

Redes de comunicación celular: del interactoma a la biomedicina

Federico Mayor Menéndez

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología Molecular y Centro de Biología Molecular “Severo Ochoa”, Universidad Autónoma de Madrid

Sistemas de señalización celular

Para entender el funcionamiento de los seres vivos y en particular de los organismos multicelulares, es esencial el estudio de los denominados sistemas de comunicación celular, es decir, de los mecanismos por los que se transfiere información biológica del entorno.

Todas las células deben recibir continuamente información del ambiente que las rodea, y tomar decisiones basadas en esa información. Así, los organismos unicelulares necesitan distinguir los nutrientes que se encuentran en su cercanía, y regular sus procesos metabólicos de acuerdo con esas disponibilidades. En el caso de las células de los organismos multicelulares, es preciso que integren la información procedente de las células vecinas y del conjunto del organismo, para tomar decisiones tales como reproducirse (proliferar), especializarse (diferenciación), moverse a otro sitio (migrar) o morir (apoptosis).

Por tanto, comprender cómo las células reciben y coordinan señales del entorno y de otras células del mismo organismo es esencial para entender procesos biológicos básicos como la proliferación, diferenciación y muerte celular, la organización en tejidos, el metabolismo, la migración de las células o la propia percepción sensorial. El estudio de estos sistemas de señalización celular ha experimentado un extraordinario desarrollo en los últimos años, y constituye en la actualidad una de las fronteras más apasionantes de la investigación. Estos conocimientos están permitiendo, además, avanzar en el diseño de nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas en muy diversas patologías.

Antes de la aparición de los organismos multicelulares en nuestro planeta, los organismos unicelulares ya habían desarrollado mecanismos para responder a cambios en el medio y a detectar en él la presencia de otras células. Por ejemplo, las bacterias pueden detectar que están creciendo muchas otras a su alrededor porque aumenta la concentración de sustancias secretadas por aquellas al medio exterior, y responder modulando parámetros como la movilidad, la producción de antibióticos o la formación de esporas. En el caso

de la levadura *Saccharomices Cerevisiae* puede emitir al medio una sustancia peptídica (feromona) que puede detener la proliferación de células vecinas y prepararlas para un proceso de fusión entre dos células haploides.

Se piensa que la evolución utilizó inicialmente como punto de partida cascadas de señalización que se habían desarrollado en eucariotas unicelulares para adaptar su tasa de crecimiento a la disponibilidad de nutrientes en el medio. La adquisición de nuevos genes durante la evolución, junto con los fenómenos de duplicación de los genomas y de ajuste génico diferencial, permitió aumentar el repertorio inicial de moléculas de señalización para poder acomodar la mayor complejidad estructural y fisiológica de los organismos pluricelulares. Este proceso no fue fácil y probablemente necesitó de múltiples ensayos de prueba y error a lo largo del proceso evolutivo. De hecho, algunos investigadores postulan que los 2500 millones de años requeridos para la transición de organismos unicelulares a pluricelulares se debió en gran medida a la necesidad de desarrollar el nuevo “lenguaje” de estos procesos de señalización celular.

El advenimiento de organismos multicelulares durante el proceso evolutivo precisó del desarrollo de nuevos sistemas de control de la actividad celular, del establecimiento de normas estrictas que regulasen el funcionamiento de cada una de las células especializadas del organismo para el beneficio del conjunto. Además, debía asegurarse que la puesta en marcha de respuestas celulares se coordinase de tal manera que todas las células implicadas en un proceso biológico reaccionasen al unísono durante el desarrollo embrionario o ante respuestas fisiológicas. La solución evolutiva a estas nuevas necesidades de “socialización” celular fue el desarrollo de rutas complejas de señalización que coordinasen y ejecutasen las respuestas celulares ante cambios ambientales, metabólicos o patogénicos del organismo.

