

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Trabajo Fin de Grado

Bases estructurales de los receptores acoplados a la proteína G

Omar Jesús Santana García

15/03/2018

TUTOR: *José Manuel Siverio Expósito y *Ana Lancha.

ÁREA DE CONOCIMIENTO: Bioquímica.

FACULTAD: Ciencias de la salud.

- * El contenido de este trabajo podría no coincide en su totalidad con la opinión de los tutores.

Índice

<i>Resumen</i>	2
<i>Abstract</i>	2
<i>Objetivos</i>	2
<i>Material y métodos</i>	2
<i>Receptores acoplados a la proteínas G (7TM)</i>	2
<i>Activación y desactivación de proteínas G</i>	3
<i>Toxinas que actúan sobre las proteínas G</i>	5
<i>Mecanismo de transducción de señales de la adrenalina</i>	6
<i>Mecanismo de acción de los fármacos</i>	7
<i>Como actúan algunos fármacos sobre el receptor 7TM</i>	8
<i>Conclusiones</i>	10
<i>Bibliografía</i>	10

Resumen

Los receptores acoplados a las proteína G (GPCR), son una superfamilia de proteínas que se encuentran en la membrana plasmática y cuya función es generar una respuesta celular frente a estímulos recibidos a través de moléculas señalizadoras que se encuentran en el exterior celular.

Estos receptores son imprescindibles en la regulación de diversas vías esenciales de transducción de señales. Por esta razón, no es difícil imaginar su gran interés como dianas farmacológicas para diversas enfermedades.

Estos receptores son un campo activo de investigación así como fármacos que modulen su actividad de forma específica y con los menores efectos colaterales.

Abstract

The coupled receptors to the G proteins (hereto referred as GPCR), are a superfamily of proteins which are found in the plasma membrane and whose function is to generate a cellular response to stimuli received through signaling molecules found within the cellular outer part.

These receptors are indispensable in the regulation of several essential signal transduction tract. Given the before mentioned, it is not hard to guess the great expectation it causes, as they are pharmacological targets for diseases/illnesses. These receptors are an active field of investigation as well as drugs that modulate their specific form of activity with minor collateral effects.

Objetivos

El objetivo del trabajo trata de buscar información sobre moléculas y fármacos que actúan sobre la proteína G, viendo cómo se produce la cascada de señales dando lugar a una serie de respuestas celular.

Material y métodos

La fuente de información en la realización del trabajo ha sido publicaciones originales realizado por los principales investigadores en el campo, páginas webs y libros de textos (Strayer, Lehninger).

Receptores acoplados a la proteínas G (7TM)

Los receptores acoplados a las proteínas G, forman una superfamilia que comprende múltiples especies moleculares, aunque mantienen características estructurales similares. Tienen entre 450 y 600 aminoácidos constituyendo una única cadena polipeptídica, con siete dominios transmembranales hidrofóbicos (TI-TVII), en forma

de α -hélices que atraviesan la membrana. Estas regiones transmembranales están conectadas entre sí por unos lazos hidrofílicos extracelulares (e1, e2 y e3) e intracelulares (i1, i2 y i3). El grupo amino terminal se sitúa en el exterior de la célula donde se anclan los residuos glucídicos, mientras que el carboxilo terminal se localiza intracelularmente junto con los dominios citosólicos. Otra característica de estos receptores es la presencia de una región intracelular, que une el quinto y sexto segmento transmembranal, y que pueden tener una longitud variable. Esta región es muy importante por su implicación en la interacción con las proteínas G.

Debido a la localización de la membrana celular, los receptores acoplados a la proteína G reconocen a un elevado número y tipo de señales extracelulares, en los que incluye fotones, iones, moléculas pequeñas (como pueden ser hormonas, neurotransmisores, nucleótidos, etc.) péptidos y proteínas. Estos estímulos son capaces de activar o bloquear su correspondiente GPCR y transmitir así la señal desde el exterior celular, a través de la membrana plasmática, hasta el interior citoplasmático, donde se genera la respuesta adecuada. Estas respuestas celulares incluyen la regulación de diversas actividades enzimáticas, canales iónicos, transcripción génica así como determinadas vías de supervivencia, motilidad y proliferación celular. La principal misión de los receptores acoplados a proteína G es la de reconocer un ligando específico y transmitir la información a través de la membrana plasmática. Cuando interacciona el transmisor con el receptor en la cara externa de la membrana se produce un cambio conformacional en los dominios citosólicos.

