



ARTÍCULO DIVULGATIVO: MAYO 2012

CONECTADOS POR CONEXINAS:

“COMUNICACIÓN INTERCELULAR MEDIADA POR CANALES DE CONEXINAS
Y ENFERMEDADES ASOCIADAS A MUTACIONES EN LOS GENES DE CONEXINA”

Luis C. Barrio y Daniel González-Nieto

Unidad de Neurología Experimental, Hospital “Ramón y Cajal” (IRYCIS),
Ctra. Colmenar km 9, 28034-Madrid.
luis.c.barrio@hrc.es

Resumen

En los vertebrados, las proteínas responsables de conectar directamente una célula con sus vecinas se denominan conexinas. Las conexinas forman canales intercelulares que, a diferencia de otros tipos de canales iónicos, atraviesan dos membranas plasmáticas y ponen en comunicación directa los citoplasmas de las células adyacentes. Por el poro de estos canales pueden difundir iones, metabolitos, segundos mensajeros y en general moléculas de hasta 1kDa. Este tipo de comunicación directa de célula-a-célula está presente en la gran mayoría de los tejidos y tipos celulares y participa en multitud de procesos, entre los que se incluye el control de la proliferación y la diferenciación celular, la transmisión de señales eléctricas, la coordinación de la actividad metabólica y el mantenimiento de la homeostasis celular. La relevancia que actualmente se le reconoce a esta familia de proteínas deriva del descubrimiento de varias patologías causadas por mutaciones en distintos genes de conexina. Entre estas enfermedades cabe destacar las que cursan con defectos de la mielina, pérdida de la audición, alteraciones dermatológicas, cataratas y otros síndromes más complejos que pueden afectar a varios tejidos u órganos. En este artículo primero describiremos cuáles han sido los principales hitos que se han ido consiguiendo en el campo de la comunicación celular, y a continuación expondremos los avances más significativos en relación con el grupo de enfermedades genéticas asociadas a las conexinas, que hoy conocemos como “conexinopatías”. Comprender el amplio rango de los defectos genéticos y la diversidad de los efectos de las mutaciones es importante para los pacientes y el consejo genético, para entender la patogénesis de la enfermedad y, en última instancia, para el desarrollo de terapias específicas.

1. Hitos en el campo de la comunicación intercelular.

La primera evidencia de la existencia de una vía directa de comunicación entre las células se obtuvo estudiando la transmisión sináptica entre las neuronas. Cuando ya se había establecido la naturaleza química de la transmisión nerviosa, se observó que en algunas preparaciones el retraso en la transmisión del impulso nervioso entre la neurona pre- y postsináptica podía ser muy rápido, e incompatible con el mecanismo de liberación de los neurotransmisores, previamente descrito para las sinapsis químicas. En consecuencia se propuso la existencia de una vía de baja resistencia entre las neuronas, que dio lugar al concepto de las sinapsis de tipo eléctrico. El correlato estructural de este nuevo tipo de comunicación intercelular tardó más de diez años en identificarse, cuando se describieron por microscopía electrónica las uniones comunicantes o uniones en hendidura (del inglés "gap junctions"). En las uniones en hendidura se produce una íntima aposición de las membranas plasmáticas de las dos células adyacentes como consecuencia de la agregación de cientos de canales que atraviesan las dos membranas celulares y que conectan entre sí los citoplasmas de las dos células adyacentes. Las uniones en hendidura no solo se identificaron entre las neuronas, también se describieron en muchos otros tipos celulares: en los miocardiocitos, en las células epiteliales, en la musculatura lisa, en los hepatocitos, y largo etc. Tuvieron que pasar aún unos años más hasta que se demostró que los canales intercelulares, además de permitir el paso de iones, que median la señalización eléctrica, también eran capaces de difundir metabolitos y segundos mensajeros, dando lugar al concepto de acoplamiento metabólico y cooperación celular. La presencia de canales intercelulares mediando el acoplamiento eléctrico y metabólico de célula-a-célula supone una importante matización de la teoría celular, ya que ahora la unidad funcional y morfológica, más que la "célula" en sí, lo constituye el "sincitio" o red de células interconectadas entre sí por los canales intercelulares.

