

## El fosfatidilinositol-4,5-bifosfato y sus acciones sobre los canales iónicos

Azucena Pérez-Burgos<sup>1</sup>, Javier Alamilla<sup>2</sup>

<sup>1</sup>State University of New York (SUNY) at Buffalo. Department of Physiology and Biophysics. Buffalo, NY, USA. <sup>2</sup>McMaster University. Department of Psychology, Neuroscience and Behavior. Hamilton, ON, Canada

### RESUMEN

En los últimos años, se ha acumulado evidencia acerca del trascendental papel del fosfatidilinositol-4,5-bifosfato o PI(4,5)P<sub>2</sub> y la regulación que posee sobre un cúmulo cada vez más amplio de canales iónicos, así como sobre otras proteínas intracelulares no menos importantes. Esta regulación debe su valor principalmente al papel que los diferentes canales iónicos desempeñan sobre la regulación de la liberación de neurotransmisores, a su efecto sobre la frecuencia de disparo en las neuronas cerebrales (y de otras áreas del sistema nervioso) e, inclusive, a la regulación de los mecanismos implicados en la generación de la sensación térmica, la regulación de la presión arterial y la sensación de dolor, entre otros procesos. Por tanto, si el PI(4,5)P<sub>2</sub> es capaz de modular canales iónicos que están implicados en estas funciones fisiológicas, entonces las acciones de este fosfolípido dirigen múltiples y variados procesos celulares y él orquesta complejas interacciones entre las cadenas de señalización involucradas. Este trabajo tiene por objeto revisar los hallazgos más substanciales sobre la creciente importancia del PI(4,5)P<sub>2</sub> en la transducción de señales, así como los mecanismos propuestos (aún no completamente dilucidados) a través de los cuales lleva a cabo sus acciones sobre los canales iónicos. Finalmente, se puede concluir que la interacción física (existen varios modelos sobre cómo esta interacción puede ocurrir) entre el PI(4,5)P<sub>2</sub> y

los canales iónicos parece ser necesaria para que estos canales puedan mantenerse abiertos y, a su vez, la degradación de este fosfoinosítido produce generalmente una inhibición de la corriente generada por estos canales iónicos.

**Palabras clave:** fosfatidilinositol-4,5-bifosfato, canales iónicos, transducción de señales

### ABSTRACT

**Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate and its complex intracellular actions: focus in ionic channels**

In recent years, evidence has accumulated about the transcendental role of phosphatidylinositol(4,5) bisphosphate or PI(4,5)P<sub>2</sub> and it's regulation of large groups of ion channels and other equally essential intracellular proteins. This regulation is important due to its role on the release of neurotransmitters, its effects on the firing frequency of cerebral neurons (and other nervous system areas), and even its regulation of the implicated mechanisms in the generation of thermal sensation, arterial pressure regulation and pain sensation, among other processes. Accordingly, if PI(4,5)P<sub>2</sub> is capable of modulating the ion channels implicated in these physiologic functions; then, PI(4,5)P<sub>2</sub> actions controls multiple cellular processes, and it organizes complex interactions between the cascades of signaling involved in these

**Solicitud de sobretiros:** Dra. Azucena Pérez Burgos. State University of New York (SUNY) at Buffalo, Department of Physiology and Biophysics, 330 Cary Hall, South Campus 14214, Buffalo, NY, USA. E-mail: rosazuc@buffalo.edu

**Recibido:** el 15 de diciembre de 2009. **Aceptado para publicación:** el 25 de agosto de 2010

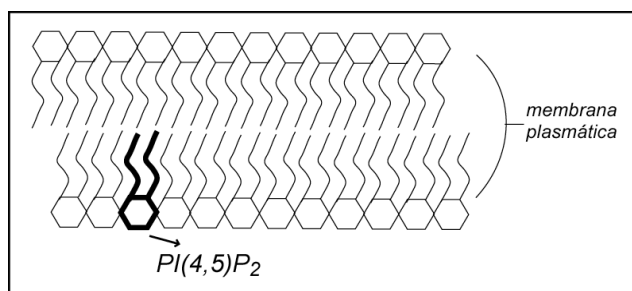
Este artículo está disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb102126.pdf>

functions. The aim of this work is the revision of previous significant findings about the growing importance of PI(4,5)P<sub>2</sub> in intracellular signal transduction and currently incomplete proposed mechanisms its actions on ion channels. Finally, using current models, it is feasible to conclude that the physical interaction between PI(4,5)P<sub>2</sub> and ion channels can be necessary for the opening of many type of ion channels, and the degradation of this phosphoinositide also generally induces an inhibition of the current generated by ion channels.

**Key words:** phosphatidylinositol(4,5) bisphosphate, ionic channels, signal transduction

## INTRODUCCIÓN

La membrana plasmática de las células está compuesta por una bicapa lipídica, con grupos de cabeza polar hidrofílica que están expuestos hacia la superficie extracelular y hacia el interior citoplásmico de las células, así como colas hidrofóbicas que están contenidas entre las cabezas hidrofílicas. Los fosfolípidos comprenden la clase más abundante de lípidos de membrana. Entre éstos, se encuentran los fosfoinosítidos, los cuales están localizados principalmente en el lado intracelular de la bicapa (**Figura 1**). Aunque los fosfoinosítidos sólo comprenden 4-5 % del total de los fosfolípidos membranales, ellos regulan una gran variedad de funciones en la transducción de señales; entre éstas, se encuentra la regulación de canales iónicos (1).



