

SOBRE LA NATURALEZA DE LOS RECEPTORES SINÁPTICOS¹

DR. JOSÉ DEL CASTILLO²

Este trabajo resume observaciones y especulaciones sobre la naturaleza, origen y función de un grupo de quimiorreceptores celulares: los sinápticos. La evolución de la idea de receptor se deslinda en tres períodos: uno inicial, farmacológico, en el que su existencia fue postulada como simple hipótesis de trabajo. En una segunda etapa —electrofisiológica— la función de los receptores sinápticos fue definida en términos de los cambios en las propiedades eléctricas de la membrana postsináptica que acaecen como consecuencia de su activación. Finalmente, la tercera fase, actual, se caracteriza por un abordaje multidisciplinario al problema de su origen y naturaleza química. Las observaciones más recientes sugieren que los receptores sinápticos son moléculas proteicas, sintetizadas por el citoplasma de la célula postsináptica, que emigran y se localizan en su membrana plasmática. La combinación del sitio activo, o aceptor, de estas moléculas con el transmisor sináptico o una droga específica, determina un cambio en su configuración que se refleja, a su vez, en una alteración de la permeabilidad iónica de la membrana. (GAC. MÉD. Méx. 98: 393, 1968.)

LA IDEA DE receptor, o si se prefiere de "aceptor químico" —para seguir la acertada sugerencia de Rafael Méndez y diferenciarlos, así, de los receptores sensoriales— es tan imprescindible para farmacólogos, neurofisiólogos y clínicos, como es la de electrón para los físicos. Ambos conceptos —electrón y receptor— fueron inicial-

mente construcciones teóricas inventadas para explicar ciertos aspectos de nuestro mundo sensorial —como el calor y la luz que emite una lámpara o el alivio del dolor gástrico que aflige a un ulceroso después de la administración de un anticolinérgico— en términos de entidades ni tangibles ni visibles.

No obstante, mientras que existe hoy día acuerdo unánime entre los físicos en lo referente a las propiedades del electrón, no todos los biólogos concuerdan en lo que por receptor debe entenderse:

¹ Trabajo por invitación presentado en la sesión ordinaria del 16 de agosto de 1967.

² Departamento de Farmacología, Escuela de Medicina, San Juan, Puerto Rico.

Para muchos, todavía, la palabra receptor es tan solo un cómodo retiro para nuestra ignorancia; un subterfugio para hablar de cosas que realmente no entendemos. Es mi propósito, sin embargo, en esta ocasión, el intentar convencerles de que bajo la palabra "receptor" se oculta una clase de *organellae* celulares, submicroscópicas, posiblemente macromoléculas proteicas, a cuya caracterización y conocimiento nos estamos acercando paulatinamente.

La forma más conveniente de introducirles a las ideas y problemática actuales sobre los quimiorreceptores será, quizás, resumir en breves rasgos su evolución. La historia de este concepto puede ser dividida en tres etapas: una inicial farmacológica; una segunda biofísica; y, por último, una tercera, en florecimiento hoy día, caracterizada por un abordaje multidisciplinario, dirigido a obtener datos sobre la naturaleza química, estructura molecular e historia natural de los receptores.

La idea de receptor germinó y creció en el seno de la Farmacología llegando a convertirse en un "Leimotiv" de esta disciplina. Paul Ehrlich, fundador de la quimioterapia, y Langley, uno de los primeros investigadores de la farmacología neuromuscular, suelen ser considerados como los introductores del concepto de receptor en biología.

Ehrlich llegó a tal ideal como resultado de sus estudios sobre drogas anti-infecciosas. Para que una droga actúe, razonó, sus moléculas tienen que combinarse previamente con grupos químicos o cadenas laterales en la superficie

celular. Con ocasión del XVII Congreso Internacional de Medicina, celebrado en Londres en 1913, condensó Ehrlich sus creencias sobre receptores en la expresión latina *corpora non agunt nisi fixata*,¹ o dicho en otra forma, menos castiza, los fármacos no actúan si no se fijan a la materia viva. Los receptores serían, simplemente, los puntos donde la unión entre droga y protoplasma tiene lugar.

