

# LOS RECEPTORES NICOTÍNICOS DE ACETILCOLINA Y LAS $\alpha$ -CONOTOXINAS\*

Estuardo López Vera

## RESUMEN

Los caracoles marinos del género *Conus*, utilizan venenos para la captura de sus presas. Sus venenos están compuesto por un vasto número de toxinas. Estas toxinas, que se conocen como conotoxinas, son usualmente péptidos pequeños, que selectivamente se unen a diferentes blancos moleculares, particularmente a receptores y canales iónicos; entre otros a los receptores nicotínicos de acetilcolina. El estudio de estas conotoxinas ( $\alpha$ -conotoxinas) ha sido útil para entender el papel fisiológico de estos receptores.

**PALABRAS CLAVE:** Caracoles marinos, receptores nicotínicos de acetilcolina, conotoxinas.

## ABSTRACT

Cone snails (*Conus*) are marine gastropods that use venom as the major weapon for prey capture. Their venoms are composed by a vast number of specialized toxins that selectively target particular receptors and ion channels; among others, the nicotinic acetylcholine receptors. Studies of conotoxins ( $\alpha$ -conotoxins) have been useful for understanding the physiological role of these receptors.

**KEY WORDS:** Cone snails, nicotinic acetylcholine receptors, conotoxins.

## INTRODUCCIÓN

Diversos tipos de organismos tales como víboras, arañas, insectos, escorpiones y caracoles producen venenos que contienen diferentes toxinas que les permiten paralizar o matar a sus presas. Un solo veneno puede contener varias toxinas letales cuyos mecanismos de acción se basan en interacciones con receptores de neurotransmisores, efectos en canales iónicos y alteraciones en la actividad de diferentes enzimas. Tales toxinas han servido en gran medida como herramientas moleculares para entender el funcionamiento de los sistemas nervioso y muscular, principalmente de mamíferos. Además, existe la esperanza que el estudio minucioso de las toxinas pueda proveer análogos con propiedades terapéuticas o pesticidas.

Los estudios realizados en tratar de dilucidar los mecanismos de acción de diversos venenos datan desde principios del siglo pasado. Dentro de éstos, destacan los estudios clásicos realizados por Claude Bernard con el uso del curare (sustancia obtenida de la planta *Chondrodendron tomentosum* y usada por los jíbaros del Amazonas en sus flechas para paralizar a sus presas) en la respuesta de la contracción muscular, donde describe que es un supresor de la respuesta en la entonces llamada sustancia receptiva que mas tarde J. N. Langley la acuño con el nombre de receptor, término que aún prevalece hoy en día. El uso de otras toxinas como son las llamadas  $\alpha$ -neurotoxinas (i.e  $\alpha$ -bungarotoxina) de víboras han sido muy útiles para caracterizar al receptor nicotínico de acetilcolina (1, 2).

La designación de  $\alpha$ -toxina se debió a la velocidad de movimiento de dos bungarotoxinas en los experimentos de electroforesis en almidón, posteriormente el sufijo  $\alpha$  fue usado para designar el sitio de acción post-sináptico.

## RECEPTORES NICOTÍNICOS DE ACETILCOLINA

Existen dos tipos de receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) en vertebrados: los tipos muscular que se encuentran en la parte post-sináptica en la placa neuromuscular y los tipos neuronal presentes tanto pre como post-sinápticamente en el sistema nervioso periférico y central (3, 4).

Se sabe que ambos tipos están constituidos por 5 subunidades homólogas formando un poro central por el cual conducen cationes, cuan-