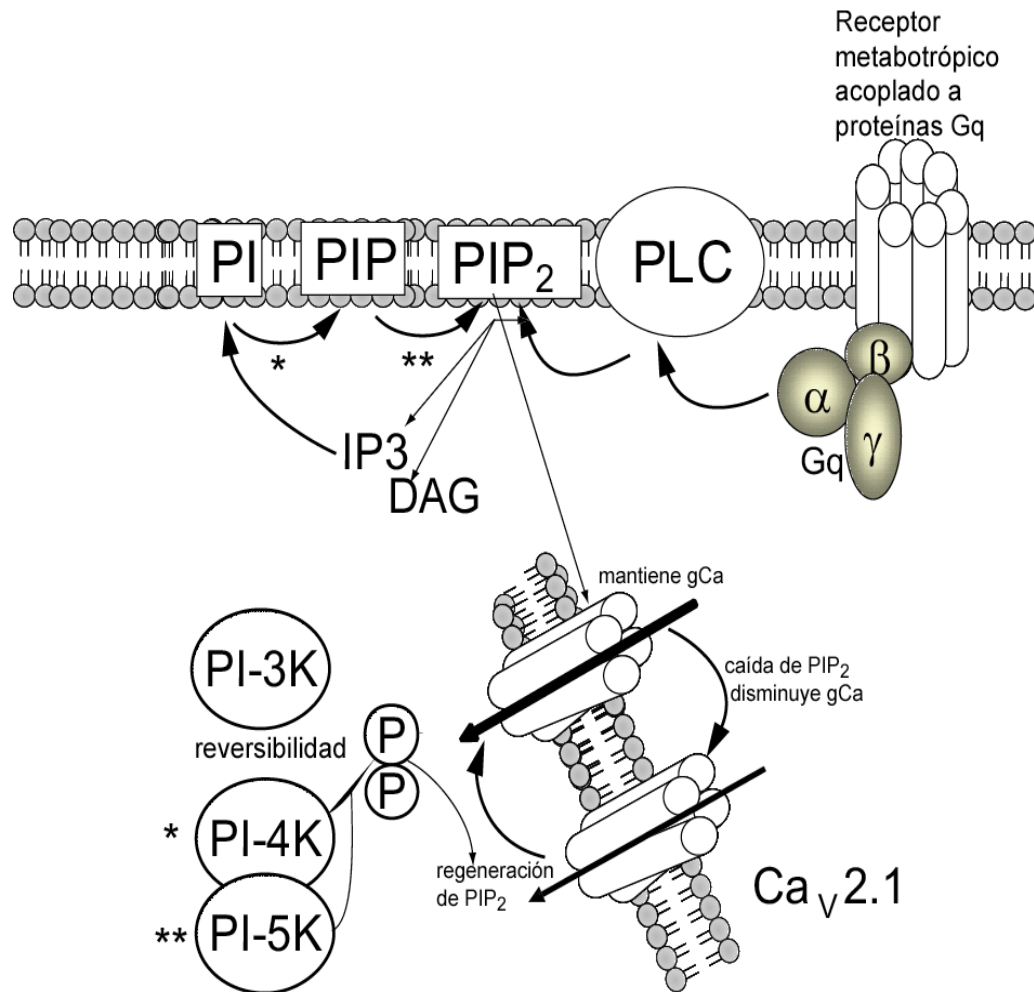
**Figura 1.** Localización del fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato en la membrana plasmática

En particular, el PI(4,5)P<sub>2</sub> es el fosfoinosítido que ha sido encontrado con más capacidad de modulación hacia los canales iónicos, por lo que las proteínas que lo regulan son de vital importancia para esta modulación. A continuación, se describirán las proteínas que sintetizan y degradan los fosfoinosítidos (en especial, el PI(4,5)P<sub>2</sub>) y cómo éstas mantienen un equilibrio en las concentraciones de fosfoinosítidos en la membrana.

## Síntesis e hidrólisis del PI(4,5)P<sub>2</sub>

En la mayor parte de las células eucariotas, un grupo de enzimas denominadas fosfolipasas se encargan de hidrolizar a los fosfolípidos. Cada una de las fosfolipasas corta a los fosfolípidos en diferentes sitios, generando así diferentes productos y/o residuos. La fosfolipasa C β (PLC β) es, entre este grupo de enzimas, la más conocida y mejor caracterizada; el PI(4,5)P<sub>2</sub> es su principal blanco (1-2). Así, cuando las heterotriméricas proteínas G (subunidades α, β y γ) de la familia G<sub>q</sub> son activadas por el receptor apropiado, la subunidad α de la proteína G une GTP, lo cual la disocia (de manera transitoria) del dímero βγ; esta subunidad α activa a la proteína fosfolipasa Cβ (PLCβ). Una fracción de la secuencia de aminoácidos del C-terminal de la PLCβ, conocido como dominio G, es requerida para la activación por la proteína G<sub>q</sub> (3); la PLCβ corta la cabeza de fosfato polar (inositol trifosfato o IP<sub>3</sub>) de los fosfolípidos y ésta es liberada al citoplasma, dejando una molécula de diacilglicerol (DAG) en la membrana; tanto el IP<sub>3</sub> como el DAG tienen actividad de segundos mensajeros (**Figura 2**) (1-2). Se sabe que el DAG queda confinado a la membrana y activa las isoformas convencionales (α, βI, βII y γ, activadas por calcio y DAG) y las novedosas (ε, η, δ y θ, activadas por DAG mas no por calcio) de la proteína cinasa C (PKC), por lo que éstas deben trasladarse a la membrana para ser activadas (4). Por su parte, el IP<sub>3</sub> activa a los receptores de IP<sub>3</sub> localizados en el retículo endoplásmico, lo cual deriva en la liberación de calcio de éste, que es

