

El premio Nobel de Química 2003: la relación entre la estructura y el funcionamiento de canales en la membrana de las células

Marcia Hiriart y Juan Carlos Gómora

El premio Nobel de Química 2003 fue compartido por dos biólogos que han transformado el conocimiento sobre los poros dinámicos, denominados canales, que permiten el paso de iones y agua a través de la membrana celular: Roderick MacKinnon, de la Universidad Rockefeller en Nueva York, y Peter Agre, de la Universidad Johns Hopkins en Baltimore.

LAS ACUAPORINAS Y EL MOVIMIENTO DE AGUA EN LAS CÉLULAS

Cerca del 70 por ciento de la masa de los seres vivientes está constituida por agua. Esta agua no está estática, ni es inerte. En ella están disueltas o suspendidas casi todas las sustancias que los organismos utilizan y producen durante su funcionamiento: el movimiento del agua a través de las membranas celulares es fundamental para la vida. Sin embargo, este fenómeno no había sido entendido y había generado un largo debate.

Las membranas de las células están formadas por una doble capa de lípidos, que constituye una barrera al paso del agua. Sin embargo, la mayor parte de los científicos consideraban que el agua pasaba a través de las membranas por difusión simple. La posible existencia de poros por los que pasa el agua fue propuesta a mediados del siglo XIX; sin embargo no fue posible identificar estas moléculas hasta que Agre y su grupo

identificaron las acuaporinas, a finales de los años ochenta del siglo pasado.

Las acuaporinas son una familia de proteínas que atraviesa la membrana, formadas por una cadena de aminoácidos de peso molecular 28 mil y que funcionan como canales que permiten el paso del agua a través de ellas. Por cada acuaporina pueden pasar cerca de tres mil millones de moléculas de agua por segundo.

Agre y su grupo han caracterizado la selectividad de estos canales, analizando la estructura de cristales de membrana con microscopía de fuerza atómica y microscopía electrónica. Las imágenes de resolución atómica de las acuaporinas muestran que cada canal acomoda cerca de diez moléculas de agua al mismo tiempo en una sola fila.

Estos estudios permitieron explicar la fina selectividad de las acuaporinas, que son capaces de excluir otras moléculas parecidas, como los iones hidronio (H_3O^+), lo cual permite que la célula controle el potencial eléctrico a través de la membrana y el pH intracelular. El campo eléctrico de las proteínas fuerza a las cargas positivas de los iones hidrógeno en cada molécula de agua a orientarse hacia la parte externa de las células. Esta orientación repele a los protones de los extremos del canal y evita que crucen a través del mismo.

Las acuaporinas participan en diversas funciones en el organismo. Así, por ejemplo, el flujo de agua en los túbulos renales y en los conductos colectores del riñón

se realiza a través de acuaporinas de distintos tipos. En casos de escasez de agua, el riñón puede reabsorber, a través de las acuaporinas, hasta 99 por ciento del agua que filtra, lo cual evita la deshidratación, y la extraordinaria selectividad de las acuaporinas impide la acidosis metabólica, conservando el pH, al prevenir que junto con el agua se reabsorban protones extras.

Peter Agre nació en 1949, y es doctor en medicina por la Universidad Johns Hopkins, especializado en hematología. Ha desarrollado gran parte de su carrera en esta universidad, donde es profesor en el Departamento de Química Biológica desde 1993. Sus publicaciones durante la década de los ochenta analizan fundamentalmente las proteínas de superficie de los eritrocitos que determinan el tipo de sangre Rh positivo. En 1988 publicó en el *Journal of Biological Chemistry* el primer artículo sobre unas proteínas de peso molecular de 28 mil en eritrocitos y en células de los túbulos renales, que posteriormente caracterizó como canales de agua CHIP28, y en 1993 las denominó *acuaporinas*. Agre y su grupo de trabajo han descrito la estructura de las acuaporinas, lo que ha permitido entender su funcionamiento. A la fecha se han identificado más de 200 acuaporinas diferentes en tejidos de animales, plantas y organismos unicelulares.