Esta proteína G tiene GDPasa, de manera que puede hidrolizar GDP hasta GTP. Esta proteína G en la mayoría de rutas de señalización, está constituido por 3 subunidades: α , β y γ . Este tipo de proteína G recibe el nombre de heterotrimérica, que transmiten señales mediante su interacción con otras proteínas. Se produce una diferencia en la afinidad de asociación del receptor a la proteína G a la que se encuentra acoplado, de manera que pierde afinidad por la subunidad α , y lo que se produce es que esa subunidad α se va a disociar del complejo y una vez que se disocie, pierde afinidad por unir el nucleótido GDP. Éste abandona la subunidad α y ahora ese sitio de unión a nucleótido es ocupado por el nucleósido trifosfato (GTP). Este intercambio de GDP por GTP está favorecido debido a que en el citosol la concentración de GTP es un orden de magnitud superior a la del GDP.

Una vez que une el GTP, esa subunidad α se activa, sufre un cambio conformacional y es capaz de modificar la actividad de enzimas efectoras que se encuentran formando parte de la bicapa lipídica, esas enzimas efectoras se encargan de la síntesis de segundos mensajeros.

Activación y desactivación de proteínas G

Muchas de las hormonas que circula en el organismo son de naturaleza hidrosoluble (catecolaminas y péptidos), lo que hace que sea necesario la utilización de mecanismos

alternos para la producción de las distintas reacciones que las hormonas puedan llevar a cabo.

La hormona se une mediante interacciones no covalentes con el receptor acoplado a la proteína G. Cuando se produce esta unión se producirá un cambio conformacional de algunos de los 7 dominios transmembranales, de manera que, cuando esto sucede, entra en juego la proteína G- un heterotrímero conformado por las subunidades α , β y γ , donde las subunidades $\beta\gamma$ se encuentran ancladas por medio de grupos prenilados, y la subunidad α cumple con la función de unión a un receptor-.

Con el cambio conformacional de los dominios transmembranales del receptor acoplado a la proteína G, se produce un intercambio entre GDP (guanosín difosfato), que posee la subunidad alfa, y GTP (guanosín trifosfato), lo que da como resultado que el complejo $\beta\gamma$ se disocie de la subunidad α , que ahora contiene GTP y se unirá a un efector, los cuales son muy diversos (adenilil ciclasa, canales de calcio, cGMP fosfodiesterasa, etc) conocidos como segundos mensajeros.

Como hay varios sistemas de señalización, me centraré en explicar el sistema de la adenilil ciclasa, que es uno de los más importantes en el ser humano.

La unión de la subunidad α -GTP a la adenilil ciclasa, cataliza la conversión de ATP en AMPc (segundo mensajero), éste se une a una molécula heterotetramérica, que consta de dos subunidades catalíticas y dos subunidades reguladoras, llamada proteína quinasa A (PKA). El AMPc se une a las dos subunidades reguladoras, por lo que la PKA se disocia, dejando así las subunidades catalíticas libres para que se lleve a cabo sus reacciones de fosforilación. Es importante decir que son 4 los AMPc necesarios para la disociación del tetrámero.

Las proteínas fosforiladas tienen efectos fisiológicos diversos como: secreción, transporte de iones, metabolismo de carbohidratos, crecimiento y replicación celular, etc.

Hay que tener presente que, después de esta cascada de reacciones, estos procesos deben regularse apropiadamente para mantener la homeostasis del organismo. Las fosfodiesterasas, fosfoproteínas fosfatasas y las proteínas G inhibitorias son los principales sistemas de regulación de la acción del segundo mensajero AMPc. En el caso de la proteína G inhibitorias que siguen el mismo que las proteínas G estimulantes, anteriormente explicado, sólo que la unión de la subunidad alfa-GTP al efector, frena la acción catalítica del efector.

En estos principios estimulantes e inhibitorios de los receptores acoplados a proteínas G, se basan muchos de los mecanismos de acción de diversos fármacos, además de diversas toxinas que causan patologías como el cólera, tosferina y difteria.