## Regulación de canales iónicos por fosfolípidos



**Figura 2.** Mecanismo de señalización intracelular a través del cual el fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato modula los canales iónicos. Los receptores metabotrópicos acoplados a proteínas G activan a la enzima fosfolipasa C (PLC) a través de su subunidad  $\alpha$  y ésta se encarga de hidrolizar al fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (generando los segundos mensajeros DAG e  $IP_3$ ), lo cual produce una disminución de la conductancia ( $g$ ) de los canales iónicos. Este fosfoliposíto es formado por el proceso de fosforilación a través de las quinasas lipídicas  $PI-3K$  y  $PI-4K$ . El caso de los canales de calcio regulados por voltaje se utiliza en esta figura para ilustrar el mecanismo de modulación.

capaz de iniciar múltiples procesos intracelulares calcio-dependientes (5). El descubrimiento de la función del inositol (1,4,5) trifosfato ( $IP_3$ ) y del DAG como segundos mensajeros, cuya generación se debe a la hidrólisis del  $PI(4,5)P_2$ , fue de gran importancia en la investigación biomédica (6), ya que se ha encontrado que la activación de las vías de señalización que se desprenden de esta hidrólisis regulan procesos tan variados como los de diferenciación y crecimiento celular, apoptosis, tráfico de vesículas intracelulares, activación de canales y transportadores iónicos, activación de

insulina, cambios en el citoesqueleto, etc. (1,6). Aunado a esto, se ha descrito que la mayor parte del  $PI(4,5)P_2$  en la membrana no se encuentra en estado libre; algunos investigadores han propuesto que el  $PI(4,5)P_2$  de la membrana puede estar localizado en múltiples compartimentos diferentes y que esta compartimentalización puede deberse precisamente a los complejos papeles funcionales que dirige (6).

Por otra parte, existen proteínas cinasas y fosfatasa lipídicas que se encargan de fosforilar y desfosforilar, respectivamente, a los diversos tipos

de fosfoinosítidos. La fosfatidilinositol 5-cinasa (PI-5K) es la responsable de la fosforilación del fosfatidilinositol-4-fosfato o PI(4)P para generar el fosfatidilinositol-4,5-bifosfato o PI(4,5)P<sub>2</sub>. La fosfatidilinositol 3-cinasa o PI-3K tiene por sustrato al fosfatidilinositol (PI) y genera el fosfatidilinositol-3-monofosfato o PI(3)P; existen varias isoformas de PI-3K, algunas prefieren PI(4,5)P<sub>2</sub> como sustrato para generar el fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato o PI(3,4,5)P<sub>3</sub> como producto final, otras PI o PI(4)P para generar PI(3)P o PI(3,4)P<sub>2</sub>, respectivamente. Por último, se encuentra la fosfatidilinositol 4-cinasa o PI-4K, que fosforila el sitio 4 del anillo de inositol generando PI(4)P, PI(4,5)P<sub>2</sub> o PI(3,4,5)P<sub>3</sub>, según cuál PI haya sido el precursor. Cada una de estas proteínas son requeridas por la célula para mantener un equilibrio en cuanto a las concentraciones de los diferentes fosfoinosítidos; las cinasas lipídicas, además, son necesarias para regenerar los niveles de fosfoinosítidos cuando éstos son depletados, debido a las acciones hidrolíticas de las fosfolipasas (1).

De la misma manera, las fosfatasa lipídicas son críticas para regular el balance y la función de las cinasas lipídicas. Un ejemplo es la fosfatasa homóloga de la tensina borrada del cromosoma 10 (PTEN), la cual contiene un motivo de fosfatasa de tirosina y cataliza la defosforilación de PI(3,4,5)P<sub>3</sub> con gran velocidad. Es una fosfatasa lipídica y sirve para mantener el PI(3,4,5)P<sub>3</sub> a bajas concentraciones, lo cual le permite ejercer funciones de segundo mensajero, cuyo precursor es el PI(4,5)P<sub>2</sub> (7).

Actualmente, se ha acumulado evidencia de que este fosfoinosítido es capaz de modular, de manera directa, muchos tipos de canales iónicos en diversos tipos celulares, que incluyen neuronas, células cardíacas, células epiteliales, células sensoriales, etc. El objeto de esta revisión es proporcionar una descripción acerca de los conocimientos actuales de la modulación de canales iónicos por fosfoinosítidos de membrana, en particular, el PI(4,5)P<sub>2</sub>; asimismo, describir

cómo este proceso se lleva a cabo en los casos en que se conoce el modo exacto, ya que en muchos casos el mecanismo preciso es aún desconocido, por lo que se ha recurrido a modelos explicativos de cómo la interacción PI(4,5)P<sub>2</sub>-canal podría suceder; estos modelos también serán detallados. Finalmente, se describirán los aspectos funcionales de la modulación de canales iónicos por la regulación de los niveles de PI(4,5)P<sub>2</sub> en la membrana plasmática.

### **Modulación de canales iónicos a través de la hidrólisis de fosfoinosítidos**

Recientemente, se ha descrito un mecanismo de modulación de canales iónicos a través de la disociación de diversos fosfolípidos de membrana (8-10). Al parecer, muchos canales iónicos necesitan interactuar con éstos (especialmente, con el PI(4,5)P<sub>2</sub>) (9) para su adecuado funcionamiento y cuando el PI(4,5)P<sub>2</sub> es depletado (debido a su hidrólisis) disminuye la probabilidad de su apertura (en la mayor parte de los casos) (10). Este mecanismo de modulación puede generar diversos efectos en el funcionamiento de las células, ya que puede modificar simultáneamente diferentes canales transmembranales que controlan la excitabilidad, la plasticidad y la comunicación celular (liberación de neurotransmisores, sinapsis, etc.) (**Cuadro 1**). Existe variación en las modificaciones que se pueden presentar por la activación de los fosfolípidos de membrana, dependiendo de la combinación de canales iónicos que cada célula posee (9).

A continuación, describiremos los casos más relevantes acerca de la regulación de canales iónicos mediante la regulación de los niveles de PI(4,5)P<sub>2</sub> en la membrana plasmática.

