

01 DE MAYO DE 2003

Investigadores descubren estructura de un interruptor natural

Unos investigadores han encontrado la respuesta a un importante interrogante biológico al descubrir el exquisito mecanismo mediante el cual los canales de la membrana celular perciben cambios de voltaje que hace que se abran o cierren por completo a una velocidad y precisión extraordinarias.

Los canales iónicos dependientes de voltaje son fundamentales para la función de los nervios y los músculos, y sin ellos el cerebro sufriría inmediatamente un colapso neuronal y el corazón se paralizaría.

Según los investigadores, que fueron conducidos por el investigador del Instituto Médico Howard Hughes Roderick MacKinnon, el descubrimiento podría llevar a una nueva clase de drogas para trastornos neurológicos, cardíacos y musculares que puedan ser capaces de ejercer influencias más sutiles en la actividad de los canales iónicos.

MacKinnon y sus colegas de la Universidad Rockefeller publicaron sus resultados en dos artículos en el número del 1 de mayo de 2003, de la revista *Nature*. Específicamente, los investigadores dedujeron la estructura y la función del mecanismo que detecta el voltaje de un canal de potasio de una arqueobacteria que crece a temperaturas cercanas al punto de ebullición de las aguas termales. Sin embargo, dijeron, que sin lugar a dudas el mecanismo también se aplica a canales de calcio y de sodio de detección de voltaje, y se encuentra presente en organismos que van desde las bacterias más antiguas hasta los humanos.

Los canales iónicos de potasio dependientes de voltaje son máquinas moleculares precisas que son fundamentales para propagar impulsos eléctricos en el cerebro y en el corazón. Los canales son proteínas grandes con un poro que perfora la membrana celular y está diseñado para sólo permitir el paso de iones potasio. Cuando un impulso eléctrico viaja a lo largo de un nervio, la carga de la membrana celular se modifica ¿el exterior se vuelve más negativo? activando a estos canales iónicos para que se abran y permitan que el potasio fluya hacia el exterior de la célula. Esta salida de potasio permite que la membrana vuelva a su estado de reposo y se prepare para el siguiente impulso.

Según MacKinnon ¿cuyo trabajo anterior ha revelado muchos detalles nuevos sobre la arquitectura y el funcionamiento interno de los canales de potasio? el

mecanismo de detección de voltaje continuaba siendo un misterio frustrante. "Se comprendía el principio general, que indicaba que el campo eléctrico de la membrana movía, de alguna manera, "cargas de apertura" en el canal que lo abrirían para permitir el flujo de potasio", dijo.

La identificación de la ubicación y la función de la estructura que lleva la carga seguía siendo un problema importante, dijo. "Por mucho tiempo, este ha sido un proyecto central para mí y para los miembros de mi laboratorio", dijo MacKinnon. "Hemos estado trabajando en esto durante casi seis años".

Experimentos indirectos realizados en otros laboratorios sugerían que el canal incluía una cierta clase de mecanismo de detección de voltaje escondida en la proteína que, con los cambios de carga de la membrana, se deslizaba hacia delante y hacia atrás para abrir o cerrar el canal. Sin embargo, la única forma definitiva de revelar el mecanismo, dijo MacKinnon, era obtener imágenes cristalográficas de rayos X de alta resolución de la estructura. Tales imágenes son producidas mediante la emisión de rayos X a través de cristales proteicos purificados de los canales y posterior utilización de una computadora para analizar los patrones de difracción de rayos X con el fin de deducir la estructura del canal.

La producción de los cristales necesarios para tales estudios presentó un desafío importante, dijo MacKinnon. "Las proteínas de las membranas son increíblemente difíciles de cristalizar porque se encuentran encajadas en esta membrana aceitosa, y para lograr que salgan de la membrana y cristalizarlas, se tiene que utilizar detergentes. Y estos detergentes forman una especie de "chaleco salvavidas" alrededor de las proteínas, que las ablanda y dificulta su cristalización.

"Además, teníamos otra dificultad para cristalizar la proteína del canal de potasio, porque tenía muchas piezas móviles, que realmente prevenían la cristalización", dijo. Después de años de probar muchas proteínas del canal de potasio y técnicas de cristalización diferentes, los investigadores finalmente encontraron una proteína de la arqueobacteria termófila *Aeropyrum pernix* que resultó ser más rígida y estable cuando era aislada?. También desarrollaron una técnica para unir anticuerpos monoclonales a las partes "flexibles" de la proteína, para crear puntos de unión para la cristalización de las proteínas.

Las primeras estructuras de rayos X logradas con la utilización de los cristales revelaron una sorpresa asombrosa sobre el canal de potasio dependiente de voltaje, dijo MacKinnon. En lugar de encontrarse en las profundidades de la proteína, las cargas de apertura de detección de voltaje parecían estar incorporadas en "paletas" en el exterior de la proteína.

A partir de la estructura de rayos X, los investigadores teorizaron que estas paletas cargadas positivamente se mueven desde el interior hacia el exterior de la membrana y viceversa, según la carga a lo largo de la membrana. Cuando la carga del exterior de la membrana se hacía negativa, las paletas eran atraídas y se movían hacia el exterior, abriendo el canal y permitiendo que el potasio fluyera hacia fuera, restaurando la carga de la membrana a su

estado de reposo. Y cuando la carga del interior de la membrana se hacía negativa, las paletas se movían hacia atrás, cerrando totalmente el canal.

De hecho, en el segundo artículo de *Nature*, MacKinnon y sus colegas probaron que las paletas funcionaban realmente de la forma sugerida por la estructura. En esos experimentos bioquímicos, utilizaron anticuerpos y otros productos químicos para sujetar las paletas en uno u otro lado de la membrana, probando que se movían de atrás hacia adelante a medida que la carga de la membrana cambiaba.

"Así que hemos demostrado que el voltaje de la membrana decide si el canal se abre, porque la paleta percibe el voltaje y va de un lado a otro", dijo MacKinnon. "Es un sistema de retroalimentación. El canal fija el voltaje de la membrana, pero el voltaje de la membrana decide si se abre el canal. Este es precisamente el tipo de sistema de retroalimentación que se necesita en los canales de sodio y potasio para propagar un impulso nervioso".

MacKinnon enfatizó que, aunque las paletas fueron encontradas en los canales de potasio, el mismo mecanismo de detección de voltaje probablemente exista en otros canales. "Los canales de potasio, sodio y calcio dependiente de voltaje son miembros de la misma gran familia y todos están relacionados evolutivamente", dijo. "Y lo que los relaciona es que tienen el mismo detector de voltaje. Por lo tanto, no hay ninguna duda de que este mecanismo está biológicamente conservado".

El descubrimiento del mecanismo de detección de voltaje podría tener usos clínicos importantes, dijo MacKinnon. "Pienso que estas paletas serán blancos importantes para compuestos que modulen los canales iónicos", dijo. "Las drogas actuales que bloquean el poro iónico sólo pueden inhibir el canal. Sin embargo, una molécula que se una a la paleta que detecta el voltaje podría mantenerla cerrarla o abierta". Dada la ubicuidad de los canales iónicos a lo largo del cuerpo, tales drogas probablemente resultarán útiles en una amplia serie de trastornos del sistema nervioso, musculares o cardíacos, dijo MacKinnon.