\*Recibido: 1 de abril de 2009 Aceptado: 10 noviembre de 2009

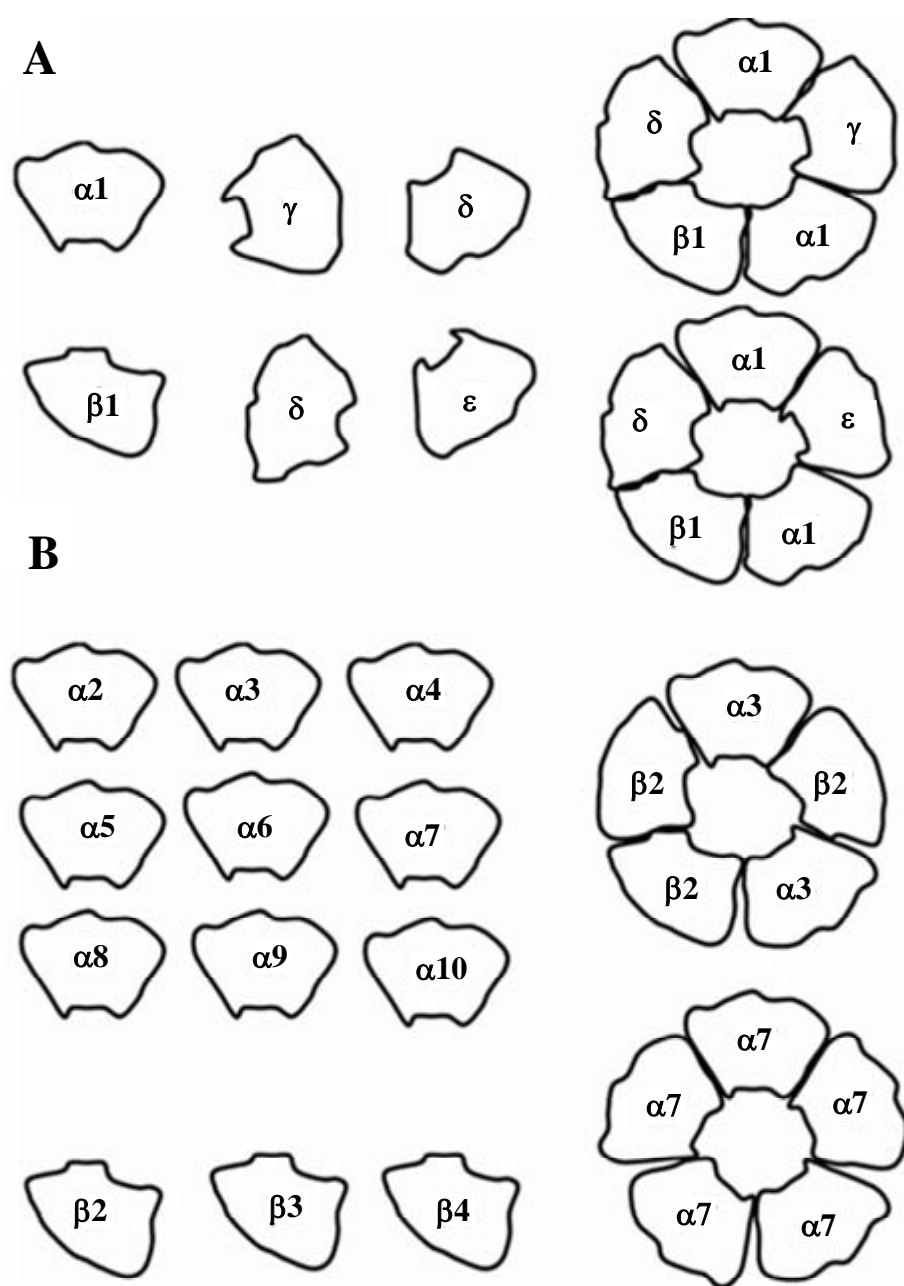
Unidad de Ecología Marina. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. C.P. 04510, México D.F. Tel: 5623-0222 ext. 45375. Correo E: vera@icmyl.unam.mx

do se une su ligando natural (acetilcolina). En el caso de los receptores musculares estas subunidades son  $(\alpha_1)_2\beta_1\gamma\delta$  en músculo fetal, con la sustitución de la subunidad  $\gamma$  por la subunidad  $\varepsilon$  en el adulto. A diferencia de éstos, los receptores neuronales sólo están constituidos por combinaciones de subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ , siendo la subunidad  $\alpha$  donde se encuentra el sitio de unión de acetilcolina y con ello de la activación del canal. Sin embargo, nueve subunidades  $\alpha$  ( $\alpha_2$ - $\alpha_{10}$ ) y tres subunidades  $\beta$  ( $\beta_2$ - $\beta_4$ ) han sido clonadas. Por lo que diferentes subunidades de nAChR pueden combinarse de varias maneras, con propiedades farmacológicas y electrofisiológicas distintas (Fig. 1).

### CONOTOXINAS

Durante los últimos 30 años, se le ha dado un particular interés al estudio de los componentes del veneno de los caracoles marinos de la superfamilia Conoidea, en especial al de los caracoles del género *Conus*, que son uno de los grupos marinos con mayor éxito hoy en día, ya que se conocen alrededor de 500 especies. El veneno de cada caracol está constituido por 50 a 200 péptidos, todos con la característica de ser biológicamente activos. Muchos de estos péptidos están formados de 6 a 40 residuos de aminoácidos, pero la mayoría contiene de 12 a 30. Hasta la fecha, han sido aislados y caracterizados, más de 100 péptidos de diferentes especies de *Conus*, con propiedades diversas en cuanto a las interacciones con sus blancos.

