

13 DE OCTUBRE DE 2004

Canal proteico convierte vibraciones

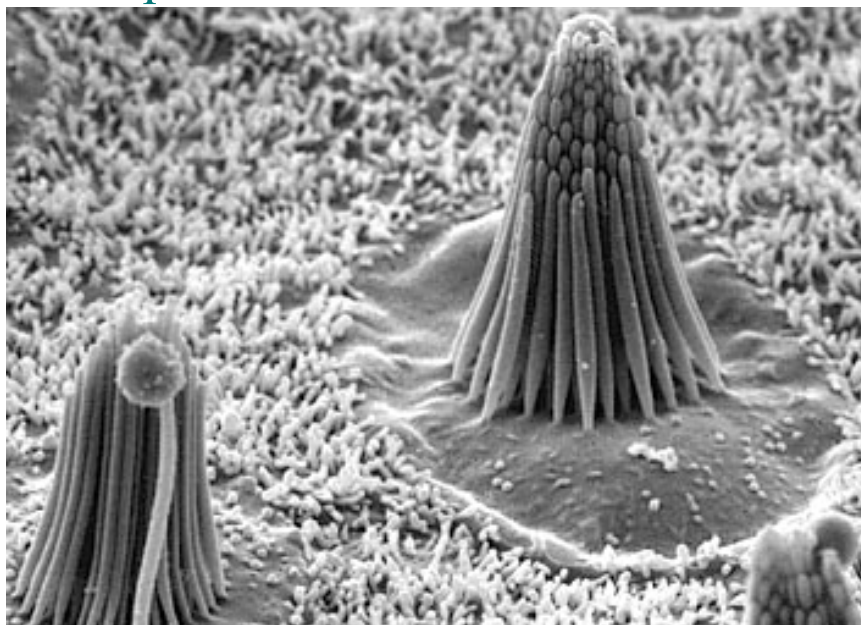


Image Title: Fotografía de microscopía de barrido electrónico de las células ciliadas del oído interno de una rana toro, que contienen el canal iónico TRPA1 de apertura mecánica. - Laboratorio de David P. Corey

Unos investigadores han identificado una molécula que puede transformar el estímulo mecánico de una onda sonora en una señal eléctrica reconocible por el cerebro. La proteína forma un canal iónico que se abre en respuesta al sonido, produciendo impulsos eléctricos que comunican el tono, el volumen y la duración de un sonido al cerebro.

Los científicos habían sospechado por mucho tiempo que tal molécula debería existir en los minúsculos cilios que se extienden desde la superficie de las células receptoras del oído interno. Actualmente, investigadores conducidos por el investigador del Instituto Médico Howard Hughes, David P. Corey, quien se encuentra en la Facultad de Medicina de Harvard, tienen varias líneas de evidencias de que, en vertebrados, este canal mecanosensible está formado por una proteína conocida como TRPA1. Ciertas características de la proteína sugieren que podría tener una doble o incluso una triple función en el oído interno, al actuar no sólo como canal iónico, sino también al formar un resorte que permite que la maquinaria de transducción se estire y

al incluso amplificar las señales auditivas entrantes. El trabajo ha sido publicado el 13 de octubre de 2004, en una publicación adelantada en Internet de la revista *Nature* .

"En la actualidad no existen sorderas conocidas que hayan sido mapeadas en la misma región cromosómica en la que se encuentra este canal, pero estamos realizando una búsqueda genética utilizando algunas familias con sorderas que no han sido mapeadas."

— **David P. Corey**

Las células que revisten el oído interno y que convierten las vibraciones mecánicas de sonidos en impulsos eléctricos se conocen como células ciliadas -llamadas así porque presentan un conjunto de entre 30 y 300 cilios, o pelos microscópicos, que se encuentran en la superficie de cada célula-. Finos filamentos llamados uniones de punta conectan los canales de los cilios adyacentes, para que cuando una vibración agite al conjunto de cilios, las uniones de punta se ajusten y tiren de los canales. Entre los 5 y 10 microsegundos posteriores a este movimiento, los canales de la célula ciliada se abren y permiten que los iones entren -el cual es el primer paso para enviar una señal sonora al cerebro-.

Según Corey, la rapidez de esta respuesta -que es unas 1.000 veces más rápida que la apertura de canales similares del ojo en respuesta a la luz- le indicó a los científicos que el canal debe responder directamente al estímulo mecánico, en lugar de depender de una señal de otra molécula. La velocidad de la respuesta se había determinado hace más de 20 años en el laboratorio del investigador del HHMI, A. James Hudspeth -pero desde ese entonces, nadie había podido identificar el canal proteico-.

En búsqueda de una molécula que pudiera formar el canal de la célula ciliada, los investigadores recurrieron a una familia de canales iónicos conocidos como TRPs, o canales de potenciales transientes (TRP, por sus siglas en inglés). "Pensábamos que sería probable encontrar a este canal en la familia TRP, porque muchos otros canales TRP están involucrados en la transducción sensorial", dijo Corey. "Miembros de esta familia son receptores de feromonas en mamíferos, están involucrados en la visión de insectos, en la audición de moscas o en el tacto de gusanos -había muchos otros canales TRP que parecían ser sensoriales-". Además, la selectividad y la conductancia de los TRPs se correspondían con lo que ya se conocía sobre el posible canal de la célula ciliada.

TRPA1 era un candidato particularmente bueno dentro de esta familia, dijo Corey, porque tiene una arquitectura similar a la de un canal TRP mecanosensible de la mosca de la fruta -molécula conocida como NOMPC, identificada por el investigador del HHMI Charles S. Zuker-. En otras partes

del sistema nervioso, sin embargo, el canal TRPA1 es activado por estímulos tales como temperaturas frías que causan dolor y productos químicos penetrantes como la mostaza, el aceite de canela y el wasabi, que parecían incompatibles con la activación mecánica en el oído.