Es importante reflexionar sobre la inmensa complejidad de la tarea de estos procesos de coordinación de la actividad celular. Se calcula que un ser humano adulto consta de aproximadamente 100 billones de células (cien millones de millones de células, del orden de 1.000 millones de células por gramo de tejido por término medio), de unos 300 tipos celulares distintos, agrupados en órganos y sistemas, todas ellas provenientes de una sola célula, el oocito fecundado. Sólo el cerebro humano, la estructura más compleja del universo de la que tenemos conocimiento, consiste de 100.000 millones de células en continua comunicación, a través de una complejísima red de contactos (las sinapsis, unas mil por cada neurona), muchísimo más intrincada que la “world wide web” por la que nos comunicamos por Internet.

Sistema de señalización celular y el control de la transmisión de la información genética.

Una característica general de todas las células es que la información contenida en el DNA, cuyo conjunto se denomina genoma, se transcribe a RNA, y de éste se traduce a proteínas, en los procesos de transcripción y traducción, respectivamente, dando lugar a lo que se denomina transcriptoma y proteoma, conjunto de RNAs o de proteínas expresadas en cada momento en una célula dada. En niveles de integración superior, las múltiples redes de interacciones que establecen las proteínas sustentan las funciones celulares. Al conjunto de estas interacciones se ha denominado “interactoma”. Por último, la función fisiológica integrada en el organismo global, será el resultado de la coordinación de todas esas funciones celulares, lo que se ha llamado “fisioloma”.

La expresión del transcriptoma y el proteoma (las proteínas que son las responsables directas de las funciones celulares) es dependiente de contexto, variando con el tipo celular, el estadio de desarrollo y las circunstancias fisiológicas o patológicas concretas. Un ejemplo claro de cómo esa información genómica se va diversificando en distintas combinaciones funcionales es el propio proceso de desarrollo y morfogénesis. A partir de una célula de partida se van dando las sucesivas divisiones y especializaciones funcionales y morfológicas que constituyen el organismo.

Mensajeros y receptores

¿Cómo son y cómo funcionan los procesos de comunicación celular? Hay que decir que, aún para los especialistas, los sistemas de señalización son extraordinariamente complejos, asemejándose a complicadas redes o circuitos con múltiples elementos de intersección y control. En general, estos sistemas se basan en la existencia de unas moléculas, denominadas mensajeros, que llevan “órdenes” sólo a aquellas células que poseen receptores específicos para reconocer a esa molécula. Los mensajeros, según su origen celular, forma de liberación, y función se pueden denominar también hormonas, neurotransmisores, o mediadores químicos locales.

Modalidades de comunicación entre células

En las células animales se pueden diferenciar varios tipos de comunicación atendiendo a lo que podría llamarse “la distancia operativa” :

a) Contactos célula-célula. Algunas moléculas mensajeras permanecen unidas en el exterior de la membrana de la célula que las produce, y por tanto sólo pueden influir en otras células que contacten directamente con esa célula (y que tengan los receptores apropiados). Esta señalización dependiente de contacto es muy importante durante el desarrollo (donde la información “posicional” es muy importante para la morfogénesis) y en la respuesta inmune.

b) Comunicación mediante moléculas secretadas al medio externo. Muchas células secretan mensajeros al fluido extracelular, bien mediante difusión a través de la membrana o por un proceso llamado exocitosis (vertiendo al exterior el contenido de vesículas internas que se funden con la membrana plasmática). Estos mensajeros, en muchas ocasiones actúan como mediadores locales, ejerciendo su acción en distintas células de diversos tipos cercanas a la de origen. Este tipo de señalización se denomina paracrina y está limitada en el espacio y en el tiempo por la capacidad de difusión del mensajero, y por procesos de transporte, inmovilización o destrucción del mismo que restringen su radio de acción. A veces, la propia célula secretora del estímulo tiene receptores para ese mensajero, y entonces la señalización se llama autocrina.

En el caso de los organismos más complejos, se requieren sistemas de comunicación de mayor alcance, para poder coordinar las funciones de células de diversas partes del cuerpo. Esto se consigue gracias a la comunicación sináptica mediada por neurotransmisores y mediante la denominada señalización endocrina.