Los blancos de acción de estos venenos son canales iónicos y/o receptores muy específicos y las toxinas, llamadas conotoxinas, pueden discriminar entre receptores muy similares, característica que las hace ser muy útiles en la investigación farmacológica a diferencia de muchas otras drogas, que interactúan



**Figura 1.** Subunidades de nAChRs y ejemplos de algunas configuraciones funcionales. A. Representación de las 6 subunidades individuales que conforman el subtipo muscular y los dos subtipos fetal y adulto representados en forma de pentámero. B. Las diferentes subunidades tanto  $\alpha$  como  $\beta$ ; se ejemplifica en la forma de homómero el subtipo neuronal  $\alpha_7$ .

con más de un tipo de receptor. Así mismo, estos venenos son prácticos para el estudio de la interacción ligando-receptor a nivel de biología molecular. Esto ha llevado a clasificarlos en diferentes familias farmacológicas, por mencionar algunas se tienen las familias: alfa, mu, omega y kappa, antagonistas de

nAChR, canales de sodio, canales de calcio y canales de potasio respectivamente (5).

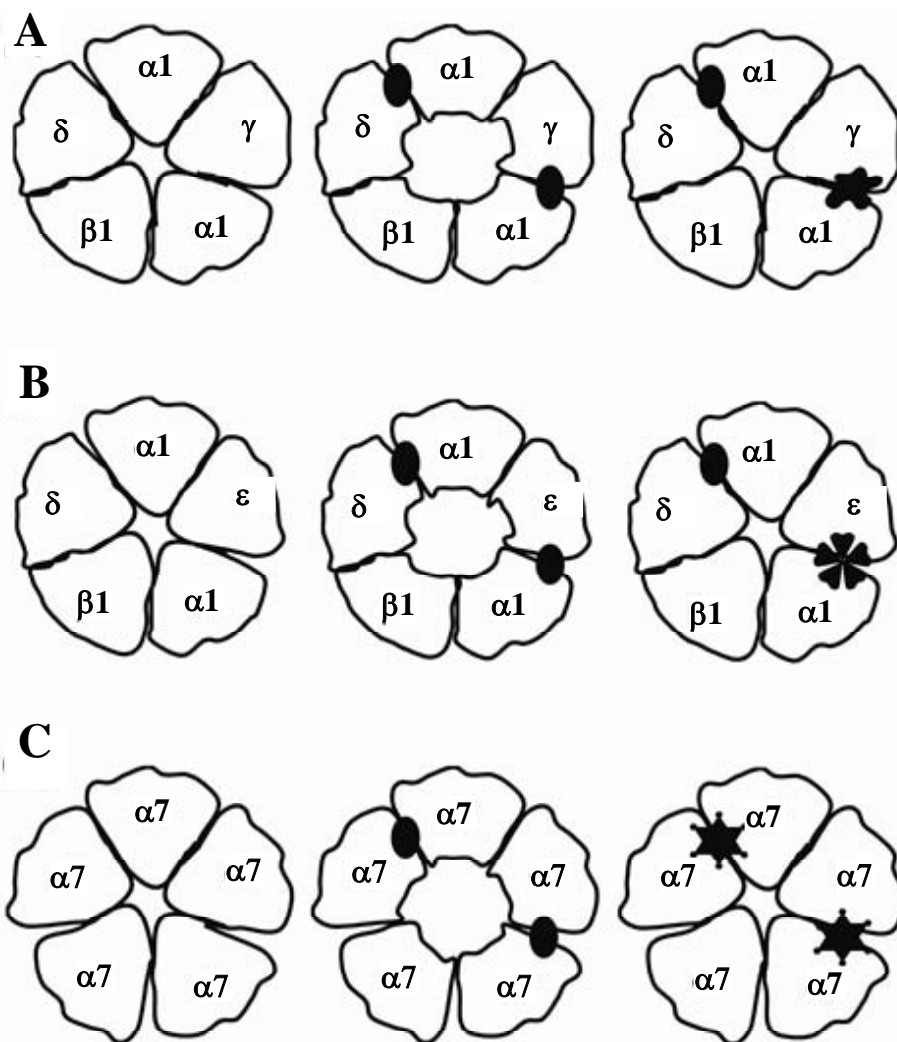
### $\alpha$ -CONOTOXINAS

Las  $\alpha$ -conotoxinas han sido muy estudiadas, por el alto grado de especificidad que presentan por sus blancos moleculares, los nAChRs. La es-