CANALES Y IONES QUE GENERAN SEÑALES ELÉCTRICAS EN LOS SERES VIVOS

El trabajo de Roderick MacKinnon también se enfoca en un tipo de proteínas altamente especializadas de la membrana celular: los canales iónicos.

Al igual que las acuaporinas, los canales iónicos son diminutos poros hidrofílicos que se encuentran en la membrana de todas nuestras células, pero a diferencia de las primeras, éstos no permiten el paso de agua, sino de iones inorgánicos como potasio, sodio, calcio y cloruro. En respuesta a un estímulo, el canal se abre y permite el flujo de iones entre el interior y el exterior de la célula. Debido a que tales iones presentan carga eléctrica, su movimiento a través de la membrana produce corrientes eléctricas, mismas que dan origen a las señales con las que se comunican las neuronas y que preceden a cada uno de nuestros movimientos, sensaciones y pensamientos.



Figura 1. Dos de las cuatro subunidades que conforman el canal de potasio KcsA cristalizado de la membrana celular de *Streptomyces lividians*. La parte extracelular se ubica en la parte superior de la figura. El análisis de rayos X muestra que el arreglo de las cuatro subunidades idénticas en el plano de la membrana, forma un cono invertido alojando el filtro de selectividad (aminoácidos marcados en rojo, GYG) en el extremo exterior del poro. Reimpresa con permiso de *Science* 280, p. 74 (1998).

Los descubrimientos de MacKinnon representan un avance sin precedentes en el entendimiento de la biología y biofísica de los canales iónicos, labor que se inició con los trabajos pioneros de Hodgkin y Huxley en el axón gigante del calamar, hace ya más de 50 años

Utilizando como herramientas principales la cristalografía de rayos X y la electrofisiología, MacKinnon ha logrado dilucidar la estructura tridimensional de los canales iónicos, así como determinar las regiones de la proteína asociadas a las características distintivas del funcionamiento de un canal iónico. Los descubrimientos de MacKinnon representan un avance sin precedentes en el entendimiento de la biología y biofísica de los canales iónicos, labor que se inició con los trabajos pioneros de Hodgkin y Huxley en el axón gigante del calamar, hace ya más de 50 años. La labor de MacKinnon resulta ser más sorprendente si se considera que a su todavía joven vida de investigador (sólo tiene 47 años), la tercera parte de los casi 70 artículos que ha producido hasta ahora han sido publicados en *Nature* y *Science*, las dos revistas científicas de mayor impacto en el área.

Después de realizar estudios de mutagénesis durante diez años sin encontrar la respuesta de cómo funciona un canal de potasio, MacKinnon decidió que la cristalografía podría proporcionarle la respuesta que buscaba. El primer obstáculo que enfrentó fue aprender cristalografía por sí mismo, pues su formación era básicamente en biofísica. Aunado a ello, la cristalización de canales iónicos planteó un problema adicional, pues se trata de proteínas hidrofóbicas, es decir, proteínas que “odian” el agua. Para formar cristales, las proteínas deben ser purificadas en el laboratorio y producidas en cantidades considerables en un ambiente acuoso. La obtención de cristales es crucial para los estudios de difracción de rayos X. Por definición, los cristales contienen un patrón repetido de la misma molécula. La difracción de los rayos X de una sola molécula no proporciona información suficientemente confiable.

Así, después de haber invertido tiempo y esfuerzos considerables, MacKinnon y su grupo de investigación (constituido en un principio únicamente por su esposa y un investigador posdoctoral) lograron cristalizar proteínas de canales de potasio, y registraron sus patrones de difracción de rayos X, mismos que pueden ser interpretados matemáticamente por una computadora. Como resultado se obtiene una imagen tridimensional de la estructura de la molécula en el monitor de la computadora. La resolución de la estructura que MacKinnon ha obtenido de los canales de potasio es de 3.2 unidades

ángstrom (1 ángstrom equivale a una diezmillonésima de milímetro).

