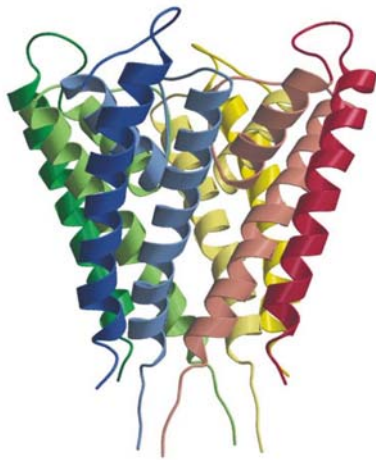


ARTÍCULO DIVULGATIVO: *Canales iónicos: una pequeña degustación para empezar*

Dr. Antonio Felipe

Laboratorio de Fisiología Molecular (<http://www.bq.ub.es/MP/recerca.html>)
Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Institut de Biomedicina (IBUB),
Universitat de Barcelona



Los canales iónicos son proteínas que se encuentran en las membranas celulares. Mediante la apertura de un poro conducen iones generando una actividad eléctrica que controla el potencial de membrana. Su actividad es fundamental en la generación del potencial de acción cardíaco o la transmisión nerviosa. Además intervienen en numerosos procesos biológicos tan diversos como la activación y la proliferación celular, el control del volumen celular o la secreción de insulina. Numerosas patologías están relacionadas con estas proteínas y se engloban dentro del término Canalopatías.

Importancia fisiológica

Querría empezar comentando que pocas áreas científicas tan específicas han dado tantos premios Nobel: 1963, John C. Eccles, Alan L. Hodgkin y Andrew F. Huxley, Fisiología y Medicina: “*por sus descubrimientos sobre los mecanismos iónicos envueltos en la excitación e inhibición de las porciones periféricas y centrales de la membrana de las células del sistema nervioso*”; 1991, Erwin Neher y Bert Sakmann, Fisiología y Medicina: “*por sus descubrimientos sobre la función de los canales iónicos en las células*”; 2003, Peter Agre y Roderick MacKinnon, Química: “*por sus descubrimientos sobre canales en la membrana celular*”.

La vida a nivel celular se basa en una lucha constante por mantener un desequilibrio iónico entre la célula y su entorno. La célula está recubierta de una membrana lipídica que es impermeable a los iones. Este desequilibrio genera el potencial de membrana. La permeabilidad iónica se debe a los transportadores y a los canales iónicos. Los primeros intervienen en la generación del desequilibrio y los canales juegan a favor de gradiente electroquímico sirviendo de poros para que los iones fluyan a través de la membrana. Las diferencias entre las concentraciones iónicas externas e internas generan un potencial de membrana electronegativo. Los iones (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^- , etc..) son cargas eléctricas, eso quiere decir que tenemos más cargas negativas dentro de la célula que fuera (o más positivas fuera que dentro). La proteína $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPasa mantiene en desequilibrio las concentraciones de Na^+ y de K^+

generando electronegatividad y gradiente. Con este gradiente trabajan los canales de Na^+ y de K^+ ya que unos entran Na^+ y otros extraen K^+ . De esta misma manera se pueden entender los movimientos de otros iones como el Ca^{++} y el Cl^- que también disponen de canales específicos. Caso aparte es el agua.

Los canales iónicos son proteínas integrales de las membranas que generan poros a través de ellas. Estas macroestructuras se abren, bien por la unión específica de ligandos, bien por cambios de voltaje en la membrana. Se encuentran en todas las membranas celulares y son importantes en procesos tan diversos como la excitación muscular y nerviosa, la secreción hormonal, la transducción sensorial, el aprendizaje y la memoria, el crecimiento celular, el balance hídrico y la homeostasis salina y la regulación de la presión sanguínea (1). Una función anómala ocasiona graves trastornos fisiológicos cuya sintomatología se engloba bajo el término *Canalopatías* (2).