Llegó la revolución de la biología molecular y comienza una carrera frenética en la que se van identificando un gen tras otro de la familia de las conexinas, primero en los ratones y luego en humanos. La primera conexina que se identificó fue la Cx32 hepática, luego la Cx43 cardíaca, a continuación la Cx26 también hepática y así sucesivamente hasta completar los 21 genes de conexina identificados en el hombre, los 20 del ratón y muchos de sus genes ortólogos en otras especies de vertebrados. Las conexinas se nombran con la abreviatura Cx seguida de su peso molecular en kDa, eg. Cx43. La identificación de los genes permitió conocer el patrón de expresión de cada uno de ellos en el animal adulto y durante el desarrollo embrionario. Algunas conexinas, como la Cx32 o la Cx43, se expresan en multitud de tipos celulares, mientras que otras muestran un patrón más restrictivo, como la Cx36 que se expresa casi exclusivamente en neuronas de tipo inhibitorio, neuronas simpáticas y las células beta de los islotes del páncreas. En general cada tipo celular expresa más de una conexina. La combinación de varias conexinas podría ser útil para poder desempeñar distintos requerimientos de comunicación intercelular adecuados a las necesidades tisulares y celulares específicas. A su vez, la expresión de varias conexinas podría también permitir la existencia de fenómenos compensadores, que permiten mantener la función cuando una de ellas deja de expresarse.

La identificación de los distintos miembros de la familia de las conexinas demandó el desarrollo de nuevos sistemas celulares que permitieran la expresión exógena de canales intercelulares y el desarrollo de las técnicas de electrofisiología para la medida de las corrientes que fluyen por estos canales entre las células. Utilizando estos sistemas se pudo demostrar la funcionalidad de los nuevos genes de conexinas a medida que se iban identificando. También permitió mejorar sustancialmente nuestro conocimiento sobre cómo se forman los canales intercelulares y cuál es la capacidad y compatibilidad de las distintas

conexinas para combinarse entre si. Los canales intercelulares se forman en dos etapas (Figura 1); en una primera fase, las conexinas se sintetizan y se oligomerizan formando hexaméricos o conexones, que son transportados en vesículas hasta la superficie celular. En una segunda fase, las células deben aproximarse lo suficiente como para que los hemicanales de una célula lleguen a contactar con los de la célula vecina y si son

compatibles se unen; finalmente el canal intercelular recién formado adquiere la conformación de canal abierto y los citoplasmas de dos células entran en contacto directo.

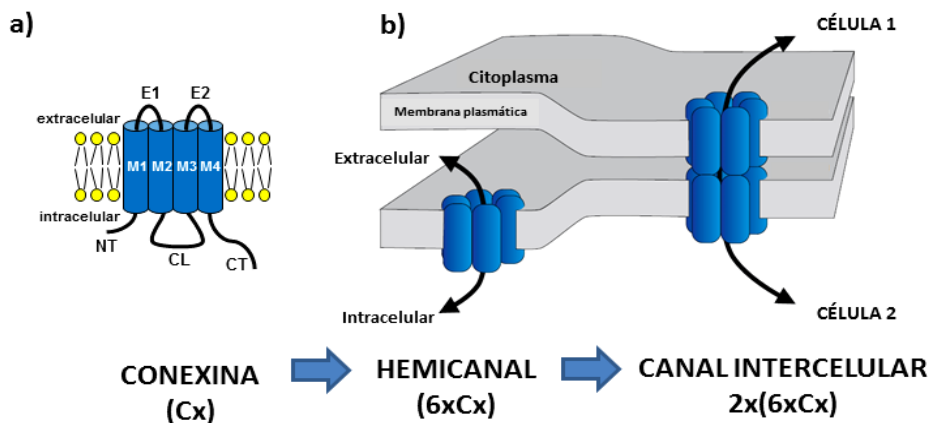


Figura 1. Canales de conexina. a) Todas las conexinas comparten la misma topología transmembranal, consistente en 4 dominios transmembranales (M1-M4), un asa citoplasmática (CL), dos asas extracelulares (E1, E2) y el dominio del amino- y del carboxilo-terminal orientados hacia el interior celular. b) Los canales intercelulares se forman en dos etapas; primero se forman los precursores o hemicanales por la oligomerización de seis subunidades de conexina en cada una de las células, y luego el canal intercelular al unirse los dos hemicanales. Los hemicanales de algunas conexinas pueden también ser funcionales formando una vía de señalización entre el interior y el exterior celular.

