

LA TRANSMISION NERVIOSA EN LA SINAPSIS GANGLIONAR

III

ASPECTOS BIOQUIMICOS*

DR. GUILLERMO MASSIEU II.

SE acepta de una manera general que el mediador en la acción excitadora de impulsos postganglionares sobre músculo liso y cardiaco y sobre células glandulares, es una sustancia específica que se forma y/o es liberada en las terminaciones nerviosas al llegar los impulsos. Dicha sustancia puede ser en algunos casos la acetilcolina y en otros la adrenalina o la noradrenalina. De acuerdo con estas dos alternativas, Dale propuso la conocida clasificación de las fibras post-ganglionares en colinérgicas y adrenérgicas, respectivamente.

SISTEMA DE LA ACETILCOLINA

Basándose en los clásicos estudios de Dale, Brown, Feldberg y sus colaboradores^{3, 5, 6} no puede ponerse más en duda el papel de la acetilcolina en la transmisión de la excitación en la placa neuromuscular, en el caso del músculo esquelético. Los estudios de Fatt y Katz^{13, 14, 15} nos ofrecen los fundamentos cuantitativos de la intervención de dichas neurohormonas en la transmisión, en ese caso.

Desde el punto de vista bioquímico, y gracias principalmente a los trabajos de Nachmansohn y Wilson y sus colaboradores^{20, 21, 24, 25}, el estudio de las peculiaridades del sistema de la acetilcolina y sus conexiones con el metabolismo energético y con el fenómeno eléctrico, han progresado notablemente y pueden resumirse parcialmente en la figura 1.

En la misma considérase que, durante el reposo, la acetilcolina está unida

* Trabajo leído por su autor en la sesión ordinaria del 30 de octubre del 1963.

o conjugada con una proteína (S). Cualquier estímulo que llegue a la membrana libera el éster, el cual reacciona con la proteína receptora (R). En esta reacción se produce probablemente un cambio de configuración en la proteína; dicha reacción es la responsable del decremento en la permeabilidad para el sodio y es el disparador por medio del cual los gradientes de concentración de los iones, fuente potencial de fuerza electromotriz, se vuelven efectivos y generan entonces las corrientes de acción.

El complejo receptor-acetilcolina se encuentra en equilibrio dinámico con el éster libre y la proteína receptora; el mediador libre es atacado por la acetil-

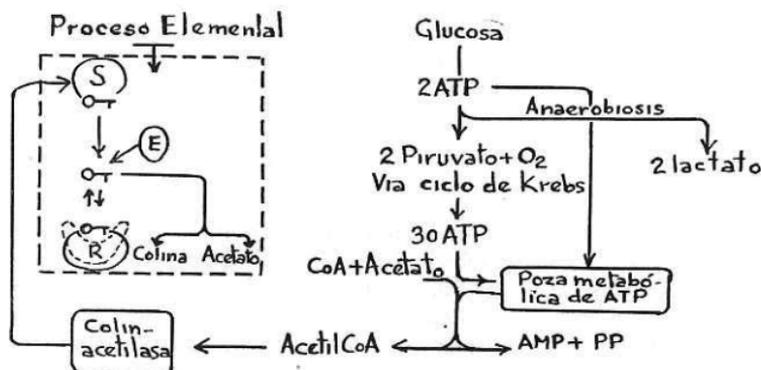


FIG. 1

colinesterasa e inactivado rápidamente por la hidrólisis, transformación que permite que el receptor (y por ende la permeabilidad al sodio) vuelvan a la condición inicial.

La extraordinaria velocidad de la hidrólisis de la acetilcolina por la acetilcolinesterasa, cuyo recambio es de 30 a 50 microsegundos [Lawler¹⁹] permite el rápido restablecimiento de la permeabilidad al ion sodio y explica la propiedad de las fibras nerviosas de conducir varios cientos de miles de impulsos por segundo.

Según Nachmansohn,²¹ una de las evidencias experimentales respecto al papel crucial del sistema de la acetilcolina en la generación de la bioelectricidad, ha sido la demostración de que, bajo cualquier circunstancia, ha sido imposible separar la actividad de la acetilcolinesterasa de la actividad eléctrica.

Recientemente se han obtenido algunos datos interesantes sobre la naturaleza de la proteína receptora. Utilizando los métodos clásicos de fraccionamiento de proteínas y además la propiedad de precipitar con curare, Ephrenpreis¹²

aisló del órgano eléctrico de un organismo marino (*Electrophorus electricus*), una proteína que participa de todas las características de dicho receptor.

Este hecho y los experimentos con preparaciones monomoleculares del órgano eléctrico de *Electrophorus* [Schoffeniels y Nachmansohn^{22, 23}], apoyan la existencia de la proteína receptora.