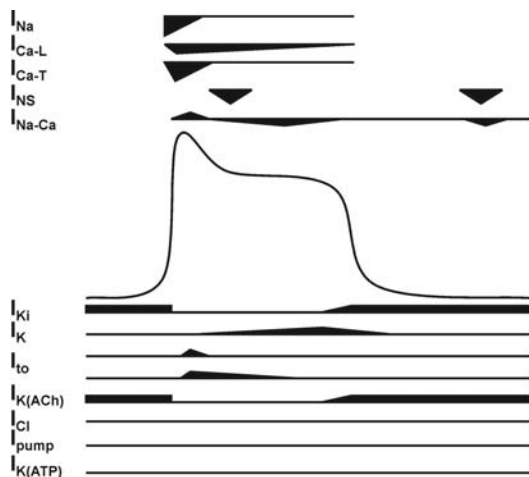


Figura 1. Potencial de acción cardíaco. Las actividades de los canales iónicos que lo generan se superponen en cada una de las fases.

Tanto en el potencial de membrana de las células nerviosas

como en el potencial de acción cardíaco la secuencia de acontecimientos normalmente se inicia mediante una apertura de canales de Na^+ . Esto se produce por cambios en el potencial de membrana o por la acción de ligandos, como en el caso de los neurotransmisores. La entrada de Na^+ que despolariza la membrana activa los canales de potasio que, sacando K^+ , tienden a restablecer el potencial de membrana. Esto genera la transmisión del potencial en un axón neuronal o el potencial de acción cardíaco. Como consecuencia de la salida de K^+ se puede producir una apertura de canales de Ca^{++} . Los canales de cloro normalmente juegan un efecto compensatorio a los de K^+ e intervienen en procesos de control del volumen celular.

Estructura y diversidad

Los canales iónicos son proteínas con diversos dominios transmembrana y que mediante una estructura oligomérica forman un poro. Este poro presenta un filtro de selectividad encargado de discernir la carga, el tamaño y la cubierta de hidratación del ión. Existen grandes grupos de canales iónicos para los diferentes iones y en algunos casos, como es el potasio, diferentes superfamilias. Así pues, tenemos dependientes de voltaje para el Na^+ (Nav), K^+ (Kv), Ca^{++} (Cav) y Cl^- (ClC); de K^+ dependientes de Ca^{++} (KCa); de K^+ de rectificación anómala (Kir); de K^+ con dos poros (K2p); para cationes monovalentes y dependientes de nucleótidos cíclicos (CNG); catiónicos no selectivos para Na^+ y Ca^{++} (TRP); de Cl^- independientes de voltaje e implicados en la fibrosis cística (CFTR); epiteliales de Na^+ (ENaC); de Ca^{++} dependientes de ligando; aquaporinas y, finalmente, receptores que actúan como canales iónicos dependientes de ligando como el de

acetilcolina (Na^+), glutamato (cationes), glicina (aniones) y el de GABA_A (aniones). La estructura varía entre las diferentes familias pero en muchos casos existe un denominador común. Los Nav, Cav, Kv, KCa, CNG y TRP constan, mayoritariamente, de seis

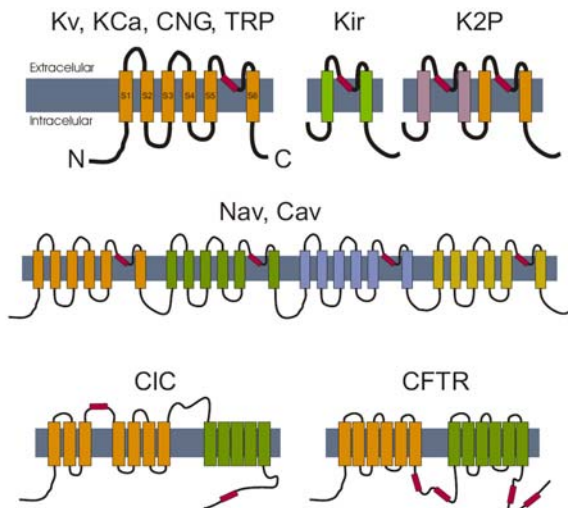


Figura 2. Diversas topologías de los canales iónicos.

