

A continuación se describirán cada uno de los receptores a acetilcolina de tipo muscarínico, mencionando la estructura y distribución.

Transducción de señales

Tipicamente, la activación de los receptores M1, M2 y M5 conducen a la activación de proteínas Gs, con la consecuente producción del segundo mensajero AMPc por estimulación de una o varias isoformas de la enzima adenilciclase, localizada en una membrana celular.²⁰ El AMPc es formado a partir del ATP por adenilciclases unidas a la membrana celular.

La concentración intracelular del AMPc es igual o menor de 100 nM (10^{-7} M) y se incrementa o disminuye en respuesta a la activación de receptores acoplados a proteínas G, a la estimulación o inhibición de una o varias adenilciclases. Una vez que se

ha activado la vía metabólica acoplada a proteínas G_{α_s} , los niveles basales de AMPc pueden aumentar hasta cinco veces en unos cuantos segundos. Una vez formado, el AMPc es rápida y continuamente destruido por una o más fosfodiesterasas de AMPc, mismas que lo convierten a 5'-monofosfato de adenosina (5'-AMP).²¹

Los efectos funcionales del AMPc son:

1. Activación de la PKC y fosforilación de proteína. La mayoría de los efectos funcionales del AMPc no se deben al nucleótido en sí, sino a la activación de una cinasa de proteína que se encuentra en todas las células animales y que es estimulada por AMPc, por lo que se le denomina PKC (proteína cinasa activada por AMPc). Esta enzima cataliza la transferencia de grupos fosfato del ATP a residuos específicos de serina o de tronina de ciertas proteínas.²¹⁻²³ La unión covalente de dichos grupos fosfato regula, a su vez, la función de las proteínas blanco, las cua-

les pueden ser canales iónicos, enzimas, proteínas reguladoras de la expresión de genes, etc. En su estado inactivo, la PKC es un complejo de cuatro subunidades proteicas, dos de ellas con actividad catalítica y dos reguladoras. Las subunidades reguladoras contienen dos sitios de unión a AMPc, y el cambio conformacional ocasionado por la unión del nucleótido origina, a su vez, la disociación de las subunidades reguladoras del complejo, permitiendo la expresión de la actividad enzimática (Figura 6).^{22,23}

2. Inhibición de fosfatasa. La acción de la PKA y de otras cinasas sobre proteínas con una función definida dentro de las células, puede ser potenciada por el propio AMPc mediante un proceso paralelo, que consiste en inhibir a las fosfatasa que removerían los grupos fosfato de proteínas previamente fosforiladas.²⁰
3. Regulación directa de canales iónicos. Si bien un número importante de canales iónicos es regulado por fosforilación por la PKC, algunos canales son regulados de manera directa por el propio AMPc. Ejemplos de esta regulación son los canales catiónicos no selectivos, que muestran alta permeabilidad a Ca^{++} , presentes en las células sensoriales olfativas y visuales, y cuya apertura conduce a la desmoralización y a un aumento en la concentración intracelular de Ca^{++} (Figura 6).^{24,25}
4. Regulación de la expresión de genes. Las subunidades catalíticas de la PKA pueden

traslocarse al núcleo donde fosforilan una proteína nuclear denominada CREB (elemento de unión de respuesta de AMPc). La fosforilación de CREB estimula la transcripción de un número importante de genes, incluyendo aquellos que codifican las síntesis de ciertos neuropéptidos. Ciertos genes de respuesta temprana, como c-fos y Zif/268 son también activados por procesos que dependen de AMPc. Estos genes codifican factores de transcripción, que a su vez regulan la expresión de otros genes de respuesta tardía (Figura 6).^{21,25}

Se ha reportado, también en el SNC, que la activación de los receptores M1, M3 y M5 inducen la producción de otros segundos mensajeros: el 1, 4, 5-trifosfato de inositol (IP_3) y el diacilglicerol (DAG), por estimulación de una fosfolipasa C (PLC), que cataliza la hidrólisis del 4, 5-difosfato de fosfatidilinositol (PIP_2), un fosfolípido presente en la membrana celular.²⁶⁻²⁸

Existen dos mecanismos básicos por los cuales los complejos agonistas-receptores activan la PLC, generando los segundos mensajeros antes mencionados. En el caso de los receptores acoplados a proteínas G_q , la estimulación de la PLC se debe a las subunidades α , mientras que para las familias G_o y G_i , la activación de la enzima se debe al complejo $\beta\gamma$.²⁹⁻³¹

Un mecanismo alternativo es el desencadenado por ciertos factores de crecimiento y citocinas, que se