No todos los canales intercelulares son iguales, ya que, en función de qué conexina estén formados los canales pueden diferir sustancialmente en cuanto a sus propiedades biofísicas, i.e., conductancia unitaria y permeabilidad, y a sus mecanismos de regulación. La comunicación intercelular es fenómeno plástico, ya que los canales de conexina no forman estructuras rígidas sino que son capaces de abrirse o cerrarse en función de multitud de estímulos fisiológicos y patológicos, como son: los cambios en el pH intracelular, el gradiente de voltaje entre el interior de las células acopladas, las variaciones en el potencial de membrana, y el grado de fosforilación o defosforilación de las conexinas que forman el

canal. Estos mecanismos de regulación, denominados de “compuerta”, modulan el grado de comunicación intercelular, pudiendo originar transiciones entre acoplamiento a desacoplamiento y viceversa en una escala de tiempo rápida, de menos de un milisegundo a varios minutos. La modulación de la comunicación intercelular a más largo plazo está regulada a nivel de su expresión génica. La capacidad de algunas conexinas para combinarse con otras confiere una mayor diversidad funcional a la comunicación intercelular, y posibilita que se conecten entre sí, no solo tipos de células idénticas que expresan las mismas conexinas, sino también que haya

comunicación entre tipos celulares distintos si expresan conexinas compatibles. Cuando la composición en conexinas de los dos hemicanales es la misma (i.e., los canales son de tipo homotípico), la comunicación intercelular es simétrica y son los gradientes electroquímicos los que determinan la magnitud y la direccionalidad de la difusión de los iones y de las otras moléculas permeables. Sin embargo, cuando la composición en conexinas de los hemicanales es distinta (i.e., los canales que se forman son de tipo heterotípico), la comunicación intercelular tiende a volverse asimétrica, ya que las diferencias de conductancia y permeabilidad entre los hemicanales pueden crear una barrera para la difusión y el movimiento de iones y de las otras moléculas ocurre preferentemente en una dirección y no en la otra.

También hemos aprendido que las conexinas pueden desempeñar, además de mediar la comunicación intercelular, otras funciones biológicas. Los hemicanales (i.e. los precursores del canal intercelular) formados por ciertas conexinas también pueden ser funcionales y abrirse por depolarizaciones del potencial de membrana,

permitiendo la difusión o intercambio entre en el interior y el exterior celular de iones y metabolitos (como el ATP, el cAMP, el IP3 y el glutamato), pudiendo participar en la homeostasis iónica y actuar como vías secretoras y de señalización autocrina y paracrina. La probabilidad de apertura de los hemicanales está regulada de forma muy estricta a concentraciones fisiológicas de Ca^{2+} extracelular, que evita la pérdida de metabolitos y de los gradientes iónicos a través de la membrana celular. Las conexinas también se pueden localizar a nivel del núcleo en donde se les ha atribuido un papel en la regulación de la expresión génica, y en la mitocondria en donde podrían estar participando en la respuesta a la hipoxia crónica.

El último gran hito en el campo ha sido la obtención de la estructura cristalina del primer canal intercelular de la Cx26 que se ha resuelto recientemente. La tardanza en su obtención contrasta con el hecho de que los canales intercelulares fueron los primeros canales iónicos que se visualizaron por microscopía electrónica debido a su tendencia a agruparse en las uniones en hendidura.

2. Enfermedades causadas por mutaciones en los genes de las conexinas.

En 1993 se identificó la primera patología asociada a mutaciones en un gen de la familia de las conexinas. Desde entonces la lista de las enfermedades causadas por defectos genéticos en distintas conexinas ha ido creciendo hasta implicar a once genes de los veintiuno que tiene el hombre. Las distintas mutaciones identificadas en estos once genes causan una amplia variedad de patologías (Tabla1)

Patologías con afectación de la mielina.

