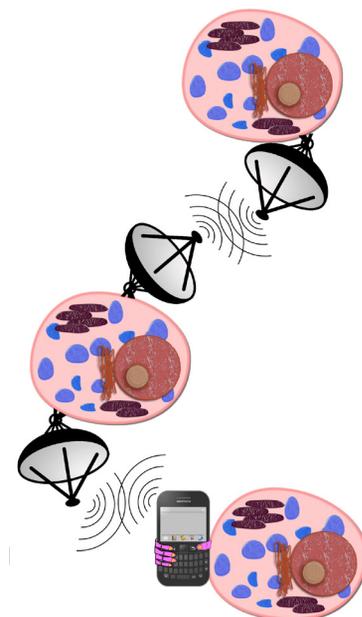


El premio NOBEL de QUÍMICA de 2012

Receptores acoplados a proteínas G:

Entendiendo cómo responde nuestro organismo a señales diversas



El premio Nobel de Química de este año fue otorgado a los estadounidenses Robert Lefkowitz y Brian Kobilka por sus estudios sobre los receptores acoplados a proteínas G. Estos receptores están involucrados en la transmisión de señales entre células y también a largas distancias dentro del organismo. Además, son tan importantes para los procesos fisiológicos en los seres humanos que prácticamente la mitad de los medicamentos con los que contamos hoy en día operan por medio de ellos. Estudiar estos receptores a nivel molecular es una tarea muy compleja pero, gracias al trabajo de estos dos investigadores, ahora podemos comprender mejor los mecanismos mediante los cuales funcionan.

Patricia Gonzales Gil*

Pensemos por un momento en la manera en la que comenzó hoy nuestro día. Despertamos al oír la alarma de nuestro despertador o al percibir la luz del sol que entra por la ventana. Luego, el café de la mañana o el desayuno llegaron a nuestros sentidos del olfato y del gusto. Y, por supuesto, debemos haber experimentado un aumento en nuestros niveles de adrenalina más de una vez en medio del tráfico que atravesamos de camino a nuestro trabajo o a nuestro centro de estudios. Desde que nos despertamos, hemos respondido a los estímulos que recibimos del ambiente que nos rodea. ¿Se han preguntado alguna vez cómo logramos responder a estos estímulos?

Para lograrlo, billones de células de nuestro organismo tienen que trabajar de manera coordinada. Eso significa que deben poder comunicarse entre ellas, deben recibir y procesar señales que les llegan del medio exterior y responder a estas señales. En conclusión, nuestras células necesitan sensores. Los receptores acoplados a proteínas G (GPCR, por sus siglas

en inglés) son una familia de sensores moleculares que se encuentran en la membrana celular. En esta familia tenemos a receptores de olor, sabor, luz, serotonina, adrenalina, y muchos más. Los GPCR son extremadamente importantes para los procesos que se dan en nuestro organismo; prueba de ello es que prácticamente la mitad de los medicamentos que tenemos hoy en día funcionan mediante de ellos.¹ Probablemente el término “bloqueador beta” no les resulta del todo desconocido y la gran mayoría de nosotros se ha visto en algún momento en la necesidad de utilizar un “antihistamínico”. Sí, ambos términos tienen mucho que ver con los GPCR.

No es de extrañar, entonces, que el Premio Nobel de Química de este año haya sido para dos científicos que han contribuido de gran manera a entender cómo funcionan los receptores acoplados a proteínas G a nivel molecular: los estadounidenses Robert Lefkowitz y Brian Kobilka.

Hoy sabemos que los GPCR son los responsables de acoplar la unión de una molécula señal (un ligando) al receptor en sí con la activación de las proteínas G. Estos ligandos pueden ser agonistas (los que se unen al receptor y generan

* Patricia Gonzales es profesora de química del Departamento de Ciencias de la PUCP. Es doctora en Bioquímica y Biofísica Molecular y ha publicado diversos artículos científicos en el área de bioquímica (e-mail: pgonzales@pucp.edu.pe).