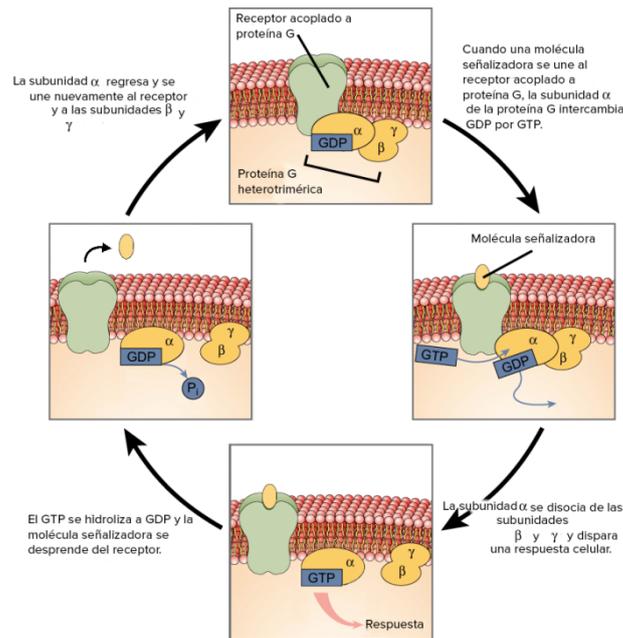


Imagen tomada de Khan Academy; modificada de "Moléculas señalizadoras y receptores celulares: Figura 5", de OpenStax College, Biología (CC BY 3.0)

Toxinas que actúan sobre las proteínas G

Las proteínas G han sido muy estudiadas en los últimos años. Algunas toxinas bacterianas han constituido una herramienta de gran utilidad para su estudio. Las bacterias, a través de millones de años de evolución, se han provisto de estrategias moleculares muy refinados para atacar a las células animales.

El cólera es una grave enfermedad causada por una bacteria: *Vibrio cholerae*. Esta bacteria se instala en el tubo digestivo y produce una terrible diarrea, dando por resultado un deshidratación tan grave que puede ocasionar la muerte.

La toxina del cólera, colerágeno, es una proteína compuesta de dos unidades funcionales: una subunidad B que se une a los gangliósidos del epitelio intestinal y una subunidad catalítica A que penetra en la célula. La subunidad A cataliza la modificación covalente de una proteína G; la subunidad α se modifica por la unión de una ADP-ribosa a un residuo de arginina. Esta modificación estabiliza la forma unida a GTP de $G\alpha$ bloqueando la molécula en la conformación activa. La proteína G activada, a su vez, activa la proteína quinasa A de forma continua. La PKA abre un conducto de cloro e inhibe la absorción de sodio por el intercambiador Na^+-H^+ , fosforilando el conducto y el intercambiador. El resultado de la fosforilación es una pérdida excesiva de $NaCl$ y de grandes cantidades de agua en el intestino.

Mientras que el cólera es el resultado de la actividad de una proteína G mantenida en su conformación activa, lo que hace que la vía de transducción de señales esté permanentemente activada, la tos ferina, es el producto de una situación opuesta. La toxina pertúsica también añade un grupo ADP-ribosa a una proteína $G\alpha$, en este caso

una proteína $G\alpha$ que inhibe la adenilato ciclasa, cierra los conductos de Ca^{+2} , y abre conductos de K^{+} . El efecto de esta modificación, sin embargo, es disminuir la afinidad de la proteína G por GTP, manteniéndola en la conformación inactiva.