La primera conexinopatía que se descubrió fue **la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth** ligada al cromosoma X, un tipo de neuropatía que afecta a las fibras mielínicas motoras y sensoriales, causada por mutaciones en el gen de la **Cx32**. Su publicación causó sorpresa;

nadie podría haber imaginado que el único defecto asociado a las mutaciones en la Cx32 era cuadro de desmielinización a nivel del nervio periférico. Se sabía que la Cx32 se expresaba en multitud de tejidos pero no en las células de Schwann, que forman la mielina en el sistema nervioso periférico. Lo que tampoco nadie había imaginado es que en este caso los canales que formaba la Cx32 no eran de tipo intercelular sino de tipo "reflexivo" entre las sucesivas capas de la membrana plasmática de la célula de Schwann que enrollan a los axones, creando una vía radial de comunicación entre los distintos compartimentos citoplasmáticos de la misma célula, desde la región periaxonal a la superficie de la mielina. La función concreta de esta vía de difusión intramielina está aún por

TABLA 1. "Conexinopatías"

Patología	Proteína	Gen	Herencia
Afectación de la mielina			
Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth	Cx32	<i>GJB1</i>	X
Enfermedad tipo Pelizaeus-Merzbacher	Cx47	<i>GJA12/GJC2</i>	AR
Cataratas	Cx46	<i>GJA3</i>	AD
	Cx50	<i>GJA8</i>	AD
Sordera neurosensorial	Cx26	<i>GJB2</i>	AR/AD
	Cx30	<i>GJB6</i>	
	Cx31	<i>GJB3</i>	
Enfermedades de la piel			
Síndrome de queratitis-ictiosis-sordera	Cx26	<i>GJB2</i>	AD
	Cx30	<i>GJB6</i>	
Síndrome de Vohwinkel	Cx26	<i>GJB2</i>	AD
Síndrome de Bart-Pumphrey	Cx26	<i>GJB2</i>	AD
Síndrome de Clouston	Cx30	<i>GJB6</i>	AD
Eritroqueratodermia variabilis	Cx30.3	<i>GJB4</i>	AD
	Cx31	<i>GJB3</i>	
Enfermedades cardiovasculares			
Fibrilación auricular	Cx40	<i>GJA5</i>	AD/ND
Heteroataxia viscerotrial	Cx43	<i>GJA1</i>	ND
Displasia oculo-dento-digital	Cx43	<i>GJA1</i>	AD/AR

AR, autosómica recesiva; AD, autosómica dominante; X, ligada al X, ND, no determinada.

clarificar. Se han identificado más de 200 diferentes mutaciones asociadas a fenotipos clínicos de severidad variable. A nivel celular, se han identificado varios mecanismos patogénicos. Muchas de las mutaciones conducen a una pérdida completa de la función para formar canales, otras alteran la formación de los canales o las propiedades de regulación por el voltaje o el pH intracelular. En el caso de mutaciones asociadas a casos de neuropatía especialmente graves se ha observado un efecto deletéreo de toxicidad celular por aumento de la permeabilidad de los hemicanales. En el ratón transgénico deficiente para la Cx32 solo se observan ligeras alteraciones en la mielina de aparición tardía que, aún cuando son características de una neuropatía, no llegan a manifestarse en un claro fenotipo con afectación motora y sensorial como ocurre en los pacientes.

Las conexinas no solo desempeñan un papel relevante en la función de la mielina a nivel del nervio periférico, también son críticas en el mantenimiento de la mielina del sistema

nervioso central. Las mutaciones recesivas en el gen de la **Cx47** causan un cuadro de hipomielinización severa conocido como la **enfermedad tipo Pelizaeus-Merzbacher**. La Cx47 se expresa fundamentalmente en los oligodendrocitos, las células de la glía que forman la mielina a nivel central. Clínicamente la forma clásica cursa con nistagmus, retraso en el desarrollo motor, espasticidad progresiva, disartria y movimientos anormales. Se han descrito más de una veintena de mutaciones asociadas con la forma clásica de la enfermedad y una mutación que solo causa una paraplejia espástica pura, un cuadro menos grave y de aparición más tardía. Algunas de las mutaciones ya han sido ensayadas y los resultados muestran una pérdida completa de la capacidad de la Cx47 mutadas para formar canales homotípicos funcionales ni canales heterotípicos de la Cx47 oligodendrocitaria con la Cx43 astrocitaria. La hipótesis de trabajo es que los canales de Cx47 entre los oligodendrocitos y los canales de Cx47-Cx43 oligodendroastrocitarios forman parte de la vía de comunicación intercelular glial especializada en la difusión de los iones

de potasio desde la región periaxonal, en donde se acumula el potasio durante la conducción de los

potenciales de acción, hasta lecho vascular y el líquido cefalorraquídeo (Figura 2).