pecificidad de estas  $\alpha$ -conotoxinas se debe a que son antagonistas competitivos, esto implica que actúan sobre el sitio de unión donde interacciona el ligando natural para abrir el canal iónico, que sería en la interfase entre dos subunidades  $\alpha$  o en la interfase entre una subunidad  $\alpha$  y otra cualquiera, por ejemplo  $\alpha 1\gamma$ ,  $\alpha 1\epsilon$ ,  $\alpha 7\alpha 7$  y  $\alpha 3\beta 4$ . La  $\alpha$ A-OIVB conotoxina es específica por la interfase  $\alpha 1\gamma$  y la  $\alpha$ A-EIVA conotoxina por la interfase  $\alpha 1\epsilon$  para el tipo muscular de nAChR. Existen otras conotoxinas ( $\alpha$ -MI) que no pueden diferenciar entre estas dos interfaces y la inhibición es solamente sobre la interfase  $\alpha 1\delta$ , por lo cual el bloqueo sería para ambos subtipos, adulto y fetal. Además de estas  $\alpha$ -conotoxinas competitivas, hay las que no son antagonistas competitivos de los nAChRs y la forma de actuar es mediante la oclusión del poro ( $\psi$ -conotoxinas) (6-9).

Para el caso de  $\alpha$ -conotoxinas que inhiben los nAChRs de tipo neuronal, tenemos como representantes a dos  $\alpha$ -conotoxinas  $\alpha$ -ImI y  $\alpha$ -ImII, aisladas ambas del caracol *Conus imperialis*, estas toxinas son péptidos constituidos por 12 aminoácidos y difieren entre ellas por solo 3 aminoácidos (10). Ambas  $\alpha$ -conotoxinas son inhibidoras del subtipo  $\alpha 7$  de los nAChRs; la  $\alpha$ -ImI inhibe de manera competitiva, mientras que  $\alpha$ -ImII es no competitiva. Estudios de mutagénesis sobre las subunidades  $\alpha$  y sustituciones de algunos de los aminoácidos en  $\alpha$ -ImII, en especial la arginina 6, sugieren que el sitio de unión es en la parte extracelular del receptor y no en el poro (11). Recientemente se caracterizó la conotoxina  $\alpha$ -RgIA, ésta conotoxina es única en el sentido que bloquea de forma específica y potente al subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  de los nAChRs (Fig. 2; Tabla 1) (12).

Como puede observarse, las  $\alpha$ -



**Figura 2.** Los sitios de unión del ligando natural y algunas  $\alpha$ -conotoxinas. Cada panel (A y B) muestra el subtipo muscular fetal y adulto de los nAChRs respectivamente. C. es la representación del subtipo neuronal. En ausencia de acetilcolina (óvalo negro) los receptores están cerrados (columna izquierda). Cuando se unen dos moléculas de acetilcolina un proceso de apertura ocurre (columna de en medio). La columna de la derecha se muestra el efecto de diferentes conotoxinas. Los mecanismos de acción de éstas es de manera competitiva.

conotoxinas son poderosas herramientas en el propio estudio de los nAChRs, ya que ayudan a definir los acontecimientos y mecanismos moleculares en los que están involucrados.

### POSIBLES USOS TERAPÉUTICOS o DE DIAGNÓSTICO

El estudio de los venenos de caracoles marinos de la superfamilia Conoidea nos ofrece una gran gama de posibles fármacos para el trata-

miento de enfermedades que afectan a los humanos o bien como herramientas de diagnóstico.

Diversas evidencias experimentales mencionan la participación de los nAChRs en procesos de dolor. El subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  se sabe que se expresa en células pilosas del oído interno, en neuronas en el asta dorsal de la médula espinal, en queratinocitos de la piel y en linfocitos. Al momento de sufrir una lesión hay un incremento de células del sistema inmunológico

en la zona lastimada. Suministros de la  $\alpha$ -conotoxina RgIA en modelos de dolor en ratón, han demostrado que este reclutamiento de células del sistema inmune se ve reducido y presenta propiedades analgésicas (13).

El rabdomiosarcoma es una forma común de un tipo de tumor en tejido blando en niños. En esta patología se expresa el subtipo muscular fetal de nAChR y ha sido propuesta la subunidad  $\gamma$  como un marcador de diagnóstico para poder diferenciar esta forma de neoplasia maligna de otros tumores o bien del tejido normal. Debido a que la conotoxina  $\alpha$ A-OIVB presenta una alta especificidad por la interfase  $\alpha 1\gamma$ , ésta podría ser útil para este propósito (14).