1. The Nobel Prize in Chemistry 2012. Página web oficial de la Fundación Nobel. (📄 Acceso: febrero 2013)

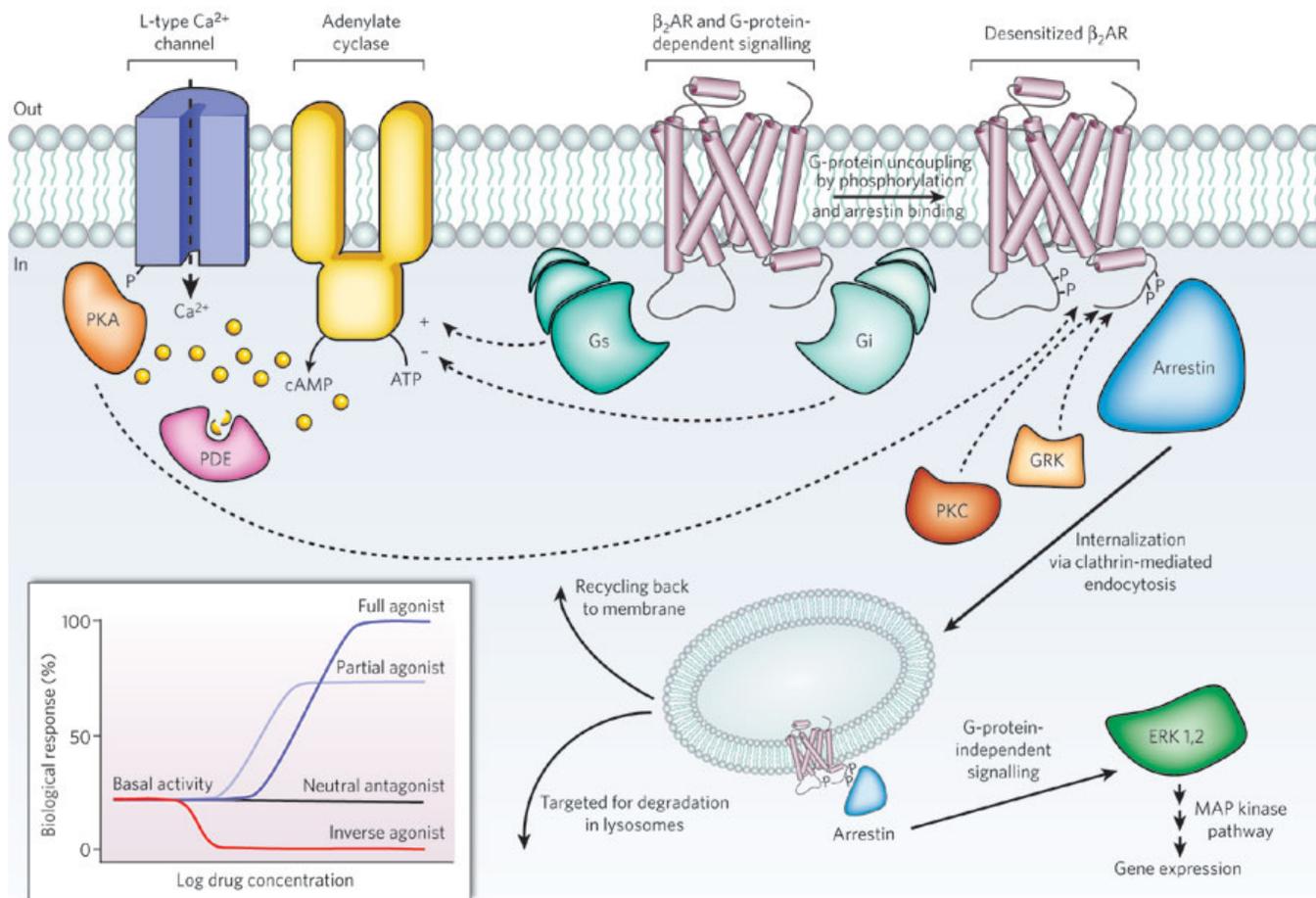


Figura 1. Transducción de señales en los GPCR. El β_2AR puede activar a dos proteínas G (Gas y Gai), las cuales regulan de manera diferente a la adenilato ciclasa. Esta última genera cAMP, lo cual activa a PKA. Esta quinasa regula la actividad de diversas proteínas celulares, como el canal de Ca^{2+} de tipo L y el mismo β_2AR . Los niveles de cAMP están regulados también por fosfodiesterasas específicas (PDE). La activación del β_2AR también conduce a una fosforilación llevada a cabo por una quinasa de GPCR y a un acoplamiento con arrestina. La arrestina es una proteína de regulación y señalización que promueve la activación de quinasas extracelulares reguladas por señales (ERK), evita la activación de proteínas G y promueve la internalización del receptor (endocitosis mediada por clatrina). En el inserto, se muestra la clasificación de un ligando según su eficacia para modular al GPCR. Muchos GPCR tienen un nivel de actividad basal, independiente de un agonista. Los agonistas inversos inhiben esta actividad y los antagonistas neutrales no tienen ningún efecto. Los agonistas y agonistas parciales estimulan las respuestas biológicas por encima de la actividad basal. La eficacia no está relacionada de manera directa con la afinidad (por ejemplo, un agonista parcial puede tener mayor afinidad por el GPCR que un agonista completo).

[Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd: Nature, 2009, 459, 356-363, © 2009]

una respuesta en la célula), antagonistas (los que bloquean la acción del agonista) o agonistas inversos (los que generan una respuesta contraria a la ocasionada por el agonista).