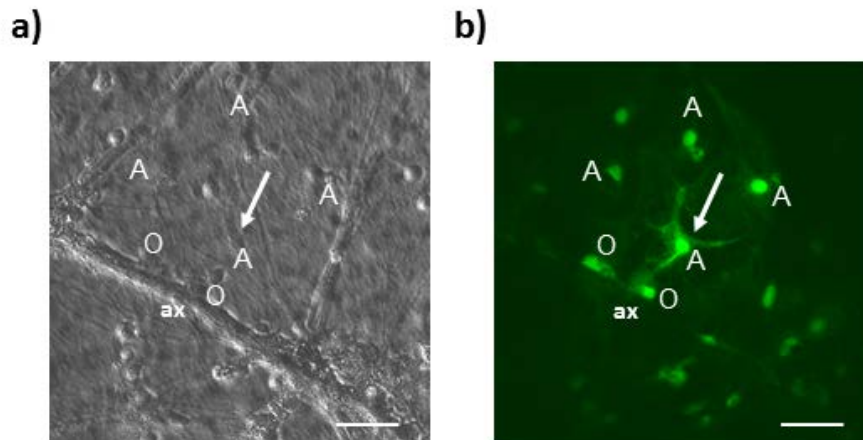


Figura 2. Sincitio glial en un modelo celular de mielinización *in vitro*. a) Cocultivo de neuronas, oligodendrocitos (O) y astrocitos (A). b) Acoplamiento astrocito-oligodendrocito. La inyección intracelular de un colorante en un astrocito (flecha) difunde vía canales intercelulares a los astrocitos vecinos y los oligodendrocitos que están mielinizando los axones (ax).

Sí esta vía de comunicación intercelular entre las células de glía se interrumpe, como ocurre cuando no se forman los canales de Cx47 ni de Cx47-Cx43, el potasio y del agua se acumula en la región periaxonal y como consecuencia de ello, primero se produce el bloqueo de la conducción y luego el edema y la destrucción de la mielina. Para el estudio de los mecanismos patogénicos de esta enfermedad se han generado varios modelos de ratones transgénicos. En el modelo del ratón deficiente en la Cx47 o el que porta alguna de las mutaciones descritas en humanos no se observa un cuadro de hipomielinización severa como en los pacientes. Solo en el ratón que es doblemente deficiente en la Cx47 y también en la Cx32, la otra conexina que se expresa en los oligodendrocitos, cursan con fenotipo de hipomielinización severa. Actualmente desconocemos el origen de esta discrepancia entre los fenotipos entre ambas especies.

Patologías que afectan a los órganos de los sentidos, la visión y la audición.

El cristalino es un órgano avascular y, como tal, muy dependiente del transporte de iones y metabolitos vía canales o/y hemicanales de conexina para el mantenimiento de su homeostasis y transparencia. No es por tanto sorprendente que las mutaciones en el gen de la **Cx46** y de la **Cx50**, dos de las tres conexinas que se expresan en el cristalino, produzcan **cataratas congénitas**. Ambas conexinas se coexpresan en las fibras especializadas del cristalino, y son capaces de formar hemicanales funcionales además de canales intercelulares. Mucho de nuestro conocimiento de la función de las conexinas del cristalino deriva de los modelos de ratón. Mientras que el ratón deficiente en la Cx50 muestra un defecto de crecimiento del cristalino y del ojo asociado a una ligera catarata, el déficit de expresión de la Cx46 no altera el crecimiento del cristalino pero sí su transparencia. Todas las mutaciones de Cx50 y Cx46 descritas son dominantes y el ensayo de estas mutaciones sugiere una gran diversidad de mecanismos patogénicos. Algunas de las mutaciones de Cx50 producen una pérdida de función para formar canales o hemicanales, se retienen intracelularmente e impiden el transporte de la Cx50 no mutada a la membrana celular.

Aparte de los defectos de tráfico las mutaciones pueden conducir a la formación de hemicanales con una función aumentada que causan la muerte celular.