### **Canales de potasio**

Canales de potasio sensibles a ATP. Hilgeman y Ball (11) publicaron el primer trabajo que demostró que un canal iónico, que en este caso fue el canal de K<sup>+</sup> sensible a ATP (K<sub>ATP</sub>) de células cardíacas, requería del PI(4,5)P<sub>2</sub> para su adecuada actividad; la activación e inhibición de estos ca-

## Regulación de canales iónicos por fosfolípidos

Cuadro 1. Resumen de los principales hallazgos sobre la modulación de canales iónicos por el fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato

Canal iónico	Tipo de regulación generada por la hidrólisis del fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato	Proceso fisiológico implicado	Regiones anatómicas
Kir	Negativa	Modificación del patrón de disparo neuronal	Caudado-Putamen (22); Corteza cerebral (21)
KCNQ	Negativa	Modificación del patrón de disparo neuronal	Caudado-Putamen (19); Ganglio cervical superior (16)
Ca <sub>v</sub> 2.2 (N)	Negativa	Liberación de neurotransmisores; modificación del patrón de disparo neuronal	Caudado-Putamen (29); Ganglio cervical superior (27)
Ca <sub>v</sub> 2.1 (P/Q)	Negativa	Liberación de neurotransmisores; modificación del patrón de disparo neuronal	Caudado-Putamen (29); Ganglio cervical superior (28)
TRPM8	Negativa	Regulación de los mecanismos implicados en la sensación térmica	Ganglio de la raíz dorsal (43)
TRPV1	Negativa	Regulación de los mecanismos de desensibilización de las células generadoras del dolor	Ganglio de la raíz dorsal (42)
ENaC	Negativa	La actividad de este canal limita la tasa de (re)absorción de Na <sup>+</sup> a través de las barreras epiteliales (en diferentes tejidos, tales como riñón, pulmón y colon distal)	Líneas celulares (36)
BK	Negativa	Regulación de la presión arterial	Arterias cerebrales (25)

nales puede modificar la fuerza de la contracción cardíaca. Este hallazgo se corroboró en sistemas heterólogos de expresión (12) y con registros de canal único (13,14).

**Canales KCNQ.** Indiscutiblemente, uno de los más claros efectos de la depleción de fosfoinosítidos sobre células nerviosas fue encontrado, por primera vez, en el ganglio cervical superior (GCS), cuyo resultado es la reducción de la corriente de K<sup>+</sup> conocida como I<sub>M</sub> (KCNQ), debido a que las acciones muscarínicas la inhiben generando una despolarización en estas células; esta inhibición se debe a que el receptor muscarínico de tipo M<sub>1</sub> hidroliza el PI(4,5)P<sub>2</sub> de la membrana plasmática, mediante la activación de la enzima PLC, y esta hidrólisis redonda en una disminución de los niveles de este fosfoinosítido, el

cual al parecer es requerido para que el canal pueda mantenerse en el estado abierto (5). Aunque en un principio se creyó que esta corriente era modulada por segundos mensajeros, después de muchos años de trabajo y resultados contradictorios, el mecanismo preciso (descrito arriba) por el cual se modula este canal fue dilucidado y se ha extendido a otros canales de K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e, inclusive, a canales iónicos no regulados por voltaje (o débilmente regulados por voltaje), tales como el canal de Na<sup>+</sup> epitelial (ENaC) y canales TRP; de manera general, la unión de PI(4,5)P<sub>2</sub> al canal promueve un incremento en la probabilidad de su apertura (8). Para la recuperación de la modulación que ejerce el receptor muscarínico de tipo M<sub>1</sub> sobre los canales KCNQ que generan la corriente M (I<sub>M</sub>), se requiere la refosforilación del PI(4,5)P<sub>2</sub>,

mediante proteínas cinasas lipídicas (8,10,15-18). Este mecanismo de modulación se ha descrito en neuronas de proyección del núcleo cerebral conocido como estriado, para la modulación de este mismo tipo de canal iónico (19).

**Canales rectificadores entrantes.** Los canales de  $K^+$  rectificadores entrantes, los cuales modulan la actividad eléctrica de muchos tipos celulares, son regulados por proteínas cinasas y proteínas G. Estos canales de  $K^+$  directamente unen  $PI(4,5)P_2$  y esta unión correlaciona con la actividad del canal, pues la aplicación de ATP y  $PI(4,5)P_2$  activa a estos canales y los anticuerpos de  $PI(4,5)P_2$  potencialmente inhiben a los canales GIRK1/4, GIRK2, IRK1 y ROMK (20).

Un interesante hallazgo ha sido también descrito en las neuronas de proyección del estriado; la población neuronal de este núcleo se encuentra dividida en subpoblaciones “estriatopalidales” y “estriatonigrales”, según si dirigen sus axones al globo pálido o a la sustancia *nigra* (21). La activación del receptor muscarínico de tipo  $M_1$  modula (reduce), en gran medida, la corriente de  $K^+$  rectificadora entrante (Kir2) en la población neuronal “estriatopalidal”, pero no en la población “estriatonigral”; lo cual indica que este fosfolípido puede regular diferencialmente el mismo canal en diferentes subpoblaciones celulares, inclusive en el mismo núcleo. La inhibición de la corriente del canal Kir2, debido a la hidrólisis del  $PI(4,5)P_2$  generada por la activación del receptor muscarínico de tipo  $M_1$  en el grupo “estriatopalidal”, incrementa la sumación temporal de los potenciales sinápticos excitatorios (PPSE) glutamatérgicos casi exclusivamente en estas células. Esta modulación se incrementa con la depleción dopaminérgica que sucede a la muerte de las células dopaminérgicas de la sustancia nigra *pars compacta* (SNc), lo cual hace que la población “estriatopalidal” se torne más excitable (22). También, en células piramidales de la corteza prelímbica, el receptor muscarínico de tipo  $M_1$  modula (inhibe) el canal de potasio Kir2 a través de la hidrólisis de  $PI(4,5)P_2$ , lo cual a su vez produce la subsecuente caída de

los niveles de este fosfoinosítido en la membrana plasmática cercana al canal; la inhibición de esta corriente permite un incremento en la sumación temporal de los PPSE (23).