En el primer caso, las células nerviosas (neuronas) extienden procesos o prolongaciones muy largos (llamados axones) que terminan en una estructura especial denominada sinapsis, muy cercana a la célula diana. Cuando las neuronas reciben una señal (del entorno o de otra neurona) se produce la liberación de una sustancia mensajera en la sinapsis (llamada en este caso neurotransmisor) que actúa muy rápidamente (en menos de un milisegundo) sobre la otra célula, ya que sólo tiene que difundir 100 nanómetros hasta su destino.

En lo que respecta a la señalización endocrina, los mensajeros se transmiten desde unas células a otras a través de la sangre. Las moléculas del mensajero (que en este caso se denominan también hormonas) viajan así por todo el organismo, pero actuando solamente en aquellas células que posean receptores específicos para esa hormona concreta. Al tener que pasar a la sangre y depender del flujo sanguíneo, esta señalización, aunque llega a largas distancias, es más lenta que la neurotransmisión, pero tiene la ventaja de que puede permitir coordinar las tareas de diversos tipos celulares en diversos órganos del cuerpo en respuesta a un mismo estímulo fisiológico. Por ejemplo, la insulina secretada en el páncreas en respuesta a la presencia de glucosa tras la comida podrá dar simultáneamente “instrucciones” a distintos tejidos (músculo, hígado, tejido adiposo) que posean receptores para esta hormona.

c) Finalmente, últimamente están también cobrando mucha importancia los llamados “mensajeros desde dentro”, las señales que surgen en el interior de las células, en muchos casos como detectores o como consecuencia de situaciones de “peligro”. El DNA dañado, la falta de oxígeno (hipoxia), los radicales libres de oxígeno, el estado energético de la célula, se está

descubriendo que desencadenan importantes respuestas celulares, interactuando en muchos casos con sistemas de señalización “convencionales” que operan desde el exterior celular.

Cascadas de señalización intracelular

Como hemos mencionado antes, los receptores tienen la capacidad de actuar como detectores de señales (mensajeros) en el medio, y de transformar ese acto de reconocimiento molecular en una señal intracelular (también denominada “segundo mensajero”). Los segundos mensajeros, ya desde dentro de la célula, modifican la actividad, localización o interacciones entre proteínas celulares (controlando así el metabolismo, o la función del citoesqueleto, por ejemplo) y también regulan la expresión génica (es decir, viajan hasta el núcleo celular y ordenan que se expresen o que se dejen de expresar determinados genes), promoviendo una respuesta celular específica e integrada.

Los sistemas de señalización celular están normalmente organizados en relevos, denominados “en cascada”, con etapas secuenciales de detección, transformación, amplificación y diseminación de la señal que son un poderoso instrumento para el control de las principales funciones celulares. Es importante recordar que estos sistemas, para ser eficaces, tienen que funcionar de forma transitoria y controlada de tal forma que sólo persista la señal mientras lo haga el mensajero. Por tanto, tienen que existir además procesos de terminación, adaptación e integración que aseguren en todo momento su activación y desactivación controlada. Cuando estos mecanismos de control sufren alguna alteración o funcionan mal, se producen situaciones patológicas. Por ello, estos sistemas pueden utilizarse también como diana de fármacos que modifiquen las funciones celulares o su comportamiento erróneo.

Tipos de receptores

La mayoría de los mensajeros se unen a receptores situados en la membrana plasmática de las células diana. Se distinguen tres grandes clases de receptores, definidos por su “estrategia” para transformar la señal extracelular en una intracelular:

a) Receptores acoplados a canales iónicos. Son proteínas de membrana que dejan pasar iones a través de ellas sólo si está presente el mensajero en la parte extracelular. Estos receptores actúan como “compuertas” que se abren transitoriamente dejando pasar calcio, sodio o cloruro (dependiendo del receptor) a favor de su gradiente electroquímico. Este tipo de receptores (constituidos por varias subunidades de proteínas transmembrana) son especialmente abundantes en células excitables caracterizadas por una gran rapidez de respuesta, como las neuronas o las células musculares.