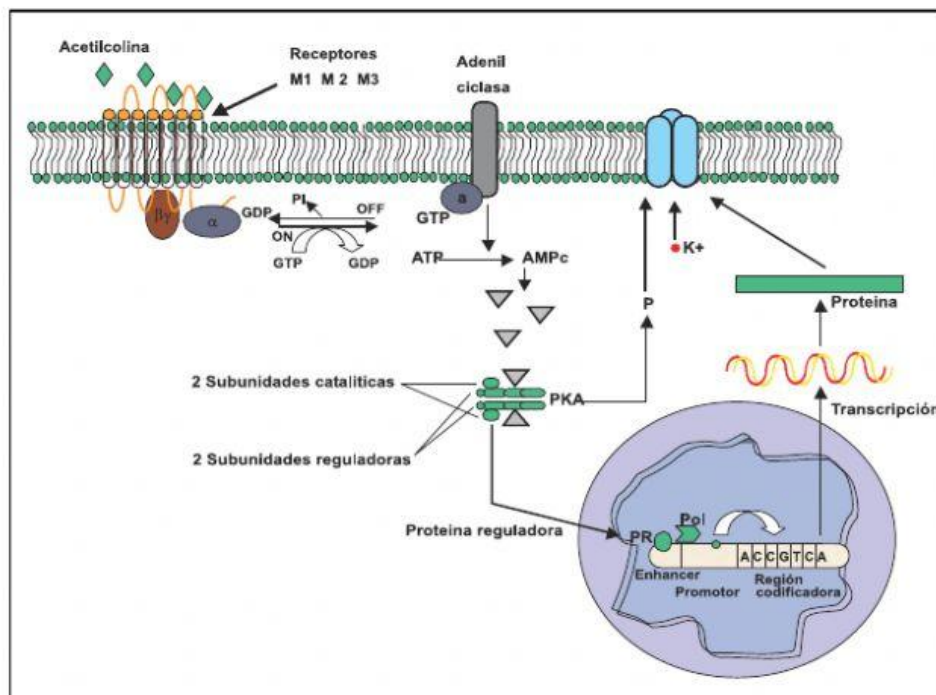


Figura 6. Señalización por AMPc. La unión del agonista al receptor activa una proteína G, cuya subunidad α -GTP estimula a la enzima adenilato ciclasa, localizada en la parte interna de la membrana celular, misma que cataliza la formación de AMPc a partir de ATP. El AMPc se une con las subunidades reguladoras de la PKA y promueve la separación de las mismas, permitiendo el efecto de las subunidades catalíticas. La PKA activada fosforila diversas proteínas, entre ellas canales iónicos y proteínas reguladoras de la transcripción de genes, entre ellos los que codifican para la propia síntesis de canales iónicos.

unen a receptores con actividad intrínseca de cinasa de proteína y activan la PLC (particularmente la isoforma γ) al fosforilar residuos de tirosina, localizados en los mismos receptores para, posteriormente, fosforilar y activar el PLC.^{32,33}

El sustrato principal de PLC, el 4, 5-difosfato y fosfatidilinositol (PIP_2), es un fosfolípido de membrana sintetizado por fosforilación secuencial del fosfatidilinositol, formado a partir de DAG e inositol por efecto de la enzima síntesis de fosfatidilinositol. La PLC cataliza la hidrólisis del PIP_2 , dando lugar a una molécula hidrosoluble, el IP_3 , y un compuesto hidrofóbico, el DAG.

El IP_3 se difunde en el espacio citoplasmático, y al unirse a receptores específicos localizados en depósitos intracelulares de Ca^{++} , promueve la liberación de estos iones (Figura 7).^{29,30,32}

Liberación de Ca^{++} por IP_3

El receptor para IP_3 (rIP_3) es un canal iónico formado por cuatro subunidades proteicas, cuyos extremos carboxilo forman la pared del canal. Cuando el IP_3 se une con sus receptores, estos experimentan un cambio conformacional que origina la apertura del canal.^{32,34-38}

Cada subunidad del rIP_3 tiene un sitio receptor para IP_3 ,³⁵ y algunos estudios han sugerido que el IP_3 abre el canal en forma cooperativa al unirse secuencialmente con los cuatro sitios receptores; sin embargo, otros reportes indican que la unión con los diferentes sitios es independiente.

En sinaptosomas, la respuesta máxima a IP_3 alcanza un máximo a los 0.15 segundos, lo que indica la velocidad del proceso de liberación de Ca^{++} . Cabe destacar que la sensibilidad del rIP_3 a su agonista puede modificarse de dos maneras principales:^{32,34,38,39}

1. Por el contenido de Ca^{++} del depósito, ya que la sensibilidad del receptor aumenta conforme el depósito se llena con iones de Ca^{++} .
2. Por la concentración citosólica de Ca^{++} , ya que en ausencia de iones de Ca^{++} , el IP_3 tiene poco efecto sobre el rIP_3 , y conforme se incrementa la presencia de Ca^{++} , hasta 300 nM, aumenta también la respuesta del receptor al IP_3 . Los iones Ca^{++} parecen, en consecuencia, funcionar como agonista junto con IP_3 para activar al receptor (Figura 7).³⁴

Inhibición de la formación de AMPc por los receptores M2 y M4

Ciertos neurotransmisores u hormonas pueden reducir la producción de AMPc, ya sea disminuyendo la síntesis basal o bien inhibiendo selectivamente la formación inducida por complejos ligando-receptor, acoplados con $\text{G}\alpha_s$.