Langley derivó pareja conclusión al analizar la acción de drogas sobre diferentes clases de tejido muscular.² Para que una droga actúe sobre un determinado tipo de tejido contráctil, las células musculares deben poseer una sustancia receptora o aceptora específica para tales moléculas.

Clark utilizó estas ideas para transformar a la Farmacología —hasta entonces basada en empirismos— en una disciplina si no exacta por lo menos cuantitativa. Su teoría de la ocupación de receptores,³ postula que el efecto de una droga sobre un sistema biológico es directamente proporcional a la fracción de los receptores combinados con la droga en un momento dado. Las relaciones cuantitativas entre dosis y efecto pudieron ser analizadas, merced a esta hipótesis, con ayuda de la ecuación de Michaelis-Menten y la isoterma de adsorción de Langmuir. Las ideas de Clark han sufrido significantes revisiones, adiciones y modificaciones, pero siguen constituyendo una firme base teórica para la interpretación y análisis de resultados experimentales.

Y es éste un momento oportuno para preguntarnos qué es lo que el farma-

cólogo puro —si existe tal especie— piensa sobre la constitución de los receptores y su localización en células y tejidos.

Puesto que un quimiorreceptor es considerado como el lugar donde una molécula entra en contacto, y se combina, con la materia viviente, los farmacólogos suelen concebirlos simplemente, como una faceta o plano del "protoplasma" por el que las moléculas de la droga tienen especial afinidad. En otras palabras, el receptor es imaginado como una superficie, más o menos accidentada, cuya topografía química corresponde o complementa a la superficie de la molécula de la droga. Tal correspondencia o complementariedad es la causa de la afinidad entre droga y receptor; condición previa, ineludible, para que su unión, y la consiguiente acción farmacológica, tengan lugar.

La superficie aceptora de muchos receptores ha sido explorada paciente y minuciosamente por los farmacólogos. El método seguido para ello ha consistido en comparar la actividad de cada uno de los miembros de series de compuestos homólogos, en las que la configuración de la molécula de un fármaco es deformada, paso a paso, hasta que su efecto se desvanece. De esta forma, la geografía de la superficie aceptora puede ser descrita en términos de funciones químicas y cargas eléctricas cuyas posiciones y distancias relativas son determinadas con referencia a las funciones o cargas complementarias en las moléculas estudiadas.

Es posible, sin embargo, obtener una

imagen detallada, precisa, de tal superficie aceptora sin conocer ni su naturaleza química, ni su localización. Aunque son muchos los farmacólogos que han hecho notables contribuciones a este problema, la caracterización química de la substancia receptora y su exacta ubicación en las células han sido, en general, consideradas en farmacología como cuestiones de interés secundario a la utilización del concepto de receptor como entidad hipotética, postulada puramente para dar razón de observaciones experimentales.

En realidad, el descubrimiento de la posición y función fisiológica de algunos receptores en el organismo, ha dependido, hasta ahora, de los avances realizados por disciplinas no farmacológicas. Por ejemplo, el progreso de la bioquímica demostró que ciertos receptores son, en realidad, los sitios activos de algunos enzimas. Por otro lado, el vigoroso desarrollo de la electrofisiología en las últimas dos décadas ha proporcionado detallada información sobre una importante categoría de receptores farmacológicos: los sinápticos. En efecto, la exploración de tejidos excitables con técnicas eléctricas demostró que los receptores para un gran número de drogas son las mismas estructuras que se combinan con substancias fisiológicas liberadas por otras células. Y ésto nos introduce en la segunda etapa —electrofisiología o biofísica— de la evolución histórica de la idea de receptor.

Una sinapsis, término acuñado por Sherrington previa consulta con sus colegas humanistas de Oxford, es la re-

gión donde dos células excitables, —dos neuronas, o neurona y célula muscular— entran en contacto anatómico y conexión funcional. A través de esa región, la actividad de una de las células —la llamada presináptica— controla la actividad de la otra célula —la postsináptica—. En algunas sinapsis, el potencial de acción presináptico determina la generación de otro potencial de acción en la célula postsináptica. El potencial de acción decimos, figurativamente, ha sido transportado o transmitido a través de la sinapsis.