**Canales BK.** Recientemente, se demostró que la probabilidad de apertura de los canales de potasio de gran conductancia, dependientes de calcio y voltaje (conocidos como BK), es modulada por los niveles de fosfoinosítidos en las membranas de miocitos vasculares, pues se encontró que dichos canales pueden ser activados; en este ejemplo, el  $PI(3,4,5)P_3$  resulta más eficiente para activar este canal y la subunidad  $\beta 1$  del canal, al parecer, potencia esta activación, ya que encontraron que la modulación sucede en miocitos vasculares donde esta subunidad ( $\beta 1$ ) es abundantemente expresada, pero no en miocitos de músculo esquelético, donde la subunidad accesoria expresada es la  $\beta 4$ . Se conoce que residuos de alanina cargados positivamente en el segmento S6 de la subunidad que conforma el poro contribuyen a la modulación, pues interactúan electrostáticamente con los fosfoinosítidos. Este último hallazgo es de particular importancia, debido a que, por primera vez, se pudo vincular la regulación de un canal iónico a través de la hidrólisis de fosfoinosítidos con un proceso fisiológico: la regulación de la presión arterial, ya que un incremento en la corriente del canal BK, debido a su interacción con fosfoinosítidos de membrana, es capaz de incrementar el diámetro de arterias cerebrales, modulando así el tono vascular (24-25).

### Canales de calcio

**Canales N y P/Q.** Este mecanismo de modulación se ha propuesto también para los canales de  $Ca^{2+}$  regulados por voltaje, aunque existe mucho menor evidencia que para los de  $K^+$  (8-10,26-28). En cuanto a los canales  $Ca_v2.1$ , se ha descrito (en sistemas de expresión heteróloga) que el  $PI(4,5)P_2$  es capaz de disminuir y/o prevenir la inhibición de la corriente que fluye por estos canales, observada cuando parches de membrana plasmática son escindidos (**Figura 2**); aunque de manera alterna,

## Regulación de canales iónicos por fosfolípidos

también se encontró que el  $PI(4,5)P_2$  puede ejercer una inhibición de esta corriente y esta inhibición es voltaje dependiente, es decir, solamente se presenta cuando la corriente es inducida por despolarizaciones en el rango fisiológico (+10 a +40 mV) y es prácticamente inexistente cuando las despolarizaciones son mayores (+100mV) (28). Posteriormente, se encontró que la activación de los receptores muscarínicos de tipo  $M_1$  y la subsecuente activación de la PLC reducen la conductancia de los canales  $Ca_v2.2$  en sistemas heterólogos de expresión (probablemente, generada por una disminución en la probabilidad de apertura del canal); esta modulación correlaciona temporalmente con la hidrólisis de  $PI(4,5)P_2$  (**Cuadro 1**). Recientes evidencias muestran que, si éste se añade al interior de la célula, puede evitarse esta modulación y, si la síntesis de  $PI(4,5)P_2$  se bloquea, la modulación se vuelve irreversible (27). Recientemente, se ha descrito este mismo tipo de modulación en los canales  $Ca_v2.1$ , por primera vez, en neuronas cerebrales: las neuronas de proyección del neocórtex (29). La importancia de la modulación de los canales  $Ca_v2.1$  y  $Ca_v2.2$ , mediante la regulación de los niveles de fosfoinosítidos en la membrana plasmática próxima al canal, reside en el hecho de que su apertura, en la mayor parte de las terminales presinápticas, produce la liberación de neurotransmisores (30-33) (**Cuadro 1**).

**Canales L.** En cuanto a los canales de calcio de tipo L o  $Ca_v1$ , se ha encontrado recientemente que, en células cardíacas, la conductancia de estos canales se incrementa cuando diversos fosfoinosítidos son añadidos en la cara interna de la membrana plasmática; en este caso, el fosfoinosítido más eficaz es el  $PI(3,4,5)P_3$  (34). Modificaciones en la conductancia y/o probabilidad de apertura de estos canales generan profundos efectos en el patrón de disparo y, en general, en la excitabilidad neuronal (30).

### Canales de sodio

**Canales de sodio epiteliales.** Los canales de sodio epiteliales o ENaC son también regulados

por la hidrólisis de fosfoinosítidos. Sin embargo, también aquí, la evidencia sostiene que no es necesariamente el  $PI(4,5)P_2$  el que controla esta regulación, sino que también lo hace el  $PI(3,4,5)P_3$ , es decir, la regulación de este canal no requiere especificidad en la unión de fosfoinosítidos (35-37). Estudios de sustitución de residuos básicos conservados en la secuencia de aminoácidos del canal y análisis de los registros de canal único revelaron que la modulación del  $PI(4,5)P_2$  y el  $PI(3,4,5)P_3$  hacia el canal requiere su interacción en la región N-terminal y la región intracelular inmediata al segundo dominio transmembranal, respectivamente; la probabilidad de apertura del canal ENaC se ve incrementada cuando interactúa con estos fosfoinosítidos y se ve disminuida cuando éstos son hidrolizados y depletados en estos sitios respectivos de unión. La actividad de este canal en vertebrados controla la reabsorción de sodio en el riñón, colon e intestino delgado (37).