Generalmente, la inhibición se obtiene al activar receptores acoplados con proteínas $\text{G}\alpha_s$, como es el caso de las subunidades del receptor a acetilcolina de tipo muscarínico M2 y M4.⁴⁰

Sin embargo, un caso interesante es la inhibición de la formación de AMPc, dada por los com-

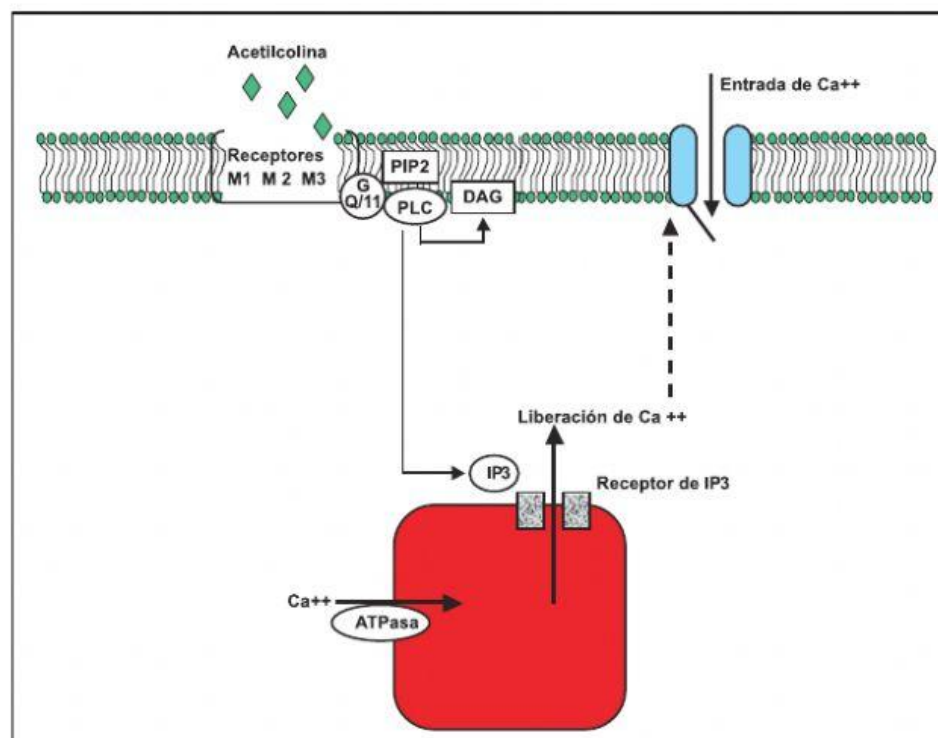


Figura 7. Señalización por IP_3 /diacilglicerol (DAG). El complejo agonista-receptor activa a proteínas Gq o Go, cuyas subunidades α -GTP (Gq) y bg (Go) estimulan al menos dos isoformas de la fosfolipasa C (OLC $\beta 1$, $\beta 2$). La PLC cataliza la hidrólisis del 4, 5-difosfato de fosfatidil inositol (PIP_2), generando IP_3 (1, 4, 5-trifosfato de inositol) y diacilglicerol (DAG). El IP_3 se difunde en el espacio citoplasmático y al unirse a receptores específicos localizados en depósitos intracelulares de Ca^{++} , promueven la liberación de estos iones. El DAG permanece en la membrana celular donde activa a la cinasa de proteína de tipo C (PKC) ya sea por sí mismo o en conjunción con iones Ca^{++} .

plejos $\beta\gamma$ y cuya unión se debe a la adenilciclasa del tipo I, o bien, a subunidades α_s libres, terminando así el efecto de éstas.^{21,41,42}

Los receptores a acetilcolina de tipo nicotínicos fueron los primeros receptores inotrópicos en ser purificados y donados. Estos receptores, también conocidos como canales operados por ligando, se abren al unirse el neurotransmisor. Estos canales operados por ligando hacen entrar gran cantidad de iones y cambian el potencial de la membrana rápidamente, llevando a una inmediata respuesta celular; son los que se denominan neurotransmisores rápidos, para contraponerlos con los que actúan a través de proteínas G, también denominados metabotrópicos lentos.