Pensemos una vez más en el tráfico y la adrenalina. Ante toda esa congestión y ese desorden, aumentan nuestros niveles de adrenalina y esto lleva en algún momento a que se contraigan nuestros músculos. Pero, ¿cómo sucede esto a nivel molecular? Cuando se produce la adrenalina (un agonista) en nuestro cuerpo, esta se une a un GPCR conocido como receptor β_2 adrenérgico (β_2AR). Con esto, se inicia una cascada de señales químicas. Primero, se activa una subunidad de la proteína G (Gas) y luego se activa la proteína adenilato ciclasa. Esta última produce AMP cíclico (cAMP). Todo ello contribuye a la activación de la proteína quinasa A (PKA) y, luego, a la fosforilación de una serie de proteínas. El resultado de todo este proceso es una contracción muscular (Figura 1).² Por lo menos,

ese es el rol tradicional asociado a los GPCR. Con el tiempo, se ha ido descubriendo también que la señalización mediada por estos receptores es incluso más compleja y variada.²

A pesar de la enorme importancia de estos receptores, su sola existencia estaba en discusión hasta hace unas pocas décadas. Tal vez la primera sospecha de que existían receptores celulares quedó plasmada en un artículo del fisiólogo británico John Newport Langley:

“So we may suppose that in all cells two constituents at least are to be distinguished, a chief substance, which is concerned with the chief function of the cell as contraction and secretion, and receptive substances which are acted upon by chemical bodies and in certain cases by nervous stimuli. The receptive substance affects or is capable of affecting the metabolism of