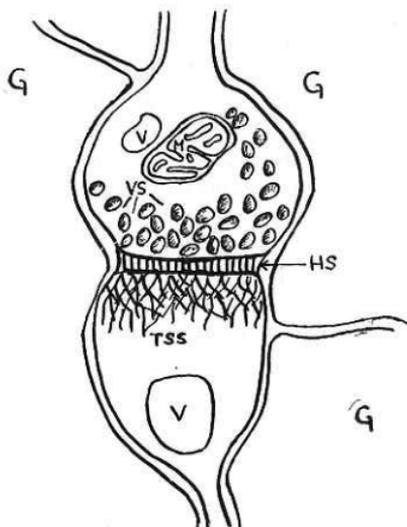


FIG. 2

En la figura 1, muéstranse las estrechas relaciones del sistema de la acetilcolina, con el metabolismo oxidativo. Puede apreciarse que la síntesis de la neurohormona depende de la acetilasa y requiere energía proveniente del trifosfato de adenosina (ATP).

De mucha trascendencia han sido las recientes investigaciones de De Robertis y sus colaboradores¹¹, las cuales, empleando procedimientos de ultracentrifugación, separaron las vesículas de acetilcolina de terminaciones nerviosas, las que se encuentran estrechamente asociadas con las mitocondrias (Figura 2).

La existencia de tales vesículas está de acuerdo con la sugestión de Fatt y Katz,¹⁵ de que los micropotenciales de placa que ocurren espontáneamente en el músculo en reposo se deben a la liberación de "cuantos multimoleculares" de acetilcolina de las terminaciones de los axones perisinápticos; las vesículas pueden desintegrarse en un momento dado y liberar la neurohormona [Del Castillo y Katz¹⁰]. Alternativamente, es posible considerar que el éster se libera como respuesta al impulso nervioso, por un cambio reversible en la permea-

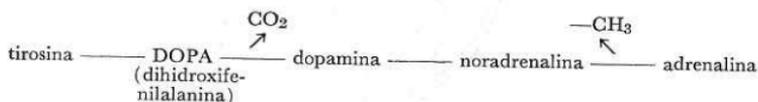
bilidad de todas las vesículas involucradas y que la desintegración ocasional de dichas vesículas es la causa de las respuestas "miniatura".

Entre las objeciones más serias a la hipótesis de la existencia de la acetilcolina como un agente transmisor neurohumoral universal, se pueden citar los hallazgos histoquímicos de Koelle¹⁸ y Giacobini¹⁶ relativos a la presencia de acetilcolinesterasa en neuronas no colinérgicas. El primero de los autores considera, sin embargo, que esta enzima puede en este caso tener una función metabólica no relacionada con la transmisión o el impulso conductor.

Debe tenerse además presente que solamente en dos de los cuatro tipos de sinapsis ha sido demostrado el mecanismo colinérgico de transmisión, o sea en ganglios parasimpáticos y en la unión neuromuscular¹⁶. Según Giacobini¹⁶ y de acuerdo con lo que opina también Koelle¹⁸, la demostración de la presencia de acetilcolinesterasa únicamente, no puede aceptarse como prueba absoluta de la transmisión de tipo colinérgico.

CATECOLAMINAS

Los principales pasos en la síntesis de la noradrenalina y la adrenalina son los siguientes:



Varios investigadores [Blaschko², D'Iorio⁷] han demostrado que en la médula de las glándulas suprarrenales la adrenalina y la noradrenalina se encuentran confinadas en gránulos cromafines, de dimensiones mitocondriales. Según las observaciones de D'Iorio, la integridad de estos gránulos se afecta cuando se interfiere en los sistemas de óxido-reducción y está vinculada con procesos energéticos activos.

Estrictamente se desconoce el mecanismo de liberación de las catecolaminas de dicho depósitos y su vida media en los mismos. Esto es también aplicable al caso de las terminaciones colinérgicas.

Uno de los mecanismos en la metabolización de las catecolaminas es a través de la acción de la monoaminoxidasa (MAO), aunque esta enzima no parece ser particularmente importante en la inactivación de los mediadores liberados en las terminaciones periféricas de nervios simpáticos [Brodie y Costa⁴]. La metilación en *orto* parece ser uno de los caminos principales del catabolismo de las aminas circulantes [Axelrod y colaboradores¹]; no obstante, parecen existir además otras enzimas que las destruyen⁴.