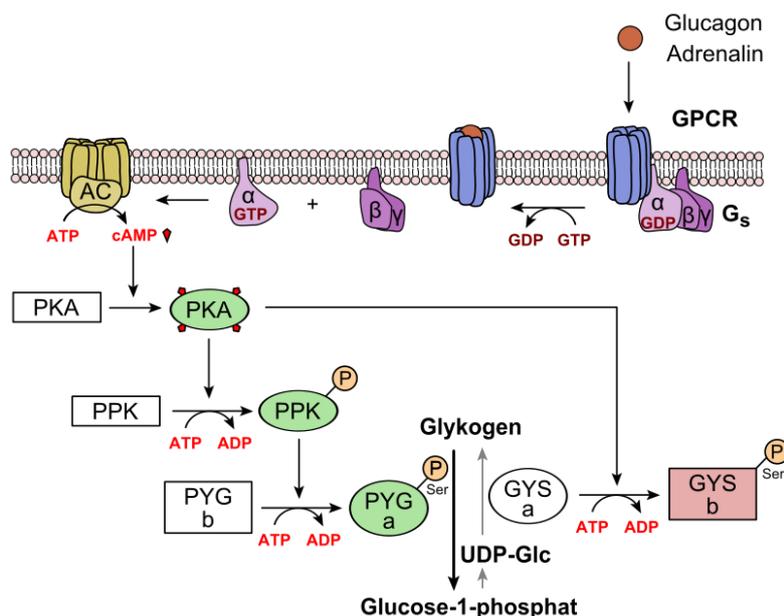
Mecanismo de transducción de señales de la adrenalina

La adrenalina, o también llamada epinefrina, es liberado por las glándulas suprarrenales, que se encuentran encima de los riñones. Una vez liberada al torrente sanguíneo se liga a receptores específicos de la superficie celular, provocando como resultado la reacción de alerta/ huida. Ésta reacción incrementa el latido cardíaco, ralentiza el movimiento intestinal, incrementa los niveles de glucosa en músculos e hígado, liberando glucosa en sangre.

Ahora bien, ¿cómo se produce? La adrenalina actúa como ligando, no penetra en la célula, se une al receptor 7TM, lo que induce una liberación de señales al citoplasma de las células.

La proteína G está formada por tres subunidades proteicas llamadas α , β y γ . En su forma inactiva las tres subunidades se encuentran unidas. La subunidad α es la que tiene el GDP. Cuando el receptor β – adrenérgico activa la proteína G, la subunidad α libera el GDP, pega GTP y luego se separa de las subunidades β y γ .

Cuando esto ocurre la subunidad α pierde su afinidad por el receptor, se disocia de él, y se mueve hacia otra proteína cercana, la adenilato ciclasa, que hasta el momento se encontraba en su forma inactiva y que ahora es activada, convirtiendo el ATP en AMP cíclico. El AMPc activa la proteína quinasa y se desencadena la cascada de fosforilaciones. La proteína quinasa cataliza la fosforilación de la fosforilasa b quinasa. La fosforilasa b quinasa-P fosforila a la fosforilasa b hasta la fosforilasa a, que es activa y degrada al glucógeno. La fosforilación del glucógeno fosforilasa promueve su activación y se desencadena la degradación del glucógeno.



Yikrazuul, 21 de febrero del 2010; regulación del metabolismo del glucógeno, (glucogenogénesis) iniciado por glucagón o adrenalina. Wikipedia.