b) Receptores con actividad enzimática propia. Son proteínas con una región transmembrana que presentan un sitio de unión del mensajero situado en el exterior de la célula y una zona con actividad enzimática (sitio catalítico) en el interior. La unión del mensajero provoca cambios en el receptor (que en muchos casos implica su dimerización, es decir, su cercanía a otro receptor similar) que resultan en la estimulación de su actividad catalítica. Muy frecuentemente esa actividad es de tipo quinasa, es decir, provoca la fosforilación en un residuo de tirosina, de serina o de treonina de la propia proteína receptora y de otras proteínas celulares, modificando transitoriamente su función. Muchos mensajeros de tipo peptídico, como la insulina, y muchos factores que controlan el crecimiento de las células utilizan este tipo de receptores.

c) Receptores acoplados a proteínas G. En los dos tipos de receptores anteriores, la capacidad de reconocer al mensajero y de promover y amplificar una señal intracelular (a través de un canal iónico o una actividad enzimática) residían en la misma proteína. En este último tipo participan 3 proteínas de membrana distintas: el receptor (que es en este caso una proteína de tipo “serpentina”, que atraviesa 7 veces la membrana), unas proteínas transductoras denominadas proteínas G (situadas en la periferia interna de la membrana plasmática) y otra proteína efectora o amplificadora. Entre estas proteínas efectoras se encuentran la adenilil ciclasa (que produce el segundo mensajero denominado AMP cíclico a partir del ATP celular), fosfolipasas (que “liberan” segundos mensajeros “almacenados” en forma de lípidos en la membrana), o canales para diversos iones. Este sistema de señalización ha tenido un gran “éxito evolutivo” ya que es la familia de receptores más extensa, más ubicua y más versátil. Los humanos tenemos casi mil receptores de esta familia en nuestro genoma.

Los sistemas de transmisión de señales en el interior de la célula

Además de los receptores capaces de detectar las señales extracelulares, ¿cuáles son las principales estrategias en las que se basa su propagación en el interior celular? ¿cómo se puede ir transfiriendo esa señal de forma ordenada?

En primer lugar, estos sistemas utilizan de forma generalizada las denominadas proteínas G (monoméricas o heterotriméricas) como interruptores moleculares que se activan transitoriamente. Estas proteínas pueden encontrarse en dos conformaciones espaciales diferentes: una forma inactiva, cuando unen al nucleótido GDP, y otra forma activada capaz de unirse con otras proteínas celulares denominadas efectoras, cuando unen GTP. Pero esta activación es intrínsecamente transitoria, ya que estas proteínas son GTPasas, es decir, destruyen al cabo de un breve tiempo el GTP transformándolo de nuevo en GDP, y vuelven así a su estado basal.

El encendido (intercambio de GDP por GTP) y el apagado (hidrólisis de GTP) de este interruptor molecular se puede modular por su interacción con otras proteínas. Así, cuando los receptores “serpentina” acoplados a proteínas G reconocen a su mensajero (por ejemplo, el receptor de adrenalina a la adrenalina), cambian su conformación y pueden entonces interactuar con una proteína G (de tipo heterotrimérico) unida a GDP, lo que a su vez promueve el intercambio de GTP por GDP. La proteína G en su estado activo interactúa con efectores (como la adenilato ciclasa) modificando parámetros intracelulares que diseminan la señal extracelular. Este proceso es transitorio, porque la proteína G hidroliza GTP a GDP (le quita un grupo fosfato) y vuelve a su conformación basal. Sólo si sigue habiendo mensajero en el exterior de la célula se repetirá el ciclo de activación y desactivación. Muchos otros procesos celulares utilizan otro tipo de proteínas G, llamadas monoméricas, como las familias de proteínas Ras o Rho, para controlar múltiples aspectos de proliferación, diferenciación, morfología del citosqueleto o tráfico vesicular.

Otra estrategia fundamental en los procesos de comunicación celular es la utilización de procesos de fosforilación y des-fosforilación de proteínas, que pueden modificar de forma reversible la actividad de muchas proteínas celulares. La introducción de un grupo fosfato en un residuo de Serina, Treonina o Tirosina por una quinasa, o su desaparición por acción de una fosfatasa, puede modificar la conformación, la actividad, o localización de una proteína. La utilización conjunta de quinasas y fosfatasas permite también disponer de otro tipo de interruptores moleculares, que encienden o apagan funciones celulares.