### Canales TRP

Los canales de potencial de receptor transitorio, conocidos como TRP por sus siglas en inglés, son canales que se activan por numerosos ligandos exógenos y endógenos y también por estímulos físicos; algunos de ellos (como el TRPV1 y TRPA1) median la nocicepción en las terminales nerviosas periféricas, otros median la sensación de frío o calor, inflamación, etc. (38). Algunos miembros de este grupo de canales son también modulados por los niveles de fosfoinosítidos en la membrana. Sin embargo, su regulación no es homogénea en toda la familia de canales TRP; puesto que en algunos casos el  $PI(4,5)P_2$  los activa (TRPV1, TRPV5, TRPM7 y TRPM8), en otros los cierra (TRPV1), los desensibiliza (TRPM5) o induce su adaptación (TRPV1) (9).

**Canales TRPV1.** Uno de los canales de esta familia más extensamente estudiado, el canal TRPV1 sensible a calor y capsaicina, es el que ha arrojado más resultados contradictorios; puesto que en los primeros trabajos se reportó que estos canales son inhibidos por  $PI(4,5)P_2$  y que la hi-

drólisis de este fosfoinosítido libera al canal de la inhibición que le causaba (38-40); más recientemente, se presentó evidencia de que la entrada de calcio a estas células, a través de la apertura de este canal, produce la depleción de PI(4,5)P<sub>2</sub> debido a su hidrólisis (41) y este proceso genera un cambio (disminución) a la sensibilidad al agonista (~14 veces) sin afectar la corriente máxima alcanzable; este fenómeno se ajusta al concepto de adaptación (42).

**Canales TRPM8.** Otro canal perteneciente a la familia de canales TRP, en el que se ha descrito su modulación por el fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato, es el canal TRPM8 sensible a mentol y activado a temperaturas ligeramente frías (25°C). En este caso, se ha observado que, en parches de membrana escindidos, la reducción de la corriente generada por la apertura de estos canales es prevenida por inhibidores de fosfatasa lipídica y que la aplicación de PI(4,5)P<sub>2</sub> exógeno restaura la actividad perdida y, además, es capaz de activar directamente el canal, ocasionando un incremento de la corriente (43).

### **Mecanismos propuestos por los cuales el PI(4,5)P<sub>2</sub> regula los canales iónicos**

El mecanismo exacto por el cual el PI(4,5)P<sub>2</sub> interactúa y regula los diferentes canales iónicos se desconoce. Sin embargo, existen algunos modelos propuestos, los cuales se describirán a continuación (8).

### **Interacción canal-PI(4,5)P<sub>2</sub> a través de dominios reguladores**

Los fosfoinosítidos interactúan con las proteínas a través de dominios presentes en éstas, un ejemplo puede encontrarse en los dominios PH (dominios con homología a pleckstrina); existen cerca de 250 proteínas que poseen este dominio y típicamente son proteínas presentes a nivel de la membrana plasmática. Cada tipo de dominio de PH individual posee especificidad para un tipo de fosfoinosítido fosforilado en cierto (s) sitio(s) del anillo de inositol e interactúa

electrostáticamente con ellos; a través de esta interacción, los fosfoinosítidos reclutan o anclan proteínas a la membrana y, por lo tanto, los tipos de fosfoinosítidos presentes en la membrana determinarán en cierta medida las proteínas que estarán presentes en ella. La especificidad del dominio PH para cada tipo de fosfoinosítido puede variar; además, existen otros tipos de dominios proteicos que unen fosfoinosítidos (10).

### **Interacción directa canal-PI(4,5)P<sub>2</sub>**

Sitios de unión del PI(4,5)P<sub>2</sub> al canal han sido descritos y, por estudios de mutagénesis, se han identificado regiones de ciertos canales iónicos que poseen residuos básicos hidrofóbicos y también aminoácidos hidrofílicos que son importantes para la interacción con PI(4,5)P<sub>2</sub>. Estos aminoácidos interactúan con las cabezas de fosfato del PI(4,5)P<sub>2</sub> a través de interacciones electrostáticas y de fuerzas hidrofóbicas. Estas interacciones, de manera mecánica al parecer, estabilizan el canal en un estado conformacional que favorece que el canal presente una mayor probabilidad de apertura (8).

### **Interacción canal-PI(4,5)P<sub>2</sub> a través de proteínas reguladoras**

Otro tipo de proteínas denominadas MARCK (substrato de cinasa C rica en alanina miristolada) puede actuar como un amortiguador de PI(4,5)P<sub>2</sub>, controlando los niveles de éste en la membrana. Esta proteína posee un dominio miristolado que es capaz de anclarse en la bicapa lipídica; posee otro dominio efector básico que contiene 13 residuos de lisina y arginina (12 de lisina y 1 de arginina), que son capaces de adherirse inespecífica y electrostáticamente a la membrana cuando el PI(4,5)P<sub>2</sub> está presente, secuestrando de este modo tres PI(4,5)P<sub>2</sub> por cada MARCK; es de llamar la atención que los niveles de esta proteína en las células son similares a los del PI(4,5)P<sub>2</sub> (1-10 µM). Por otro lado, el complejo calcio-calmodulina (Ca<sup>2+</sup>-CaM), un complejo que se forma cuando se producen incrementos de las concentraciones de calcio intracelular, es capaz de unirse con alta afinidad a las



MARCK generando su traslado de la membrana al citoplasma; esta unión libera a las moléculas de PI(4,5)P<sub>2</sub> secuestradas por las MARCK. Se ha propuesto que los finos mecanismos celulares que existen para la regulación de los niveles de calcio intracelular tienen como fin primordial regular los niveles disponibles de PI(4,5)P<sub>2</sub> en la membrana; un ejemplo de éstos puede verse aquí: las proteínas MARCK mantienen secuestrado al PI(4,5)P<sub>2</sub> de la membrana y lo liberan en respuesta a incrementos de calcio intracelular, a través del complejo Ca<sup>2+</sup>-CaM (6). De este modo, las concentraciones de PI(4,5)P<sub>2</sub> libre son reguladas y, a su vez, este fosfoinosítido regula una gran cantidad de procesos intracelulares, siendo la modulación de canales iónicos uno de los más claros ejemplos (10).