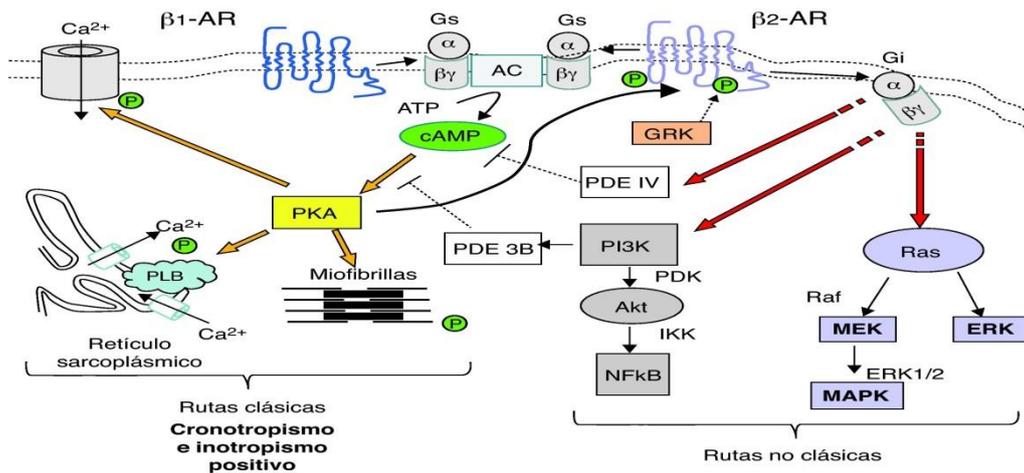
Mecanismo de acción de los fármacos

Las catecolaminas interactúan con dos grandes subtipos de receptores, α y β -adrenérgicos. Se ha demostrado la existencia de, al menos, tres tipos de receptores β -adrenérgicos. Los receptores β_1 y β_3 se localizan en la membrana postsináptica de los tejidos inervados, están bajo control neural y responden a la noradrenalina liberada desde los terminales simpáticos. Los receptores β_2 con frecuencia se localizan en tejidos o células que reciben una escasa inervación (útero, músculo esquelético, plaquetas, linfocitos) estando estimulados por las catecolaminas circulantes.

La noradrenalina liberada desde los terminales sinápticos se unen a los receptores β -adrenérgicos, activa la adenilato ciclasa, enzima que genera AMPc a partir de ATP. El AMPc activa, a su vez, una serina-treonina cinasa dependiente de AMPc, la proteína cinasa A (PKA), que fosforila diversas proteínas. En el corazón, la fosforilación de los canales de Ca tipo-L aumentan la entrada de calcio, la frecuencia y contractibilidad cardiaca y conducción a través del nódulo aurículo-ventricular. Además, la PKA aumenta la fosforilación de la troponina I, lo que acelera la interacción entre la actina y miosina, y la actividad de la ATPasa del retículo sarcoplasmático (SERCA2a), lo que incrementa la incorporación del Ca en su interior y acelera la velocidad de relajación durante la diástole. En la célula muscular lisa, la PKA fosforila la cinasa de las cadenas ligeras de miosina, lo que produce la relajación muscular y el fosfolambano, aumentando la incorporación de Ca^{+2} en el retículo sarcoplasmático; el resultado es una reducción de la concentración de calcio intracelular y la relajación celular.

Los β -bloqueantes se fijan a los receptores β -adrenérgicos e impiden la activación de la vía de señalización proteína G-adenilil ciclasa- AMPc- PKA por las catecolaminas. Como consecuencia, reducen los niveles celulares de AMPc e inhiben la activación de la proteína cinasa A y la fosforilación de diversas proteínas celulares.

Sin embargo, estudios recientes han demostrado la existencia de rutas alternativas o “ no clásicas” de señalización. Tales rutas están mediadas por una fosforilación de los β_2 adrenérgicos, que induce el cambio de la activación de las proteínas G_s (de estimuladoras) por las proteínas G_i (de inhibidoras). Dicho efecto está regulado principalmente por la PKA. Adicionalmente, las quinasas de los receptores acoplados a proteínas G (GRK) desempeñan un papel importante en la regulación de los β adrenérgicos. Así, la fosforilación del β adrenérgico activo y unido al agonista, por parte de las GRK, es un proceso rápido que favorece la desensibilización del receptor. En el corazón se expresa de manera abundante la GRK-2 y la GRK-5, y en menor medida la GRK.3 y GRK-6. El sitio de fosforilación de los β adrenérgicos en el extremo citoplasmático carboxilo-terminal es distinto de los que utilizan la PKA o PKC. Una vez fosforilado por la GRK, el β adrenérgico se une a β -arrestina, favoreciendo una inhibición estérica de la activación de las proteínas G_s .