2. Rosenbaum, D.M. y col. Nature, 2009, 459, 356-363.

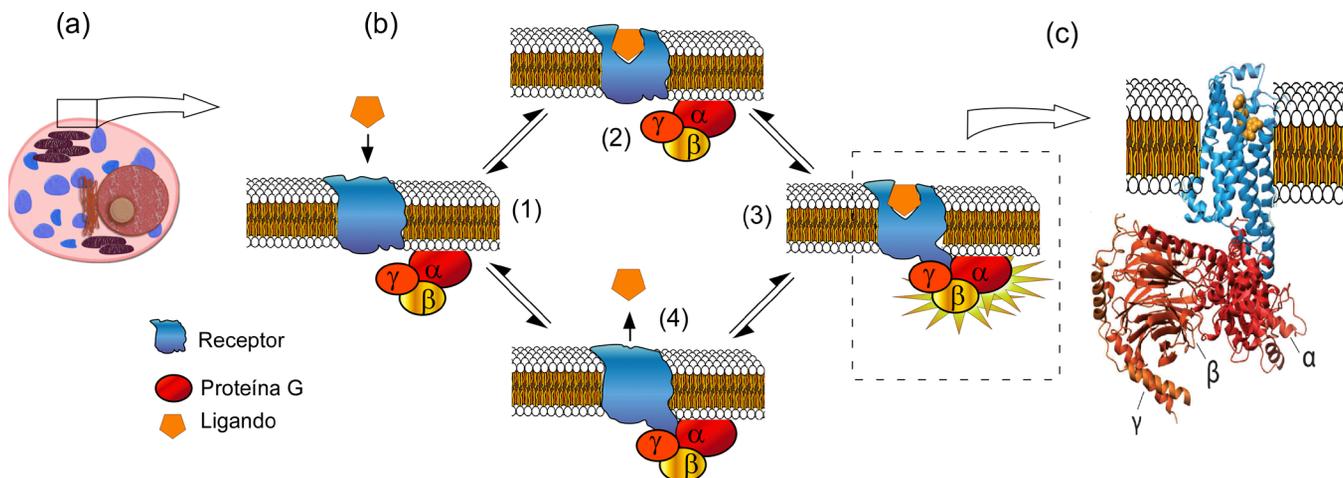


Figura 2. El modelo del complejo ternario. El ligando se muestra en amarillo, el receptor en azul y la proteína G en rojo (subunidad α), naranja (subunidad γ) y amarilla (subunidad β). (Elaboración: LOSM en base a la referencia 1).

the chief substance."³

Sin embargo, el estudio acerca de estas "sustancias receptoras" no siguió un curso continuo y directo desde ese entonces. En 1948, el farmacólogo norteamericano Raymond Perry Ahlquist publicó un artículo de gran importancia sobre los receptores adrenotrópicos e incluso los subdividió en dos tipos: receptores α y β , en base a su respuesta a una serie de aminas semejantes en estructura a la epinefrina.⁴ Pero, curiosamente, unos años más tarde el mismo Ahlquist publicó lo siguiente:

"...This would be true if I were so presumptuous as to believe that the α and β receptors really did exist. There are those that think so and even propose to describe their intimate structure. To me they are an abstract concept conceived to explain observed responses of tissues produced by chemicals of various structure."⁵

Durante la clase del Premio Nobel que dictó Lefkowitz en diciembre de 2012 en la Universidad de Estocolmo, el científico comentó, con gran sentido del humor, que este último artículo fue publicado al poco tiempo de que el presentara uno de sus primeros trabajos sobre los receptores en cuestión en un simposio al que también había asistido Ahlquist.⁶

3. "Entonces, podemos suponer que en todas las células se pueden distinguir al menos dos constituyentes: una sustancia principal, que está relacionada con las funciones principales de la célula, tal como la contracción y la secreción, y sustancias receptoras sobre las cuales actúan cuerpos químicos y, en algunos casos, estímulos nerviosos. La sustancia receptora afecta o es capaz de afectar el metabolismo de la sustancia principal." Traducido por la autora del original: Langley, J.N., *J. Physiol.*, **1905**, *33*, 374-413.