En la unión neuromuscular, los receptores nicotínicos están constituidos por cinco subunidades: dos $\alpha 1$, una $\beta 1$, una γ y una δ ($2\alpha 1$, $\beta 1$, γ , δ). Cada una de estas subunidades son de hecho familias compuestas por varias proteínas con alto nivel de homología, así de las α se han donado nueve tipos diferentes ($\alpha 1$ - $\alpha 9$), de las β cuatro ($\beta 1$ - $\beta 4$), y una respectivamente de las γ , δ y ϵ .

Cada una de estas subunidades tiene una estructura con cuatro dominios transmembranares. Los sitios de unión a la acetilcolina se encuentran en las subunidades α , que tienen dos residuos de cisterna, próximos entre sí y necesarios para el reconocimiento del agonista (Figura 5). El resto de las subunidades carece de estos elementos y no puede unir la acetilcolina. La función de cada uno de los aminoácidos en las distintas subunidades ha sido estudiada mediante mutagénesis dirigida.^{43,44}

La combinación de subunidades puede originar múltiples receptores con propiedades diferentes, pero la cuestión aquí es conocer cuáles de estas combinaciones son más frecuentes en el sistema nervioso central y cuál es su localización precisa, ya que esto permitirá conocer el alcance de sus disfunciones y sus posibilidades terapéuticas.

Los receptores ionotrópicos de la acetilcolina presentes en cerebro, son más sencillos que los de la unión neuromuscular, y están constituidos solamente por subunidades α y β . Esta sencillez es sólo aparente pues hay hasta siete subunidades α y tres β diferentes, que pueden formar múltiples combinaciones.⁴⁵

Existen dos grandes grupos o tipos de receptores neurales, que se definen con base en la capacidad inhibitoria del veneno de la cobra (*Bulgarus multicinctus*), la α bulgarotoxina, y la capacidad agonista de la epibatidina, poderoso neurotóxico aislado de la piel de la rana ecuatoriana *Epipedobates tricolor*. La epibatidina mantiene cierta semejanza estructural con la nicotina, además, es notorio destacar que es uno de los pocos produc-

tos naturales que contiene un átomo de cloro en su estructura.

El primer gran grupo de los receptores neurales está constituido exclusivamente por subunidades $\alpha 7$ y $\alpha 8$, que son los únicos que pueden ser homopentámeros ($5\alpha 7$ y $5\alpha 8$) y se reconocen por ser inhibidos por la α -bulgarotoxina y no ser susceptibles de activación por epibatidina.

Los receptores del tipo $5\alpha 7$, son los más abundantes y su presencia ha sido descrita en sistema nervioso periférico en ganglios simpáticos y parasimpáticos, y lámina X de la médula espinal.

En el sistema nervioso central este tipo de receptores tiene una amplia distribución, encontrándose en todos medio/tálamo/estriado/núcleo accumbens, núcleo geniculado lateral, etc. Recientemente se ha descrito su presencia en el lóbulo temporal e hipocampo, corteza prefrontal, etc.

En muchos de estos modelos se ha conseguido demostrar que tienen una localización presináptica. Esta localización, junto con el dato de que su permeabilidad a Ca^{++} es la mayor de todos los receptores nicotínicos, puede explicar su función, facilitando o induciendo la propia secreción o la secreción de diferentes transmisores.

Algunos ejemplos son el incremento de la liberación de acetilcolina en los ganglios simpáticos y parasimpáticos, y algunas áreas de la corteza cerebral y del cerebro. El incremento en la liberación de glutamato también ha sido demostrado en una serie de núcleos, como el de la habénula, tálamo, núcleo geniculado lateral, bulbo olfativo, etc. Los receptores $\alpha 7$ presinápticos pueden igualmente controlar a nivel presináptico la liberación de noradrenalina en muchas áreas del cerebro medio.⁴⁶⁻⁴⁸

El segundo gran grupo de receptores neurales es insensible a la inhibición por α -bulgarotoxina y activado por epibatidina. Es, de hecho, un grupo muy heterogéneo de receptores, donde pueden intervenir las subunidades $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$ y $\alpha 6$, y las subunidades $\beta 2$, $\beta 3$ y $\beta 4$.

Entre las combinaciones más abundantes se encuentran $\alpha 3\alpha$ y $\alpha 5\beta 2$. La subunidad $\alpha 4$ está ampliamente distribuida por el estriado, donde ejerce un poderoso control de la secreción de dopamina. Una posible explicación del poder adictivo de la nicotina, reside en su capacidad para liberar dopamina en el núcleo accumbens y otras zonas de la vía de recompensa cerebral. El incremento de la liberación de GABA de las interneuronas del estriado y de otras del tálamo y cerebro medio, así como la liberación de noradrenalina del locus coeruleus, están bajo el control de los receptores presinápticos nicotínicos, fundamentalmente conteniendo las subunidades $\alpha 4\alpha 2$.^{46,48-50}