La fosforilación y des-fosforilación catalizada por proteína-quinasas y proteína fosfatasas pueden modificar la función de una proteína casi de cualquier manera que se pueda imaginar; por ejemplo, aumentando o disminuyendo su actividad biológica, facilitando o inhibiendo su tráfico entre compartimentos subcelulares, o iniciando o rompiendo interacciones proteína-proteína. La simplicidad, flexibilidad y sensibilidad de la fosforilación, junto con la disponibilidad del ATP como donador de grupos fosforilo, explica su selección como el mecanismo más general de regulación adoptado por las células eucarióticas. Se estima que casi un tercio de las proteínas pueden ser reguladas por esta estrategia, y en el genoma humano se han identificado más de 500 proteínas quinasas y del orden de 130 fosfatasas. Muchos de los genes identificados como oncogenes (es decir, aquellos genes que mutados dan lugar a cáncer) pertenecen a estos grupos de proteínas, lo que da idea de su extraordinaria importancia fisiológica y patológica.

El diseño modular permite ensamblar complejos de proteínas señalizadoras

Por último, otra estrategia común en los procesos de comunicación intracelular, que también se utiliza conjuntamente con las anteriores, es la existencia de

múltiples “módulos” o dominios funcionales en las proteínas transductoras de señal, que van a permitir su ensamblaje y desensamblaje transitorio en complejos multimoleculares implicados en señalización. Muchas proteínas de señalización están construidas a base de “módulos” parecidos, que tienen determinada capacidad de unirse unos con otros, o de reconocer determinadas señales en las células, como por ejemplo la existencia de residuos de tirosina fosforiladas (módulos SH2), de secuencias ricas en prolina (módulos SH3) o de mayor concentración de derivados lipídicos del fosfatidilinositol (módulos PH). Pueden construirse sistemas de señalización muy complejos y altamente regulados, combinando las distintas estrategias de los interruptores moleculares de las proteínas G, las quinasas/fosfatasas, y los procesos de ensamblaje/desensamblaje controlado de complejos multimoleculares basados en la estructura modular de muchas de las proteínas implicadas.

Por ejemplo, muchos receptores tienen actividad quinas y se auto-fosforilan en residuos de tirosina en respuesta a un estímulo. Estos aminoácidos así modificados actúan como “reclamo” de otras proteínas que poseen unos módulos funcionales denominados SH2, que reconocen específicamente tirosinas fosforiladas. De esta forma, se promueve un reclutamiento o ensamblaje específico de proteínas intracelulares. En muchas ocasiones, estas proteínas modulares reclutadas contienen como otra de sus piezas un factor de intercambio GTP/GDP de proteínas G. De esta forma, la llegada del mensajero extracelular permite, en un momento y en un lugar específico, el encendido de este “interruptor molecular” en el interior de la célula.

Sistemas de señalización celular y biomedicina

Muchas situaciones patológicas se derivan de un funcionamiento alterado (excesivo o disminuido) de los sistemas de comunicación celular. A su vez, múltiples fármacos actúan modulando las cascadas de señalización a diferentes niveles. El cáncer, la diabetes, las enfermedades cardiovasculares, los procesos neurodegenerativos o inflamatorios cursan con alteraciones en sistemas de señalización celular, ya sea por cambios en los niveles de mensajeros, en el número o la funcionalidad de los receptores o de los distintos componentes de las cascadas de transducción, o en una mezcla de estos motivos.

En ocasiones pueden producirse alteraciones genéticas que lleven a una señalización constitutiva e independiente del factor extracelular. Este tipo de alteraciones afectan fundamentalmente a aquellas moléculas que regulan positivamente las rutas de señalización. Por otro lado, pueden producirse alteraciones genéticas que eliminen la función de una proteína concreta, bien debido a la pérdida del gen respectivo o a mutaciones puntuales que creen problemas en la expresión de una proteína o en su actividad biológica. Este tipo de disfunciones afectan a moléculas que actúan como reguladoras

negativas de las cascadas de señalización. El ejemplo más prototípico de estas disfunciones moleculares es el cáncer, una enfermedad que se origina como consecuencia de la desregulación de las cascadas de señalización que modulan la proliferación celular, la diferenciación celular, la detección/reparación de daño genético, y el proceso de apoptosis.