## CONCLUSIÓN

Como se mencionó anteriormente, el PI(4,5)P<sub>2</sub> se encuentra compartimentalizado en la membrana plasmática; las concentraciones libres de éste se encuentran reguladas y se sabe también que los incrementos de calcio intracelular pueden presentarse de manera muy localizada (en nano y microdominios); además, se conoce que todas las fosfolipasas que degradan el PI(4,5)P<sub>2</sub> son calcio-dependientes; todo lo anterior permite al PI(4,5)P<sub>2</sub> orquestar, de manera rápida, puntual y relativamente simple, importantes cambios en la excitabilidad celular mediante la modulación de los canales iónicos presentes en la membrana de las células. Diferentes canales iónicos participan en diferentes procesos celulares; por ejemplo, algunos son indispensables para la generación de potenciales de acción (canales de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>); otros para generar pausas (canales de K<sup>+</sup> dependientes de Ca<sup>2+</sup>, como BK, SK) o incrementos de la frecuencia de disparo (canales de Ca<sup>2+</sup> tipo L); otros para inducir la liberación de neurotransmisores (canales de Ca<sup>2+</sup> tipo N y P/Q), el acoplamiento en la frecuencia de varias neuronas (corrientes catiónicas inespecíficas, canales de Na<sup>+</sup>) y la expresión de genes tempranos (canales de Ca<sup>2+</sup> tipo L), etc. La diversidad de

## Regulación de canales iónicos por fosfolípidos

canales regulados por el PI(4,5)P<sub>2</sub> le permite influir en variados e importantes procesos de la excitabilidad de las células, varios de los cuales pueden ocurrir simultáneamente; por lo que, para dirigir estos procesos, la compartimentalización del agente modulador puede resultar fundamental, lo que le da al PI(4,5)P<sub>2</sub> una eficacia funcional. Finalmente, no existen trabajos a la fecha sobre cómo este mecanismo de modulación hacia los canales iónicos puede verse modificado en modelos patológicos; sin embargo, al ser de naturaleza tan incluyente pueden predecirse múltiples distorsiones del proceso.

## REFERENCIAS

1. **Eyster KM.** The membrane and lipids as integral participants in signal transduction: lipid signal transduction for the non-lipid biochemist. *Adv Physiol Educ* 2007; 31:5-16.
2. **Taylor CW.** Controlling calcium entry. *Cell* 2002; 111:767-9.
3. **Wu D, Katz A, Simon MI.** Activation of phospholipase C beta 2 by the alpha and beta gamma subunits of trimeric GTP-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:5297-301.
4. **Parker PJ, Murray-Rust J.** PKC at a glance. *J Cell Sci* 2004; 117:131-2.
5. **Caulfield MP.** Muscarinic receptors-characterization, coupling and function. *Pharmacol Ther* 1993; 58:319-79.
6. **McLaughlin S, Murray D.** Plasma membrane phosphoinositide organization by protein electrostatics. *Nature* 2005; 438:605-11.
7. **Wishart MJ, Dixon JE.** PTEN and myotubularin phosphatases: from 3-phosphoinositide dephosphorylation to disease. *Trends Cell Biol* 2002; 12:579-85.
8. **Huang CL.** Complex roles of PIP2 in the regulation of ion channels and transporters. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293:1761-5.
9. **Suh BC, Hille B.** Regulation of ion channels by phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. *Curr Opin Neurobiol* 2005; 15:370-8.
10. **Suh BC, Hille B.** PIP2 Is a necessary cofactor for ion channel function: How and Why? *Annu Rev Biophys* 2008; 37:175-95.
11. **Hilgemann DW, Ball R.** Regulation of cardiac Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> exchange and KATP potassium channels by PIP2. *Science* 1996; 273:956-9.
12. **Koster JC, Sha Q, Nichols CG.** Sulfonylurea and K(+) channel opener sensitivity of K(ATP) channels.