TABLA 1

**Nombre, fuente de obtención y subtipo de acción para los nAChR de algunas alfa conotoxinas**

Toxina	Especie	Subtipo
$\alpha$ -MI	<i>C. magus</i>	$\alpha 1\delta >>> \alpha 1\gamma$
$\alpha$ -MII	<i>C. magus</i>	$\alpha 3\beta 2 = \alpha 6\beta 2\beta 3$
$\alpha$ -SI	<i>C. striatus</i>	$\alpha/\delta, \alpha/\gamma$
$\alpha$ -EI	<i>C. erminus</i>	$\alpha 1\delta = \alpha 1\delta$
$\alpha$ -ImI	<i>C. imperialis</i>	$\alpha 7$
$\alpha$ -ImII	<i>C. imperialis</i>	$\alpha 7$
$\alpha$ -GI	<i>C. geographus</i>	$\alpha\delta, \alpha\gamma$
$\alpha$ -EpI	<i>C. episcopatus</i>	$\alpha 7, \alpha 3\beta 4$
$\alpha$ -AuIB	<i>C. aulicus</i>	$\alpha 3\beta 4$
$\alpha$ -GIC	<i>C. geographus</i>	$\alpha 3\beta 2$
$\alpha$ -GID	<i>C. geographus</i>	$\alpha 7, \alpha 3\beta 2, \alpha 4\beta 2$
a-PIA	<i>C. purpurascens</i>	$\alpha 6\beta 2\beta 3 > \alpha 3\beta 2$

## REFERENCIAS

- Bernard C (1857) Legon sur les effects des substances toxiques et medicamenteuses. París, J B Bailliere et Fils, p 488.
- Langley JN (1905) On the contraction of muscle, chiefly in relation to the presence of "receptive substances". Part IV. The effect of curari and of some other substances on the nicotina response of the sartorius and gastrocnemius muscles of the frog. J Physiol 33:73-108.
- Changeux JP, Devillers-Thiéry A, Chemouilli P (1984) Acetylcholine receptor: an allosteric protein. Science 225:1335-1345.
- Nirthanan S, Gwee MC (2004) Three-finger alpha-neurotoxins and the nicotinic acetylcholine receptor, forty years on. J Pharmacol Sci 94:1-17.
- López-Vera E, Aguilar Ramírez MB, Heimer de la Cotera E (2006) Toxinas de caracoles marinos del Género *Conus*. Ciencia 57:47-51.
- Teichert RW, Rivier J, Torres J, Dykert J, Miller C, Olivera BM (2005) A uniquely selective inhibitor of the mammalian fetal neuromuscular nicotinic acetylcholine receptor. J Neurosci 25:732-6.
- Jacobsen R, Yoshikami D, Ellison M, Martinez J, Gray W R, Cartier GE, Shon KJ, Groebe DR, Abramson SN, Olivera BM, McIntosh JM (1997) Differential targeting of nicotinic acetylcholine receptors by novel alphaA-conotoxins. J Biol Chem 272:22531-22537.
- McIntosh JM, Santos AD, Olivera BM (1999) Conus peptides targeted to specific nicotinic acetylcholine receptor subtypes. Annu Rev Biochem 68:59-88.
- Shon KJ, Grilley M, Jacobsen R, Cartier GE, Hopkins C, Gray WR, Watkins M, Hillyard DR, Rivier J, Torres J, Yoshikami D, Olivera BM (1997) A noncompetitive peptide inhibitor of the nicotinic acetylcholine receptor from *Conus purpurascens* venom. Biochemistry 36:9581-9587.
- Ellison M, Gao F, Wang HL, Sine SM, McIntosh JM, Olivera BM (2004) Alpha-conotoxins ImI and ImII target distinct regions of the human  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor and distinguish human nicotinic receptor subtypes. Biochemistry 43:16019-16026.

11. Ellison M, McIntosh JM, Olivera BM (2003) Alpha-conotoxins Iml and ImII. Similar alpha 7 nicotinic receptor antagonists act at different sites. *J Biol Chem* 278:757-764.
12. Ellison M, Haberlandt C, Gomez-Casati ME, Watkins M, Elgoyhen AB, McIntosh JM, Olivera BM (2006) Alpha-RgIA: a novel conotoxin that specifically and potently blocks the alpha9alpha10 nAChR. *Biochemistry* 45:1511-1517.
13. Vincler M, Wittenauer S, Parker R, Ellison M, Olivera BM, McIntosh JM (2006) Molecular mechanism for analgesia involving specific antagonism of alpha9alpha10 nicotinic acetylcholine receptors. *Proc Natl Acad Sci* 103:17880-17884.
14. Teichert RW, Rivier J, Torres J, Dykert J, Miller C, Olivera BM (2005) A uniquely selective inhibitor of the mammalian fetal neuromuscular nicotinic acetylcholine receptor. *J Neurosci* 25:732-736.