dominios transmembrana. Entre los dominios S5 y S6 se encuentran las secuencias que constituyen el poro y el filtro de selectividad. En la mayoría de ellos, el S4 presenta una serie de aminoácidos cargados positivamente que actúan de sensor de voltaje, detectando los cambios en el potencial de membrana. El complejo está formado por un tetrámero. Mientras que los Kv1-12 y KCa1-3 están formados por 4 subunidades que pueden estar codificadas por distintos genes (estructuras homo o heteroméricas), los canales de Na^+ (Nav1.1-1.9) y Ca^{++} (Cav1-7) están compuestos por un único producto génico que genera toda la estructura proteica. Caso aparte son los canales de Cl^- dependientes de voltaje (CLC-0-7). Éstos poseen una topología distinta formada hasta por 13 dominios transmembrana y los oligómeros por solo dos unidades. En el grupo de los

canales de K^+ también existen excepciones. Así pues, los de rectificación anómala (Kir1-6) presentan solo los dominios S5-S6. También forman tetrámeros. Finalmente, los K2p poseen dos estructuras Kir en tandem. Los canales TRP, mediando mayoritariamente la conducción de cationes divalentes como el Ca^{2+} , presentan una estructura similar a los Kv. Estas proteínas, que se activan débilmente por voltaje, responden a la exposición de sustancias químicas, interviniendo en sensaciones tales como el dolor, el frío o el calor. Algunos se activan con *capsaicina*, una sustancia que se encuentra en la guindilla, e intervienen en la sensación de calor cuando se come picante. En cambio, otros responden al frío, y se activan con el *mentol*, produciendo la sensación de frescor. Existe mucha más diversidad entre los otros grandes grupos de canales que hace que su extensión sea imposible de abarcar en este artículo (1,2).

Medidas de la actividad

La electrofisiología permite el estudio de la actividad de estas proteínas mediante el registro las corrientes eléctricas que fluyen a través de la membrana cuando el canal está abierto.

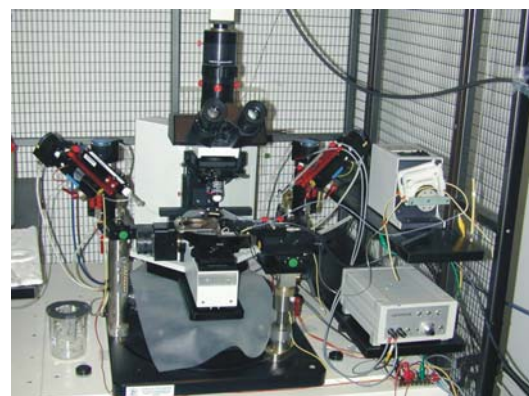


Figura 3. Equipo de electrofisiología para el registro de corrientes iónicas.

El flujo de iones provoca un cambio de potencial que puede ser registrado mediante la inserción de microelectrodos. La diferencia de potencial se establece con un electrodo de referencia que se sitúa en la solución del exterior celular. Usualmente, las células tienen un potencial de membrana entre -40 y -90 mV. Un segundo electrodo se puede insertar en la célula y se utiliza para alterar el potencial de membrana. En una célula excitable (neurona o cardiomiocito) cuando se inyecta una gran cantidad de corriente positiva, se produce una despolarización que generará un potencial de acción.

La técnica del “Voltaje clamp” consiste en una fijación constante del voltaje. La corriente que fluye a través de la membrana a un potencial concreto se puede medir como la suma de la corriente iónica debida a los canales iónicos abiertos y a la corriente capacitativa. Esta última representada por la capacitancia de la membrana, que normalmente es $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, y que solo fluye cuando se cambia el voltaje. Esta técnica fue desarrollada a mediados del siglo pasado por Hodgkin and Huxley en el axón gigante del calamar. Actualmente esta aproximación se utiliza de forma rutinaria en estudios de expresión en ovocitos de *Xenopus laevis*.