Las mutaciones en las cuatro conexinas que se expresan en el oído interno, la **Cx26**, **Cx30**, **Cx30.3** y **Cx31**, pueden causar **sordera neurosensorial**, de forma aislada o asociada a alteraciones en la piel (ver mas adelante). A este respecto hay que destacar que las mutaciones recesivas en el gen de la Cx26 son la principal causa de sordera congénita en la población. La gran mayoría de estas mutaciones, que causan una pérdida profunda de audición prelocutiva, no son capaces de formar canales o/y hemicanales funcionales. En el ratón deficiente en la Cx26 se observa una degeneración completa del órgano de Corti al verse interrumpida la vía de comunicación intercelular que participa en el reciclaje de los iones de potasio a la endolinfa. También se han descrito mutaciones de la Cx26 dominantes, aunque son menos frecuentes, que producen sordera, en general de aparición más tardía, o que causan sordera de tipo sindrómico con alteraciones de la piel y de los epitelios. En estos casos parece existir una buena correlación entre el efecto de inhibición dominante que causa la mutación sobre la Cx26 no mutada o de transdominancia sobre otras isoformas de conexina, interfiriendo con el tráfico a membrana o bien combinándose entre si para formar canales no funcionales. Las mutaciones en las otras conexinas cocleares son mas raras. Se han llegado a describir sorderas recesivas digénicas por una mutación en la Cx26 en un alelo y otra mutación en la Cx31 o la Cx30 en el otro, sugiriendo una interacción funcional entre ellas en la cóclea.

Enfermedades de la piel.

La mayoría mutaciones asociadas con alteraciones de la piel, que pueden o no acompañarse de sordera, son de tipo dominante. Cinco conexinas se expresan en la epidermis y sus anejos. Mientras que la Cx43 se expresa en todas las capas de la epidermis, la Cx26 y la Cx30 solo se han identificado en las capas proliferativas de la piel, en las glándulas sudoríparas y en el epitelio de la cornea; la Cx30.3 y la Cx31 por el contrario se

expresan durante etapas mas tardías de la diferenciación de los queratinocitos. Estos distintos patrones de expresión justifican en parte la aparición de distintos síndromes dermatológicos en función de cuál de los cuatro genes este mutado. En el síndrome mas severo, que se produce por mutaciones en la **Cx26**, se combina una queratitis de la cornea, que produce la ceguera, una ictiosis y la sordera. En otras ocasiones las mutaciones de Cx26 solo producen hiperqueratosis en las zonas de roce de las articulares o alrededor de los dedos, como ocurre en el síndrome de Vohwinkel, o nivel de los nudillos en el síndrome de Bart-Pumphrey. La **Cx30** también produce el síndrome de queratitis-ictiosis-sordera y el síndrome de Clouston, que cursa con hiperqueratosis palmoplantar, alopecia y alteraciones de las uñas. Por otra parte, las mutaciones en la **Cx30.3** y la **Cx31** afectan mas a la diferenciación que a la proliferación, y producen una eritroqueratodermia variabilis, que se caracteriza por la aparición de placas eritematosas migratorias y queratodermia. Respecto a los mecanismos patogénicos se ha propuesto que las mutaciones de Cx26 y de Cx30 causan el síndrome de queratitis-ictiosis-sordera por una función aberrante de los hemicanales. La apertura excesiva de los hemicanales podría conducir a la muerte celular por la pérdida de los gradientes iónicos y metabólicos y un incremento de la liberación de ATP, que podrían activar los receptores purinérgicos que controlan la proliferación y diferenciación de los queratinocitos. En algunas mutaciones que producen el síndrome Vohwinkel se ha demostrado un efecto de inhibición dominante para formar canales intercelulares que podrían producirse por un defecto en la unión de los hemicanales para formar el canal completo, conduciendo a un exceso de hemicanales y a la consiguiente pérdida de la función de adhesión. En la patogénesis de la eritroqueratodermia variabilis se ha propuesto como mecanismo un defecto en el tráfico a membrana de la proteína Cx31 mutada que activaría una respuesta de stress del retículo endoplásmico y apoptosis celular.

Patologías del sistema cardiovascular.