- Functional coupling of Kir6.2 and SUR1 subunits. *J Gen Physiol* 1999; 114:203-13.
13. **Baukrowitz T, Schulte U, Oliver D, Herlitz S, Krauter T, Tucker SJ, et al.** PIP2 and PIP as determinants for ATP inhibition of KATP channels. *Science* 1998; 282:1141-4.
  14. **Shyng SL, Nichols CG.** Membrane phospholipid control of nucleotide sensitivity of KATP channels. *Science* 1998; 282:1138-41.
  15. **Brown DA, Hughes SA, Marsh SJ, Tinker A.** Regulation of M(Kv7.2/7.3) channels in neurons by PIP2 and products of PIP2 hydrolysis: significance for receptor mediated inhibition. *J Physiol* 2007; 582.3:917-25.
  16. **Suh BC, Hille B.** Recovery from muscarinic modulation of M current channels requires phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate synthesis. *Neuron* 2002; 35:507-20.
  17. **Winks JS, Hughes S, Filippov AK, Tatulian L, Abogadie FC, Brown DA, et al.** Relationship between membrane phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate and receptor-mediated inhibition of native neuronal M channels. *J Neurosci* 2005; 25:3400-13.
  18. **Zhang H, Craciun LC, Mirshani T, Rohacs T, Lopes CMB, Jin T, et al.** PIP2 Activates KCNQ channels, and its hydrolysis underlies receptor-mediated inhibition of M currents. *Neuron* 2003; 37:963-75.
  19. **Shen W, Hamilton SE, Nathanson NM, Surmeier DJ.** Cholinergic suppression of KCNQ channel currents enhances excitability of striatal medium spiny neurons. *J Neurosci* 2005; 25:7449-58.
  20. **Huang CL, Feng S, Hilgemann DW.** Direct activation of inward rectifier potassium channels by PIP2 and its stabilization by Gbetagamma. *Nature* 1998; 391:803-6.
  21. **Surmeier DJ, Ding J, Day M, Wang Z, Shen W.** D1 and D2 dopamine receptor modulation of striatal glutamatergic signaling in striatal medium spiny neurons. *Trends Neurosci* 2007; 30:228-35.
  22. **Shen W, Tian X, Day M, Ulrich S, Tkatch T, Nathanson NM, et al.** Cholinergic modulation of Kir2 channels selectively elevates dendritic excitability in striatopallidal neurons. *Nat Neurosci* 2007; 10:1458-66.
  23. **Carr DB, Surmeier DJ.** M1 muscarinic receptor modulation of Kir2 channels enhances temporal summation of excitatory synaptic potentials in prefrontal cortex pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 2007; 97:3432-8.
  24. **Rittenhouse AR.** PIP2 PIP2 hooray for maxi K+. *J Gen Physiol* 2008; 132:5-8.
  25. **Vaithianathan T, Bukiya A, Liu J, Liu P, Asuncion-Chin M, Fan Z, et al.** Direct regulation of BK channels by phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate as a novel signaling pathway. *J Gen Physiol* 2008; 132:13-28.
  26. **Brown DA, Sihra TS.** Presynaptic signaling by heterotrimeric G-proteins. *Handb Exp Pharmacol* 2008; 184:207-60.
  27. **Gamper N, Reznikov V, Yamada Y, Yang J, Shapiro MS.** Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate signals underlie receptor-specific Gq/11-mediated modulation of N-type Ca<sup>2+</sup> channels. *J Neurosci* 2004; 24:10980-92.
  28. **Wu L, Bauer CS, Zhen XG, Xie C, Yang J.** Dual regulation of voltage gated calcium channels by PtdIns (4,5) P2. *Nature* 2002; 419:947-52.
  29. **Perez-Burgos A, Prieto GA, Galarraga E, Bargas J.** Ca<sub>v</sub>2.1 channels are modulated by muscarinic M<sub>1</sub> receptors through phosphoinositide hydrolysis in neostriatal neurons. *Neuroscience* 2010; 165:293-9.
  30. **Catterall WA, Few AP.** Calcium channel regulation and presynaptic plasticity. *Neuron* 2008; 59:882-901.
  31. **Perez-Burgos A, Perez-Rosello T, Salgado H, Flores-Barrera E, Prieto G, Figueroa A, et al.** Muscarinic M1 modulation of N and L types of calcium channels is mediated by PKC in neostriatal neurons. *Neuroscience* 2008; 155:1079-97.
  32. **Perez-Rosello T, Figueroa A, Salgado H, Vilchis C, Tecuapetla F, Guzman NJ, et al.** Cholinergic control of firing pattern and neurotransmission in rat neostriatal projection neurons: role of CaV2.1 and CaV2.2 Ca<sup>2+</sup> channels. *J Neurophysiol* 2005; 93:2507-19.
  33. **Salgado H, Tecuapetla F, Perez-Rosello T, Perez-Burgos A, Perez-Garci E, Galarraga E, et al.** A reconfiguration of Ca<sub>v</sub>2 Ca<sup>2+</sup> channel current and its dopaminergic D<sub>2</sub> modulation in developing neostriatal neurons. *J Neurophysiol* 2005; 94:3771-87.
  34. **Le Blanc C, Mironneau C, Barbot C, Henaff M, Bondeva T, Wetzker R, et al.** Regulation of vascular L-type Ca<sup>2+</sup> channels by phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. *Circ Res* 2004; 95:300-7.
  35. **Pochynyuk O, Tong Q, Staruschenko A, Ma HP, Stockand JD.** Regulation of the epithelial Na<sup>+</sup> channel (ENaC) by phosphatidylinositides. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290:F949-57.
  36. **Pochynyuk O, Tong Q, Medina J, Vandewalle A, Staruschenko A, Bugaj V, et al.** Molecular Determinants of PI(4,5)P2 and PI(3,4,5)P3 Regulation of the Epithelial Na<sup>+</sup> Channel. *J Gen Physiol* 2007; 130:399-413.
  37. **Pochynyuk O, Bugaj V, Stockand JD.** Physiologic regulation of the epithelial sodium channel by phosphatidylinositides. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008; 17:533-40.
  38. **Rohacs T, Thyagarajan B, Lukacs V.** Phospholipase C mediated modulation of TRPV1 channels. *Mol Neurobiol* 2008; 37:153-63.
  39. **Chuang HH, Prescott ED, Kong H, Shields S, Jordt**

---

**Regulación de canales iónicos por fosfolípidos**

- SE, Basbaum AI, et al.** Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5) P2-mediated inhibition. *Nature* 2001; 411:957-62.
- 40. Prescott ED, Julius D.** A modular PIP2 binding site as a determinant of capsaicin receptor sensitivity. *Science* 2003; 300:1284-8.
- 41. Liu B, Zhang C, Qin F.** Functional recovery from desensitization of vanilloid receptor TRPV1 requires resynthesis of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. *J Neurosci* 2005; 25:4835-43.
- 42. Yao J, Qin F.** Interaction with phosphoinositides confers adaptation onto the TRPV1 pain receptor. *PLoS Biol* 2009; 7:e46.
- 43. Liu B, Qin F.** Functional of cold- and menthol-sensitive TRPM8 ion channels by phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate. *J Neurosci* 2005; 25:1674-81.