D. Sanz-Rosa, Figura 2. Mecanismos moleculares de los $\beta 1$ y $\beta 2$ AR, imagen tomada de Elsevier. Año 2011.

Recientemente se ha descrito que las rutas de señalización “no clásicas” también pueden activar de acuerdo al modelo de los dos estados de activación de los receptores, es decir, que una fracción de los receptores $\beta 2$ adrenérgicos puede encontrarse en un estado conformacional de actividad espontánea y estar acoplados a la proteína G en ausencia de agonistas. Si nos centramos en lo que ocurre en los cardiomiocitos, el acoplamiento de los β adrenérgicos con la proteína G_i induce la activación de las rutas no clásicas que se resumen en: a) activación de la fosfodiesterasa 4 (PDE4), que bloquea la producción de AMPc, b) activación de la ruta de la PI3K (fosfatidil inositol 3 quinasa) y la expresión del factor de transcripción $NF-\kappa B$ (factor nuclear kappa beta) y la activación de Akt/ PKB (una de las rutas de supervivencia de reducción del proceso apoptótico). Hasta el momento hay una extensa información de los efectos de la activación del $NF-\kappa B$, entre los que destacan el aumento de las citoquinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, IL-18 e IL-13), el aumento del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y de proteínas de remodelado cardiaco que aumentan la actividad de la colagenasa (colágeno, fibronectina y metaloproteinasas de la matriz extracelular [MMP] y c) activación de las rutas de señalización de Ras/Raf/MEK/ERK (quinzas reguladas por señales extracelulares). En principio, la integración de estos mecanismos de señalización sería crítica en la regulación cardiaca, ya que la activación de estas quinzas podría iniciar procesos apoptótico, fibrótico e inflamatorio característicos de los corazones con insuficiencia cardíaca. Sin embargo, otros autores han sugerido que la activación de estas rutas podría conferir un papel cardioprotector y de salvación celular en situaciones patofisiológicas, donde los $\beta 2$ adrenérgicos participarían más que en situaciones fisiológicas.

Como actúan algunos fármacos sobre el receptor 7TM

Las funciones fisiológicas en las que las proteínas G están implicadas son muy variadas, como puede ser el control cardiaco, neurotransmisión, regulación hormonal, etc.

En el ámbito farmacológico muchas moléculas pueden servir como agonistas, agonistas inversos y antagonistas que modulan la actividad celular mediante la unión a los receptores acoplados a las proteínas de diferentes maneras para obtener respuestas específicas. El término agonista se reserva para los ligandos que se unen a un GPCR y estabilizan una conformación que activa la proteína G en el interior. Un agonista inverso es una sustancia que se une y estabiliza la forma inactiva del receptor. Un antagonista es un tipo de fármaco que al unirse al receptor no provoca respuesta biológica alguna, pero bloquea las respuestas mediadas por agonistas. De este modo inhibe la señalización mediada por GPCR mediante la prevención del cambio conformacional que activa la proteína G.

Esta es la base para el desarrollo farmacéutico y hace que los GPCRs sean muy importantes en los medicamentos. Los inhibidores son de gran valor farmacológico, como es el caso del propranolol y sus derivados β -bloqueantes, que se utilizan para tratar la hipertensión arterial, la angina de pecho, enfermedades cardíacas o tumores.

Otros compuestos farmacéuticos son los agonistas que activan, como por ejemplo, los receptores de la dopamina y la serotonina para aliviar la enfermedad de Parkinson, migraña y trastornos neuropsiquiátricos, o son agonistas inversos, que impiden la actividad basal de, por ejemplo, el receptor GABA involucrado en la memoria y el aprendizaje.

En el caso de la angiotensina, una hormona peptídica con un potente efecto vasoconstrictor, que provoca un aumento inmediato de la tensión arterial cuando se une a la GPCR y activa la vía de la proteína G heterotrimérica. Por tanto, los antagonistas del receptor de angiotensina están considerados como unos de los fármacos más importantes para el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares precisamente porque bloquean este efecto provocando una disminución de la tensión arterial. Sin embargo también, de manera simultánea, bloquean la señalización a través de la β -arrestina, la cual tiene efectos beneficiosos citoprotectores y antiapoptóticos. Por lo tanto, un ligando “sesgado” que bloqueara únicamente la activación de la proteína G y no la de la β -arrestina, en teoría debería ser un fármaco que permitiría controlar la tensión arterial manteniendo, al mismo tiempo, efectos de protección celular. Otra aplicación importante es el caso de los receptores opioides del sistema nervioso central. Es bien sabido que los ligandos agonistas del receptor n-opioide están entre los analgésicos más potentes que se conocen, sin embargo, presenta multitud de efectos indeseados como depresión respiratoria, estreñimiento y, sobre todo, la aparición de tolerancia, es decir, la necesidad de aumentar la dosis del fármaco para obtener el mismo efecto. Por tanto, el desarrollo de ligandos sesgados para que el receptor de n-opioide sea capaz de activar únicamente la vía de la proteína G heterotrimérica y no la de la β -arrestina, podría constituir un excelente punto de partida para obtener fármacos con un potente efecto analgésico pero carentes de los efectos secundarios típicos de los opioides.