La estructura proteica básica de los canales iónicos (obtenida en gran medida con base en estudios bioquímicos y de biología molecular) consiste de una subunidad principal codificada por un solo gen, llamada alfa-1, la cual por sí sola forma el poro hidrofílico que permite el flujo de iones, y regiones especializadas que determinan la selectividad del canal (filtro de selectividad), así como la propiedad de detectar los cambios de potencial eléctrico (sensor de voltaje).

La estructura atómica revelada por los descubrimientos del grupo de MacKinnon ha respondido varias preguntas acerca de los mecanismos básicos de la función de los canales de potasio. No obstante, debido a la similitud que existe entre los canales iónicos, es probable que dichos mecanismos sean muy parecidos en otros miembros de esta clase de proteínas. En primer lugar, MacKinnon propuso un modelo que explica brillantemente el flujo de los iones potasio a través del canal, que se basa en las fuerzas de repulsión electrostática entre los iones potasio, mismas que se superponen a la fuerza de atracción entre los propios iones y el filtro de selectividad (región del canal que determina su preferencia por un ión en particular). El modelo también propone que, debido a las propiedades de los aminoácidos que forman el filtro de selectividad, otros iones como el sodio no pueden ingresar al filtro, aunque éstos sean de menor tamaño.

Más recientemente, MacKinnon propuso un nuevo modelo para explicar el mecanismo del sensor de voltaje, el cual revolucionó el área de estudio, al grado que muchos investigadores se mostraron renuentes a aceptarlo al principio. Los resultados de cristalografía ubicaron al sensor de voltaje en un plano perpendicular al eje del poro del canal (y no paralelo como se pensaba) y rodeando el perímetro externo del canal, en la interfase lípido-agua de la membrana. En respuesta a un estímulo despolarizante, el sensor de voltaje se desplaza desde la superficie intracelular de la membrana hasta la superficie extracelular, a través de la bicapa lipídica, semejando un “golpe de remo”, el cual ejerce una fuerza sobre la parte de la proteína que forma la pared del canal, alejándola del eje del poro, produciendo así la apertura del canal.

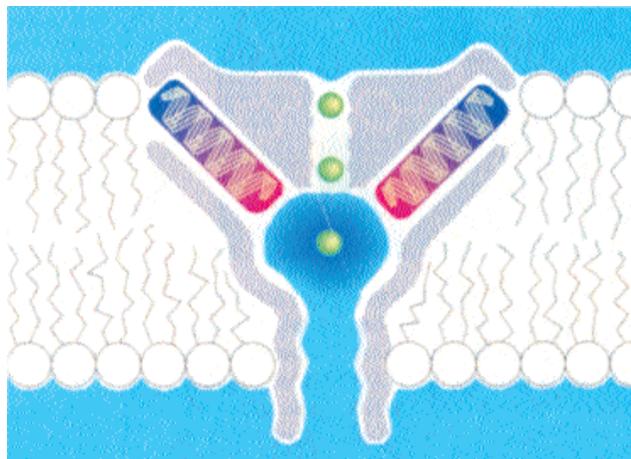


Figura 2. Modelo para explicar la estabilización del ión K^+ en medio de la membrana. Por una parte, un gran vestíbulo acuoso que estabiliza el catión (círculo verde) y lo aísla del ambiente membranar hidrofóbico. Por otro lado, las hélices están orientadas con las cargas negativas parciales (ilustradas en rojo) hacia la cavidad donde se encuentra el catión. Reimpresa con permiso de *Science* 280, p. 75 (1998).

Los trabajos de cristalografía realizados por MacKinnon son un avance muy significativo para el entendimiento de la relación entre la estructura de los canales iónicos y su funcionamiento y, al mismo tiempo, inician una nueva era en la que seguramente los resultados por venir serán todavía más sorprendentes.

El descubrimiento y la caracterización de los canales membranales ha merecido varios premios Nobel de Fisiología. Reciben ahora estos investigadores el premio Nobel de Química por el estudio de la relación entre la estructura de los canales y su funcionamiento. No cabe duda de que estos descubrimientos han revolucionado el conocimiento sobre los seres vivos.