Posteriormente, Neher y Sakmann desarrollaron la técnica de “patch-clamp”. Registros de corriente en parches de membrana permiten analizar tanto la actividad de canales iónicos individuales como la totalidad de los canales de una célula. La posibilidad de medir corrientes de un único canal revolucionó el conocimiento de los canales iónicos ya que se pudieron realizar caracterizaciones cinéticas muy precisas de forma directa. La base de la técnica es la formación de un sello de alta

resistencia ($>10 \text{ G}\Omega$) entre la célula y la micropipeta, que hace la función de electrodo. Ésta está situada en la superficie de la membrana celular. La alta resistencia de este sello permite medir la corriente que fluye a través de los canales con un nivel muy bajo de ruido (1,2).

Consecuencias de una actividad anómala

Las canalopatías pueden estar generadas por diferentes motivos. Mutaciones en la región promotora de un gen que afecten a la expresión del canal. También pueden deberse a mutaciones en la proteína que afecten a la actividad (el síndrome del QT largo). Algunas están generadas, no por cambios en la secuencia y/o expresión del canal, sino por efectos sobre proteínas reguladoras (*Diabetes Mellitus*). Otras se deben por la generación de autoanticuerpos contra los canales provocando alteraciones en la función (*Myasthenia gravis*). Mucho más especializada es su acción como agentes letales producidos por bacterias (*Gramicidina*). Estos se insertan en la membrana de la célula diana y generan un poro iónico no selectivo que provoca la lisis y la muerte celular. Muchas canalopatías son genéticamente heterogéneas y el mismo fenotipo clínico puede estar causado por diferentes genes. Por ejemplo, el síndrome del QT largo, una cardiopatía que causa arritmia ventricular, está generado por tres genes diferentes. Sin embargo, mutaciones diferentes en un mismo gen (*CACNL1A4*, un Cav) causan diferentes fenotipos clínicos como episodios de ataxia y migrañas hemipléjicas familiares. Otros como los *KCNQ* (Kv7) y *KCNE* pueden generar patologías tan diversas como cardiomiopatías y sordera congénita (2).



Figura 4. *Conus striatus*. Productor de conotoxina.

Si los canales iónicos no fueran tan importantes, la naturaleza no se habría fijado en ellos. Existen numerosas toxinas de muy diverso origen que actúan de manera muy específica sobre ellos. La gran afinidad de estas toxinas ha permitido en ocasiones utilizarlas como ligandos para la purificación de los propios canales. Así pues, desde las anémonas hasta la temida mamba verde pasando por algunos moluscos, arañas, escorpiones e incluso las abejas han desarrollado todo tipo de toxinas peptídicas. Muchas de ellas se utilizan tanto para la defensa como para el ataque. Por ejemplo las conotoxinas, que son producidas por moluscos gasterópodos para su defensa. Los más venenosos son *Conus geographus*, *Conus tulipa* y *Conus striatus* de la región Indo-pacífica. Las potentes dendrotoxinas proceden de la *Dendroaspis angusticeps* (mamba verde). Las dendrotoxinas son pequeñas moléculas de 57-60 aminoácidos que inhiben los canales de K^+ . Así podríamos seguir una larga lista de pequeñas moléculas perfectamente diseñadas por la evolución. Mención especial, debida a su repercusión en el hombre, merece la Tetrodotoxina (TTX), un inhibidor de canales de Na^+ .



Figura 5. *Dendroaspis angusticeps* (mamba verde). Productora de una potente dendrotoxina.

La TTX es una potente neurotoxina que se encuentra principalmente en el hígado, ovarios e intestinos de varias especies de pez globo, siendo los más



Figura 6. Peces Fugu (*Takifugu rubripes*) en un mercado japonés.