Debido a este interesante potencial terapéutico, la industria farmacéutica ha comenzado a desarrollar fármacos basados en ligandos sesgados. Así, la compañía Trevena, una de las pioneras en este campo, tiene varias moléculas en su línea de desarrollo en fases tanto clínicas como preclínicas. Como por ejemplo, el compuesto TRV027, un ligando sesgado del receptor de la angiotensina II de tipo 1 que no bloquea la vía de la β -arrestina, es capaz de frenar el fallo cardíaco agudo y de controlar la tensión arterial mostrando, asimismo, capacidad antiapoptótica.

Se estima que un 50% de los medicamentos que pueden ir desde anti-histamínicos, beta-bloqueantes, anti-hipertensivos, antidepresivos, están vinculados al metabolismo celular controlado por los receptores acoplados a las proteínas G. Actualmente, se han identificado ciertos genes mutados, responsables de la enfermedad, que codifican precisamente a proteínas G. Lo mismo sucede en algunos casos en los que falla la acción de la hormona paratiroidea, pseudohipoparatiroidismo familiar. Resulta importante como funciona, entre otras razones porque algunas patologías que hoy en día nos preocupan, como el cáncer, tienen sus causas ligadas a fallos en estos sistemas reguladores de la información.

Conclusiones

Los receptores acoplados a la proteína G son, sin duda, una de las superfamilias más importantes como diana en el desarrollo de fármacos. Sin embargo, y a pesar del enorme avance en estos últimos años, aún queda mucho por investigar. En un futuro, con el avance del conocimiento de la estructura tridimensional de estos receptores, permitirá el desarrollo de nuevos fármacos que tratarán enfermedades que, hoy en día, carecen de terapias adecuadas.

Bibliografía

file:///C:/Users/mama/AppData/Local/Temp/S1889183711000419_S300_es.pdf

file:///C:/Users/mama/Desktop/bibliografia%20proyecto.pdf

file:///C:/Users/mama/Downloads/34%20bueno.pdf

<http://biblioteca.ucm.es/tesis/far/ucm-t25071.pdf>

http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/28/html/sec_6.html

<http://webs.ucm.es/info/biomol2/Tema%2001.pdf>

<http://www.biologia.edu.ar/celulamit/gp.htm>

<http://www.cardioteca.com/images/cardiologia-practica/recursos/bisoprolol/1-farmacologia-betabloqueantes.pdf>

<http://www.efn.unc.edu.ar/departamentos/quimica/Clases%20QuimBiol/Clase%2014%20Transduccion%20de%20Senales-9%202010.pdf>

<http://www.infobiologia.net/2017/03/receptores-acoplados-proteinas-g.html>

<http://www.telmeds.org/wp-content/uploads/2012/04/Receptores-acoplados-a-prote%C3%ADnas-G.pdf>

http://www3.uah.es/bioquimica/Tejedor/BBM-II_farmacia/R-T8-glucogeno.pdf

https://books.google.es/books?id=HRr4MNH2YssC&pg=PA402&lpg=PA402&dq=bordetella+pertussis+como+actua+en+el+receptor&source=bl&ots=LVqGJ-CibB&sig=c4fPOaJvoa_FGGr4i68oW2nM7OA&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi3hIzt8JDYAhXLWhQKHaozABIQ6AEIajAM#v=onepage&q=bordetella%20pertussis%20como%20actua%20en%20el%20receptor&f=false

https://books.google.es/books?id=wFWEimjnGr4C&pg=PA5&lpg=PA5&dq=transduccion+de+se%C3%B1ales+del+propanolol&source=bl&ots=MG0w1_KjKZ&sig=0KgyMEkUXBxPmIL4ZEsypZlgrds&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi2_62Yqs7XAhXIAXoKHQt0C_oQ6AEINDAF#v=onepage&q&f=false

<https://quimica-biologia-12-13.wikispaces.com/Nobel+2012.+Receptores+acoplados+a+prote%C3%ADnas+G>

https://translate.googleusercontent.com/translate_c?depth=1&hl=es&prev=search&rurl=translate.google.es&sl=en&sp=nmt4&u=https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3136002/&usg=ALkJrhjjHn9ObqgBhISC12lY06ifKI27A

<http://eprints.ucm.es/4493/1/T25071.pdf>