4. Ahlquist R.P. *Am. J. Physiol.*, **1948**, *153*, 586-600.

5. "...Esto sería cierto si yo fuera tan arrogante como para creer que los receptores α y β realmente existen. Hay algunos que así lo piensan y que incluso proponen describir su estructura íntima. Para mí, son un concepto abstracto concebido para explicar las respuestas producidas por sustancias químicas de diversas estructuras que han sido observadas en tejidos." Traducido por la autora del original: Ahlquist R.P., *Perspect. Biol. Med.*, **1973**, *17*, 119-122.

6. Nobel Lecture by Robert J. Lefkowitz. diciembre de 2012. Página web oficial de la Fundación Nobel. (acceso: junio de 2013).

Estudiar los GPCR a nivel molecular no es tarea fácil. Por un lado, estas proteínas se encuentran en la célula en cantidades muy pequeñas. Adicionalmente, son proteínas con siete dominios transmembrana, lo cual dificulta enormemente su purificación. Y, para hacer las cosas aún más difíciles, son relativamente flexibles, ya que deben unirse a moléculas que están en el exterior de la célula y transmitir la información de estas señales a otras proteínas que se encuentran en el interior mediante cambios conformacionales.

Lefkowitz comenzó a estudiar los GPCR en los años 60. La elección de los receptores adrenérgicos como su sistema modelo de estudio se debió, según el mismo Lefkowitz, a razones prácticas. Buscaba receptores que estuvieran distribuidos ampliamente en los tejidos de mamíferos, que tuvieran roles fisiológicos importantes y que estuvieran relacionados con su formación académica y su trabajo en ese momento: la cardiología. Adicionalmente, dado que sabía que tendría que desarrollar una serie de nuevas estrategias experimentales para el estudio de estos receptores, necesitaba un sistema que tuviera ligandos (agonistas y antagonistas) relativamente fáciles de modificar de manera química.⁷

Lefkowitz utilizó yodo radioactivo para marcar ligandos y así poder ubicar al receptor una vez que el ligando se uniera a este.⁸ Esto permitió demostrar la existencia de los receptores, cuantificarlos, estudiar los factores que regulan su expresión y llevó también al descubrimiento de otros subtipos de receptores.

Un segundo momento de vital importancia en el estudio de los GPCR fue cuando el grupo de investigación de Lefkowitz logró la purificación del receptor β -adrenérgico a partir de eritrocitos de rana utilizando cromatografía de afinidad.⁹ Luego de esto, se pudo proceder a desarrollar sistemas de reconstitución de los receptores. Cuando se logró hacer que ciertas células respondieran al isoproterenol (agonista del receptor

7. Lefkowitz R.J., *Circ. Res.* **2003**, *92*, 342-344.

8. Lefkowitz R.J., y col., *Science*, **1970**, *170*, 633-635.

9. Caron, M.G. y col., *J. Biol. Chem.*, **1979**, *254*, 2923-2927.

β -adrenérgico) solo después de que se reconstituyeran estos receptores en ellas, las dudas acerca de la existencia de los GPCR parecieron desaparecer finalmente.⁷

Las investigaciones realizadas por Lefkowitz mostraban la existencia de dos formas del receptor, con distinta afinidad por sus ligandos. En base a esto, en 1980, Lefkowitz y sus colegas Andre De Lean y Jeffrey Stadel propusieron el llamado “modelo del complejo ternario”. Este modelo involucraba la interacción del receptor con un tercer componente, lo cual generaba un receptor con alta afinidad por el ligando.¹⁰ Luego se descubriría que este tercer componente era una proteína G intracelular (Figura 2).