Para el caso de la médula adrenal, Hillarp¹⁷ sugiere la existencia de dos

pozas metabólicas. Una de ellas serían los gránulos cromafines, los que pueden contener cantidades elevadas de las aminas, en forma de complejos con componentes intragranulares. Esta poza está posiblemente en equilibrio con otra más activa, la poza móvil, de la cual podrían liberarse los mediadores por impulsos nerviosos recibidos, de acuerdo con las necesidades fisiológicas. Por consideraciones energéticas Hillarp supone que esta poza está separada de la MAO por una membrana intracelular, que la mantiene además relativamente inaccesible de los sitios reactivos. La poza inmóvil podría estar protegida por un mecanis-

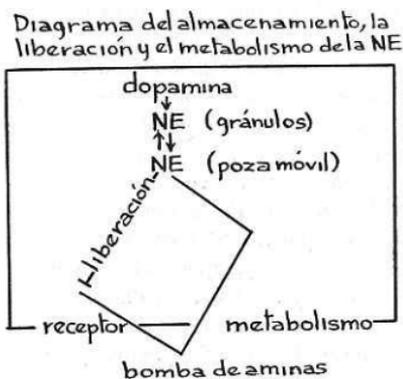


FIG. 3

mo especializado semejante al proceso de transporte de la serotonina en plaquetas.

En favor de este punto de vista pueden considerarse los estudios cinéticos de Dengler y colaboradores⁸ que demuestran que las rebanadas de cerebro o de tejido cardíaco captan noradrenalina en contra de un gradiente de concentración y que esta captación la bloquea la reserpina y es "envenenada" por la ouabaína y algunos inhibidores metabólicos. Es particularmente importante el hallazgo de que la noradrenalina marcada isotópicamente no se mezcla rápidamente con la amina total del tejido.

La figura 3 describe esquemáticamente la unidad de almacenamiento que involucra la síntesis, almacenamiento y metabolismo de la norepinefrina en las células nerviosas [Brodie y Costa⁴]. El esquema no implica que necesariamente exista la contraparte estructural en las células nerviosas, pero utiliza principios fisicoquímicos con el fin de conciliar los procesos metabólicos con el sustrato morfológico, de tal manera que puedan explicarse los siguientes puntos, respecto a las catecolaminas:

- 1o. La integración funcional de su transporte activo con los gránulos que las contienen.
- 2o. Su separación de los sitios reactivos y de la MAO.
- 3o. La auto-regulación de su contenido en la célula.
- 4o. El incremento en su concentración después de la intervención de la MAO.
- 5o. Su liberación y la prevención de su captación por la reserpina.

De acuerdo con esta hipótesis, la norepinefrina se equilibra entre las dos pozas: gránulos y poza móvil, las que están rodeadas de una membrana de naturaleza lipídica. Contigua a la membrana encuéntrase los sitios reactivos y la MAO (que probablemente rodea a la membrana). En el caso de un incremento en la demanda de monoaminas funciona la poza móvil. El reemplazo de las mismas se realiza por síntesis o tomándolas de los gránulos, si la cantidad necesitada sobrepasa temporalmente a su formación. La amina puede penetrar por dos mecanismos: 1) transporte activo, lo que puede considerarse como una bomba que mantiene el alto nivel de la amina que es sintetizada dentro; 2) por un proceso de difusión pasiva. El coeficiente de difusión a través de la membrana lipídica es muy bajo, ya que dichas aminas son muy polares. Sin embargo, abandonan la célula a una velocidad proporcional al gradiente de concentración; consecuentemente, a altos niveles de difusión será lo bastante rápida como para contrarrestar la captación activa y su contenido alcanzará un nivel de equilibrio.

En este esquema la MAO juega un papel central, controlando la cantidad de aminas en la poza de almacenamiento de gránulos. Esta intervención puede explicarse cinéticamente. Normalmente la enzima inactiva la NE y mantiene la amina fuera de la membrana a bajo nivel. Como consecuencia la MAO facilita la difusión y el nivel alcanza el equilibrio de flujos bastante antes de la saturación del sistema de transporte. Después de bloquear la MAO, el nivel de NE fuera de la membrana aumenta, y el resultado es que el gradiente de concentración desciende y la velocidad de difusión disminuye. El nivel de aminas en las pozas se elevará hasta que las velocidades de difusión y de síntesis sean otra vez iguales. De interés considerable son los estudios recientes de microscopía electrónica que muestran que en las células nerviosas las mitocondrias (que contienen MAO) están localizadas alrededor de un compartimiento que aparentemente contiene los gránulos [De Lorenzo, A. J.⁹].

Sin embargo, se ha observado que el bloqueo de la MAO en terminaciones nerviosas periféricas usualmente no incrementa los niveles de las aminas. El por qué de este comportamiento puede estar relacionado a la diferente permeabilidad de las terminaciones, al compararla con la de la barrera hemato-encefálica. Después del bloqueo de la MAO la difusión hacia la circulación es pro-

bablemente lo bastante rápida como para prevenir el alza de la amina [Brodie y Costa ⁴].