Ahora sabemos que esta patología se debe a la acumulación de mutaciones que determinan bien la activación constitutiva (en el caso de los oncogenes) o la inactivación (en el caso de los genes supresores de tumores) de proteínas implicadas en la señalización celular. El resultado son rutas de señalización constitutivamente activas, que dan órdenes continuas de proliferación celular sin posibilidad de control externo.

En otras muchas enfermedades se encuentran alterados los niveles de mensajeros y/o las rutas de señalización que controlan. La diabetes, por ejemplo, es resultado de reducidos niveles de la insulina, mensajero clave en el control de la glucosa plasmática (diabetes tipo I) o de una reducida eficacia de la cascada de señalización de la insulina (diabetes tipo II). En patologías cardiovasculares, existen aumentos en los niveles de mensajeros como catecolaminas, angiotensina o endotelina, que alteran a su vez el normal funcionamiento y crecimiento de tipos celulares cardiovasculares, y pueden conducir a hipertrofia cardíaca y a fallo cardíaco. En la enfermedad de Parkinson, la degeneración de las neuronas de determinada zona del cerebro disminuye los niveles del neurotransmisor dopamina.

El mejor conocimiento de los procesos de señalización implicados y alterados en los distintos procesos fisiológicos y patológicos permite también utilizarlos como dianas de fármacos. La idea básica es aprovechar la gran capacidad de control de las funciones celulares de estos sistemas para modificarlas de la forma más eficaz y específica posible. En algunos casos, la estrategia consiste en modular exógenamente los niveles de mensajero, bien para evitar su carencia, como sería el caso de la administración de insulina, o para evitar que se produzca en exceso, como la aspirina y los inhibidores que evitan la excesiva síntesis de los mensajeros denominados prostaglandinas y de otros derivados del ácido araquidónico, controlando así procesos inflamatorios.

En otros casos, se administran compuestos químicos capaces de unirse con gran afinidad a los mismos receptores que los mensajeros endógenos, consiguiendo así mimetizar (agonistas) o impedir (antagonistas) su acción. Por ejemplo, agonistas de receptores beta2-adrenérgicos son eficaces broncodilatadores y se utilizan para tratar el asma; antagonistas beta1-adrenérgicos se utilizan para el tratamiento de la hipertensión; antagonistas del receptor H2 de la histamina inhiben la excesiva secreción gástrica; agonistas de receptores de opiáceos, como la morfina, se utilizan como analgésicos, etc.

El estudio del interactoma de las GRKs y sus implicaciones fisiopatológicas como ejemplo

Las quinasas de receptores acoplados a proteínas G (GRKs) representan un importante punto de convergencia de diferentes rutas de señalización. Las GRKs participan, junto con las arrestinas, en la regulación de receptores acoplados a proteínas G (GPCR), una familia de centenares de proteínas de membrana de gran importancia fisiológica y farmacológica, y pueden también desempeñar un papel en la propagación de señal, contribuyendo a ensamblar complejos multimoleculares en el entorno del receptor, actuando como proteínas adaptadoras ("scaffold") gracias a su interacción con diversas proteínas implicadas en señalización celular. Además, las GRKs (y en particular la ubicua isoforma GRK2), pueden también fosforilar ciertos receptores tirosina-quinasa y un número creciente de sustratos no-GPCRs, sugiriendo que estas proteínas podrían tener diversas funciones efectoras. Otras interacciones funcionales descritas están implicadas en la regulación de la expresión, degradación, localización y actividad de las GRKs. Dado que los niveles y/o funcionalidad de GRK2 están alterados en diversas e importantes situaciones patológicas, como fallo cardiaco congestivo, inflamación o ciertos tumores, el mejor conocimiento de las redes de interacciones de esta proteína ("interactoma") permitirá desvelar la contribución de GRK2 a procesos celulares básicos, y entender cómo sus alteraciones en condiciones patológicas pueden participar en el desencadenamiento o desarrollo de diversas enfermedades cardiovasculares inflamatorias o neoplásicas, así como evaluar su potencial como diana diagnóstica y/o terapéutica.