En los años 80, el grupo de Lefkowitz, en la Universidad Duke, inició la búsqueda del gen que codificaba el receptor β -adrenérgico. Para entonces, Brian Kobilka era parte de este grupo de investigación. Juntos lograron aislar el gen y vieron con asombro que el receptor tenía muchas semejanzas con la rodopsina, el receptor de luz que tenemos en la retina. Se hizo evidente, entonces, que el receptor beta-adrenérgico era parte de una gran familia de receptores que tenían características comunes en cuanto a su estructura y a la manera en la que funcionaban.¹¹

En el 2011, Kobilka hizo historia nuevamente. Con su propio grupo de investigación, ahora en la Universidad de Stanford, logró obtener la estructura del receptor beta-adrenérgico unido a una proteína G (una de las proteínas en el interior de la célula, a la cual se le envía la señal), mediante cristalografía de rayos X.¹²

Quienes saben lo difícil que resulta cristalizar una proteína y obtener información estructural a partir de este cristal, pueden imaginarse cuán emocionante puede haber sido obser-

var bajo el microscopio la formación de estos pequeños cristales del β_2 AR unido a su proteína Gs. Era una tarea casi imposible de lograr. Una proteína de membrana no es fácil de purificar y solubilizar. Además, el complejo receptor-proteína G es muy inestable; tiene que serlo ya que es necesario que la asociación y disociación de ambas proteínas sea muy rápida para lograr la señalización necesaria en el organismo. Por ello, la estrategia utilizada por el grupo de Kobilka involucró el uso de múltiples herramientas bioquímicas para reducir la movilidad del complejo. Utilizaron una enzima para hidrolizar GDP y lograr la estabilización de una proteína G “vacía” unida a su receptor, utilizaron también un anticuerpo de llama (sí, de nuestros camélidos) que estabilizara a la proteína G en su forma activada, diseñaron una proteína “quimera” para el receptor (una combinación del receptor en sí y de otra proteína más rígida y altamente cristalizable) y desarrollaron también un nuevo detergente que estabilizara el complejo purificado.¹³ Ingenio y dedicación puestos en conjunto para obtener una estructura que se buscaba ya por mucho tiempo.

Si volvemos a considerar la enorme cantidad de medicamentos que dependen de los GPCR para su acción, podemos entender que los aportes de Lefkowitz y Kobilka a nuestro conocimiento de estos importantes receptores podría permitir, en el futuro, diseñar medicamentos que sean muy específicos y eficaces y que, además, tengan pocos efectos secundarios.

10. De Lean, A. y col., *J. Biol. Chem.*, **1980**, 255, 7108–7117.

11. Dixon, R.A.F. y col., *Nature*, **1986**, 321, 75–79.

12. Rasmussen, S.G. y col., *Nature*, **2011**, 477, 549–555.

13. Granier, S. y Lobilka, B. *Nature Chem. Biol.*, **2012**, 8, 670–673.

Bibliografía esencial y artículos de los ganadores del premio

Dixon, R.A.F., Kobilka, B.K., Strader, D.J., Benovic, J.L., Dohlman, H.G., Frielle, T., Bolanowski, M.A., Bennett, C.D., Rands, E., Diehl, R.E., Mumford, R.A., Slater, E.E., Sigal, I.S., Caron, M.G., Lefkowitz, R.J. y Strader, C.D.: “Cloning of the gene and cDNA for mammalian beta-adrenergic receptor and homology with rhodopsin”. *Nature*, **1986**, 321, 75–79. (📄)

Lefkowitz R.J.: “A Magnificent Time With the ‘Magnificent Seven’ Transmembrane Spanning Receptors”. *Circ. Res.* **2003**, 92, 342–344. (📄)

Rasmussen, S.G., Devree, B.T., Zou, Y., Kruse, A.C., Chung, K.Y., Kobilka, T.S., Thian, F.S., Chae, P.S., Pardon, E., Calinski, D., Mathiesen, J.M., Shah, S.T., Lyons, J.A., Caffrey, M., Gellman, S.H., Steyaert, J., Skiniotis, G., Weis, W.I., Sunahara, R.K., y Kobilka, B.K.: “Crystal structure of the beta(2) adrenergic receptor-Gs protein complex”. *Nature*, **2011**, 477, 549–555 (2011).

📄 The Nobel Prize in Chemistry 2012 en la página web oficial de la Fundación Nobel. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2012/