BIBLIOGRAFIA

1. Axelrod, J., H. Weil-Malherbe and R. Tomchick: *The physiological disposition of H³-epinephrine and its metabolite metanephrine*. J. Pharmacol. Exptl. Theraps. 127: 251, 1959.
2. Blaschko, H., P. Hagen and A. D. Welch: *Observations on the intracellular granules of adrenal medula*. J. Physiol. 129: 27, 1955.
3. Brown, G. L., H. H. Dale and W. Feldberg: *Reaction of the normal mammalian muscle to acetylcholine and to eserine*. J. Physiol. 87: 394, 1936.
4. Bodie B. and Costa E.: *Some current views on brain monoamines*. Psychopharmacol. Service Center Bull. 2: 1, 1962.
5. Dale, H. H.: *Transmission of nervous effects by acetylcholine*. Harvey Lectures. 32: 229, 1937.
6. Dale, H. H., W. Feldberg and M. Vogt: *Release of acetylcholine at voluntary motor nerve endings*. J. Physiol. 86: 353, (1936).
7. D'lorio A.: *The release of catecholamines from the isolated chromaffine granules of the adrenal medulla using sulfhydryl inhibitors*. Can. J. Biochem. Physiol. 35: 395, (1957).
8. Dengler, H. J., H. E. Spiegel, E. O. Titus: *Uptake of tritium-labeled norepinephrine in brain and other tissues of cat in vitro*. Science. 133: 1072 (1961).
9. De Lorenzo, A. J.: Bull John Hopk. Hosp. 108: 258 (1961). Citado por Brodie y Costa, 4.
10. Del Castillo J. y B. Katz: *Biophysical aspects of neuromuscular transmission*. En: *Progres in Biophysics and Biophysical Chemistry*. Editor: J. A. V. Butler, vol. 6, p. 122. Pergamon Press. London, 1956.
11. De Robertis E., G. Rodríguez de Lores Arnaiz, L. Salganicoff, A. Pellegrino de Iraldi and L. M. Zieher: *Isolation of synaptic vesicles and structural organization of the acetylcholine system within brain nerve endings*. J. Neurochem. 10: 225, (1963).
12. Ephrenpreis S.: *Isolation and identification of the acetylcholine receptor protein of electric tissue*. Biochim. Biophys. Acta 44: 561 (1960).
13. Fatt, P.: *Electromotive action of acetylcholine at the motor end-plate*. J. Physiol. 111: 408, (1950).
14. Fatt, P. and B. Katz: *An analysis of the end-plate potential recorded with an intracellular electrode*. J. Physiol. 115: 320, (1951).
15. Fatt, P. and B. Katz: *Spontaneous subthreshold activity at motor nerve endings*. J. Physiol. 117: 109, (1952).
16. Giacobini, E.: *The distribution and localization of cholinesterases in nerve cells*. Acta Physiol. Scandinavica, Vol. 45: Suppl. 156 (1959).
17. Hillarp, N. A. Acta Endocrinológica, p. 181. Abstracts of Symposium Lectures, Ist. Internat. Congress of Endocrinology. Copenhagen, Julio, 1960.
18. Koelle, G. B.: *The localization of acetylcholinesterase in neurons*. En: *Progress in Neurobiology II. Ultrastructure and Cellular Chemistry of Neural Tissue*. Editor: H. Waelsch, Hoeber Harper. New York, p. 164, 1957.

19. Lawler, H. C.: *Turnover time of acetylcholinesterase*. J. Biol. Chem. 236: 2296, (1961).
20. Nachmansohn, D.: *The Harvey Lectures, 1953-1954*. New York Academic Press, 1954.
21. Nachmansohn, D.: *Chemical factors controlling nerve activity*. Science. 134: 1962, (1961).
22. Schoffeniels, E. and Nachmansohn: *An isolated single electroplax preparation I. New data on the effect of acetylcholine and related compounds*. Biochim. Biophys. Acta 26: 1 (1957); *Ibid.*, 26: 285 (1957).
23. Schoffeniels, E. and D. Nachmansohn: *Ion movements studied with single isolated electroplax*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 81: 286, (1959).
24. Wilson, I. B. and D. Nachmansohn. En: *Ion transport across membranes*. Editor: H. T. Clarke. Academic Press, p. 35, 1954.
25. Wilson, I. B. and M. Altamirano: *Action of tertiary and quaternary nitrogen derivatives upon the acetylcholine receptor*. En: *Progress in Neurobiology I, Neurochemistry*. Editores: S. Korey y J. Nuremberg. Hoeber-Harper, New York, p. 155 (1956).