tóxicos los de la familia Tetraodontidae. Su ingesta disminuye todas las constantes vitales interfiriendo en la conductividad neuromuscular. Genera parestesia, parálisis general o la muerte dependiendo de la dosis. No existiendo un antídoto conocido se recomienda masaje cardiaco y respiración boca a boca. Esta toxina produce un fallo respiratorio y el paciente paulatinamente se asfixia sin perder en ningún momento la consciencia. El mecanismo por el cuál se produce la toxina no es del todo conocido, aunque aparentemente estarían involucradas bacterias. En Japón, el pez-globo o fugu (*Takifugu rubripes*) es un exquisito manjar que los cocineros nipones consideran un auténtico plato de lujo. Pero precisamente la toxicidad de los ovarios de las hembras ha provocado numerosas muertes por envenenamiento en restaurantes japoneses. Un pez globo puede contener en sus vísceras toxina para matar a unas 30 personas. La TTX es 10.000 veces más mortífera que el cianuro. Otro animal que presenta TTX como arma es el cefalópodo pulpo de anillos azules australiano, *Hapalochlaena maculosa*. Este animal

posee una saliva venenosa capaz de matar a 20 humanos adultos. La TTX es también utilizada recreativamente ya que en las dosis adecuadas produce euforia y es uno de los componentes de la zombificación. Produce todos los síntomas de la muerte sin que esta tenga porque ocurrir y posteriormente se vuelve a la normalidad, aunque con secuelas físicas y psicológicas.



Figura 7. Pulpo de anillos azules (*Hapalochlaena maculosa*) de Australia.

La tremenda efectividad de las toxinas sobre los canales iónicos les otorga especial interés como herramientas farmacológicas. Actualmente se están desarrollando moléculas derivadas de toxinas naturales para el tratamiento de enfermedades de origen neurológico y cardiovascular. De especial interés es la molécula derivada de una toxina de la anémona (*Stichodactyla helianthus*) que se está mostrando efectiva, en modelos animales, en el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias como la esclerosis múltiple, la diabetes y la artritis reumatoide (3,4). En estas patologías los linfocitos T presentan una elevada expresión de Kv1.3. Este canal de K^+ interviene en la activación linfocitaria y se inhibe eficientemente por venenos del escorpión *Centruroides Margaritatus* y de la anémona *Stichodactyla helianthus*. De curioso se puede considerar el caso documentado

hace más de 20 años en el que un paciente de esclerosis múltiple experimentó una considerable mejoría tras haber sido picado accidentalmente por un escorpión (5).

Figura 8. *Centruroides margaritatus*.



El papel de los canales iónicos es un área en expansión. La mayoría de enfermedades con elevadas incidencias en nuestra sociedad – cardiovasculares, neurológicas, cáncer y diabetes – son casi con toda seguridad causadas por una compleja interacción de numerosos genes. Sin embargo, dado el importante papel que juegan los canales iónicos en la fisiología celular, parece posible que alteraciones en las vías que regulan la función del canal, o el canal en si mismo, puedan contribuir al desarrollo de estas patologías. Así, aunque no se pueda considerar una canalopatía, numerosos estudios sugieren que los canales iónicos podrían jugar un papel relevante en la progresión del cáncer (6,7).

Durante los próximos años veremos una espectacular mejora en el desarrollo de los fármacos y la efectividad de los tratamientos que, utilizando como diana terapéutica los canales iónicos, incrementarán su efectividad. Simplemente, como en tantas ocasiones, observemos y aprendamos de la naturaleza que por algo se dice que es sabia.

Bibliografía

- (1) Hille, B. (2001) *In: Ion channels of excitable membranes*. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- (2) Ashcroft, F.M. (2000) *In: Ion channels and disease: channelopathies*. Academic Press: San Diego.
- (3) Chandy, K.G., et al. (2004) K⁺ channels as targets for specific immunomodulation. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:280-289.
- (4) Beeton, C., et al. (2006) Kv1.3 channels are a therapeutic target for T cell-mediated autoimmune diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103:17414-17419.
- (5) Breland, A.E. and Currier, R.D. (1983) Scorpion venom and multiple sclerosis. *Lancet*, 2:1021.
- (6) Felipe, A., et al. (2006) Potassium channels: new targets in cancer therapy. *Cancer Detect. Prev.* 30:375-385.
- (7) Felipe, A., et al. (2007) Potassium Channels: Evaluating Alternative Cancer Therapies. *Adv. Gen. Mol. Cell. Ther.* 1:20-29.