En el sistema cardiovascular se expresan principalmente tres conexinas, la Cx43, la Cx40 y la Cx37. En los miocardiocitos del ventrículo solo se expresa la Cx43, en la aurícula una combinación de la Cx40 y la Cx43 y en los vasos sanguíneos la Cx37, la Cx40 y la Cx43. En el modelo del ratón sabemos que la Cx43 desempeña un importante papel en el desarrollo embrionario del corazón y, en adulto, en la conducción del impulso cardíaco. Sin embargo, en el hombre solo una de las más de sesenta mutaciones identificadas en el gen de la **Cx43** en pacientes con displasia oculo-dento-digital (ver más adelante) cursa con **taquicardias ventriculares recurrentes y bloqueo auriculoventricular**. Dicha mutación en el modelo del ratón origina un fenotipo similar al humano. Como otras mutaciones de Cx43, esta mutación reduce la formación de canales y el grado de acoplamiento intercelular; no sabemos por tanto a través de qué mecanismo esta mutación en particular produce la arritmia cardíaca. También se han identificado mutaciones en el gen de la **Cx43** en pacientes con un tipo de malformación embrionaria muy severa, conocido como **heteroataxia viscerotrial**, que afecta al desarrollo del corazón, el bazo y de los grandes vasos, pero existe controversia sobre si este cuadro se asocia a mutaciones germinales o somáticas. Recientemente se han identificado varias mutaciones en la **Cx40** en pacientes con **fibrilación auricular**, algunas de las cuales son germinales y otras somáticas. Dichas mutaciones parecen afectar a la conducción atrial como consecuencia de una localización anormal de las uniones en hendidura y de la reducción del grado de acoplamiento intercelular.

Displasia oculo-dento-digital.

La Cx43 es quizás la conexina más abundante y con un patrón de expresión más amplio. No es por tanto extraño que mutaciones en este gen produzcan un amplio espectro de alteraciones denominado **displasia oculo-dento-digital**. Es un síndrome raro, los pacientes tienen un aspecto físico muy característico, con una nariz afilada, los canales intercelulares que conduce a un defecto en la diferenciación de los osteoblastos, sugiriendo que este podría ser

atrofia de las alas de la nariz, microoftalmia o/y microcornea y una dentición muy defectuosa. También son características las malformaciones de los dedos del tipo sindactilia y el engrosamiento de los huesos del cráneo y de la cortical de los huesos largos. En un tercio de los casos hay afectación neurológica por desmielinización a nivel central y periférico. Con menos frecuencia se han descritos casos de pérdida de audición, hiperqueratosis en la piel, defectos en el tabique auricular y arritmias cardíacas. La gran mayoría de los casos están asociados a mutaciones dominantes, pero también se ha identificado alguna mutación recesiva asociada a casos muy severos. De las más de 60 mutaciones dominantes identificadas hasta la fecha, se ha analizado el defecto funcional de 14 de ellas. Todas ellas reducen o abolen la formación de los canales y en combinación con la Cx43 silvestre ejercen un efecto de inhibición dominante. La actividad de los hemicanales por exceso o por defecto también se ha implicado en la patogénesis. De momento no ha sido posible establecer una correlación genotipo-fenotipo. La única excepción a este respecto son las mutaciones que truncan el dominio del carboxilo terminal que se han asociado a queratoderma. El modelo del ratón de Cx43 sin el carboxilo terminal presenta un defecto en la homeostasis hídrica de la piel, sugiriendo este dominio de la Cx43 es necesario para preservar la integridad de la epidermis. La presencia de deformidades craneo-faciales, de los huesos largos y de los dedos en estos los pacientes indica que la Cx43 desempeña un papel crítico en la osteogénesis. Actualmente se dispone de un buen modelo de esta enfermedad en un ratón con una mutación en la Cx43, que aún no ha sido identificada en ningún paciente, y que cursa con las mismas alteraciones óseas. En estos ratones, la presencia de esta mutación produce una reducción del estado de fosforilación de la Cx43 en los osteoblastos y de la formación de

mecanismo patogénico de la hiperostosis de los pacientes. Una observación interesante que se ha descrito en estos ratones es la presencia de un

defecto hematológico con aplasia medular, que es consistente con el papel previamente descrito para la Cx43 en la hematopoyesis. Sin embargo, se desconoce si en los pacientes de displasia oculo-dento-digital las alteraciones hematológicas podrían formar parte del propio síndrome. La afectación neurológica, cuando aparece, es bastante severa y podría estar relacionada con la expresión de la Cx43 en los astrocitos. En estos pacientes la imagen de resonancia magnética muestra un patrón de desmielinización central difusa. Esta alteración de la mielina podría estar relacionada con el acoplamiento intercelular entre los astrocitos y los oligodendrocitos y papel que se ha atribuido a este sistema de comunicación en el tamponamiento del potasio en la región periaxonal, que ya se ha comentado previamente. Se desconoce por qué solo un tercio de todas las mutaciones de Cx43 causan alteraciones en la mielina.

Conclusiones y perspectivas.