La distribución de TRPA1 fue una de las primeras pistas de que TRPA1 realmente podía ser el canal que los investigadores estaban buscando. Encontraron que el gen *TRPA1* estaba expresado en el oído interno del ratón, incluyendo en las células ciliadas. Corey dijo que *TRPA1* se encontraba no sólo en el lugar justo para ser el canal que buscaban, sino que también se encontraba allí en el momento correcto. Cuando los investigadores analizaron la expresión génica de *TRPA1* en embriones de ratón en desarrollo, encontraron que el gen se activaba cuando el embrión tenía cerca de 16 días -justo un día antes de que las células ciliadas se volvieran mecánicamente sensibles-.

Luego, los científicos buscaron a TRPA1 dentro de la célula ciliada. En ranas y ratones, un anticuerpo TRPA1 marcado fluorescentemente se unió a los extremos de los cilios, donde se sabía que se ubicaban los canales mecánicamente activados. Esta localización de TRPA1 cambió, sin embargo, cuando los investigadores trataron las células ciliadas con un producto químico que daña la vía de señalización mecánicamente sensible.

Otros investigadores habían encontrado recientemente que si las uniones de punta de una célula ciliada se separan químicamente, a los pocos minutos, se eliminaba de los cilios la proteína de unión de punta caderina 23. Según Corey, esto sugiere que una vez que una célula ciliada detecta que su complejo de señalización ha sido dañado, recicla rápidamente los componentes de esa vía para que puedan ser reutilizados o reemplazados. “Entonces pensamos que si la proteína de unión de punta se retira cuando se separan las uniones de punta, quizá otras partes de la maquinaria de transducción también se retiren. Y si TRPA1 es el canal correcto, debería irse”. De hecho, TRPA1 desapareció cuando se eliminaron las uniones de punta -evidencia adicional de una función en esa vía de señalización-.

El siguiente paso fue determinar cómo funcionaban las células sin TRPA1, lo que los investigadores estudiaron interfiriendo con la producción de la proteína en embriones de pez cebra y en células ciliadas de ratones. Para estudiar la función, los investigadores sumergieron los embriones o las células de ratón en una solución que contenía un colorante -ya sea amarillo o rojo- que puede pasar a través del canal iónico. El colorante entró en las células normales, acumulándose y haciéndolas brillar. En las células donde TRPA1 se encontraba en menor cantidad, sin embargo, menos colorante pudo entrar en las células -lo que sugiere que sin TRPA1, no habría un canal por el cual la molécula pasaría a través de la membrana celular-.

“Una forma más directa de medir la sensibilidad mecánica de la célula es medir la respuesta eléctrica que se obtiene cuando se estimula la célula”, dijo Corey. Al colocar un microelectrodo en las células ciliadas de ratón, los científicos pudieron medir directamente la cantidad de corriente que

atravesaba los canales. Con niveles más bajos de TRPA1, el flujo de corriente disminuyó. En embriones de pez cebra, midieron el voltaje dentro del oído en desarrollo, y encontraron que el flujo de corriente también se reducía cuando los niveles TRPA1 eran bajos.

La evidencia de que TRPA1 desempeña una función integral en la conversión de un estímulo mecánico a un impulso que el cerebro puede interpretar, hace que a Corey le interese determinar si los defectos en TRPA1 podrían desempeñar una función en la sordera hereditaria. “En la actualidad no existen sorderas conocidas que hayan sido mapeadas a la misma región cromosómica en la que se encuentra este canal”, dijo, “pero estamos realizando una búsqueda genética utilizando algunas familias con sorderas que no han sido mapeadas”.

Además de la evidencia de que TRPA1 forma un canal compuerta mecánico en las células ciliadas, la estructura de la proteína sugiere que podría desempeñar otra función. Estudios biofísicos anteriores habían indicado que una estructura elástica que se estira, cuando se mueven los cilios de una célula ciliada, tiraba de los canales. Aunque se pensaba que las uniones de puntas podían realizar esta función, el reciente descubrimiento de la proteína de uniones de puntas, caderina 23, sugirió que su estructura era demasiado rígida para esta función. “Parte de la molécula TRPA1 consisten en una larga cadena de ankyrinas que se repiten, y pensamos que la ankyrina repetitiva en realidad forma el elemento elástico que había sido definido biofísicamente”, dijo Corey. Planea realizar experimentos adicionales para estudiar esta posibilidad.

Además, Corey sospecha que TRPA1 podría desempeñar una función en la amplificación de señales sonoras, proceso que aumenta la sensibilidad y mejora la habilidad de distinguir entre las distintas frecuencias. En mamíferos, las células ciliadas no sólo responden al sonido, sino que también amplifican unas 100 veces las vibraciones de sonidos bajos. Una hipótesis sobre cómo realizan esto, propuesta por primera vez por James Hudspeth, es que después de que los canales de transducción se abren con cada ciclo de sonido, éstos se cierran rápidamente, y la fuerza del cierre puede empujar el conjunto de cilios. Es como empujar a un niño en un columpio, los sucesivos empujones pueden originar una gran oscilación, al igual que los cilios amplifican el sonido. Además, células ciliadas diferentes amplifican frecuencias diferentes, de modo que a este mecanismo podría crear la sintonización precisa del oído que permite que discriminemos pequeñas diferencias en el tono. Si este modelo es cierto, TRPA1 también podría ser la proteína amplificadora.

Laboratorio de David P. Corey