El avance obtenido en los últimos años a nivel de investigación básica y clínica en el campo de los canales de conexina ha sido espectacular. Se han aislado los genes que codifican para las distintas conexinas y conocemos muchos de sus mecanismos de regulación génica y los patrones de expresión. Ha mejorado significativamente nuestro conocimiento sobre los mecanismos de biosíntesis, formación y degradación de los canales, y sobre las propiedades biofísicas de los canales y sus mecanismos de regulación, y además disponemos de una valiosa información sobre la estructura de los canales. También hemos aprendido que los precursores de los canales intercelulares, los hemicanales aislados, pueden ser funcionales constituyendo una vía de señalización entre el interior y el exterior celular.

Hemos empezado a conocer cuál es la función que desempeña cada una de las distintas conexinas y su relación causal con importantes patologías en el hombre. Se han logrado identificar mutaciones en distintos genes de conexinas asociadas a un amplio espectro de patologías, algunas de las cuales tienen una alta prevalencia entre la población o que son relevantes por su

morbimortalidad que causan. A partir de estas patologías hemos podido inferir que, en el hombre, las Cx32 y Cx47 son esenciales en el mantenimiento de la mielina, tanto a nivel del nervio periférico como a nivel central, y que la Cx43 astrocitaria también podría contribuir a esa función. La Cx43 además es importante para el desarrollo óseo y de las partes blandas a nivel del cráneo, la cara y de los dedos de las extremidades, de los dientes, y para el normal desarrollo del ojo y la cornea y del sistema cardiovascular. La conducción del impulso cardíaco depende de la Cx40 a nivel auricular y de la Cx43 en el ventrículo. Otras conexinas como la Cx26, Cx30, Cx30.3 y la Cx31 son necesarias para la audición a nivel del órgano de Corti. Estas mismas conexinas junto a la Cx43 desempeñan también un importante papel en la proliferación y diferenciación de la epidermis y de otros epitelios. A este respecto, debemos redoblar nuestros esfuerzos para lograr completar la lista de las patologías asociadas a defectos genéticos en otras conexinas. Entre los candidatos ya propuestos se encuentra la Cx37 del endotelio de los vasos y su relación con la aterosclerosis y el infarto de miocardio, y la posible implicación de la Cx36 de las neuronas y de las células beta del páncreas en la epilepsia y la diabetes. La gran diversidad de las mutaciones identificadas se asocia a un amplio rango de patologías con una severidad clínica en general variable. En la mayoría de los casos no es posible aún establecer correlaciones de tipo genotipo-fenotipo, pero se ira mejorando a medida que se vayan identificando más mutaciones y se conozcan mejor qué alteraciones causan. Una parte de las mutaciones patogénicas ya se han caracterizado a nivel celular y se ha encontrado, como cabría esperar, que las mutaciones distintos tipos de alteraciones. Muchas de las mutaciones de tipo recesivo originan una pérdida de función para formar canales o hemicanales funcionales, sugiriendo un mecanismo de haploinsuficiencia. Por el contrario, en el caso de las mutaciones de tipo dominante se ha observado, entre otros defectos, una pérdida de función en combinación con un efecto de inhibición dominante sobre la función de la conexina silvestre o de transdominancia sobre

otras conexinas. También se han descrito mutaciones que producen una ganancia de función con un efecto deletéreo o tóxico sobre la viabilidad celular, como es el caso de los hemicanales con actividad aberrante que originan algunas mutaciones asociadas a fenotipos especialmente severos. En relación al estudio de los mecanismos patogénicos que conducen a la enfermedad actualmente disponemos de ratones genéticamente modificados que son deficientes para un gran número de las conexinas, a nivel germinal y en distintas líneas somáticas, o que portan una mutación patogénica previamente identificada en humanos, que están resultando muy útiles a la hora de entender los mecanismos

patogénicos de algunas conexinopatías. Sin embargo, no en todos los casos el modelo animal reproduce el fenotipo de la patología de los pacientes, como es el caso de las patologías de la mielina a nivel central y periférico. La aplicación de las tecnologías de retroprogramación celular y de diferenciación al tipo celular que se precise nos va a permitir en un futuro inmediato obtener modelos celulares de origen humano e incluso del propio paciente. Este tipo de modelos celulares constituye una forma más realista de abordar los mecanismos patogénicos y podrían ser de gran utilidad para el ensayo de nuevos tratamientos farmacológicos y para el desarrollo de las terapias génica y celular.