Este proceso puede tener lugar de dos formas distintas.^{4,5} En una sinapsis —las llamadas eléctricas o electrotónicas— la transmisión depende del flujo de corriente eléctrica, portada por iones, desde la célula presináptica a la postsináptica. Parte de la energía disipada por el potencial de acción presináptico es, así, utilizada en excitar la membrana postsináptica.

En el otro tipo —las denominadas químicas— la excitación de la célula postsináptica no depende de la transferencia intercelular de energía. En lugar de cargas eléctricas, la célula presináptica envía una señal de naturaleza química a la célula postsináptica. Tales señales, son llamados mensajeros químicos, moléculas de tamaño relativamente pequeño descritas con el nombre de aminas biogénicas (como acetilcolina, epinefrina, etc.). Estas substancias, sintetizadas y almacenadas en la célula presináptica, son liberadas por el potencial de acción; difunden a través del angosto espacio que separa las dos membranas sinápticas y causan, final-

mente, la excitación de la célula postsináptica.

La comprensión cabal de este complejo proceso implica, entre otras cosas, el precisar el mecanismo por el cual las moléculas del transmisor determina la excitación de la membrana postsináptica. Un problema investigado con éxito singular durante la década del 1950, con ayuda de técnicas basadas en las micropipetas de vidrio intracelulares introducidas por Ling y Gerard en 1949.⁶ La aplicación de estas microtécnicas a diferentes sinapsis, y, en particular, a aquéllas con células postsinápticas de gran tamaño, suministraron información detallada sobre las propiedades de la membrana postsináptica en reposo y los cambios que en ella tienen lugar durante el proceso de transmisión.

En primer lugar se descubrió con ayuda de técnicas microelectroforéticas que la superficie de la célula postsináptica no es homogénea desde el punto de vista de su sensibilidad química. Mientras que la mayor parte de la superficie celular no reacciona a la aplicación del transmisor químico, su administración a las áreas de la membrana plasmática en contacto con las terminaciones nerviosas presinápticas, va seguida de una despolarización de la célula —de una caída de su potencial de reposo— que conduce a la excitación si rebasa un valor crítico, umbral.

En segundo lugar, se demostró que la resistencia eléctrica entre el citoplasma de la célula postsináptica y el líquido extracelular disminuye súbita y drásticamente cuando se aplica el transmisor

a las áreas sensibles de la membrana.^{7, 8} Lo que indica que acaece un intenso aumento de su permeabilidad iónica.

Estas observaciones demostraron que la excitación de la célula postsináptica por el transmisor químico constituye, en esencia, un proceso de amplificación electroquímico. En él, la señal de entrada —la información aportada por el transmisor— controla la liberación de parte de la energía almacenada en la propia célula postsináptica. Y es, precisamente, esta energía la que determina la excitación eléctrica de la célula postsináptica.

Por último, la aplicación del transmisor químico a las zonas sensibles de la membrana plasmática desde el citoplasma,⁹ *tour de force* hecho posible, también, por las finas pipetas de vidrio, mostró que la cara interna —citoplasmática— de tal membrana carece de la propiedad de reaccionar a los mensajes presinápticos. Esto indica que la membrana es una estructura asimétrica desde el punto de vista de su reactividad química.

Aunque estas observaciones explicaron el proceso de transmisión sináptica, al tratar de sistematizarlas y resumirlas se vieron obligados los electrofisiólogos a tomar prestada de los farmacólogos la idea de receptor. En efecto, tales resultados experimentales pueden ser descritos de forma sucinta y coherente si asumimos que en la superficie de la célula postsináptica existen quimiorreceptores específicos cuya combinación con el transmisor sináptico se transmuta en un aumento en la permeabilidad iónica de la membrana plasmática.

De esta forma, los quimiorreceptores celulares dejaron de ser entidades hipotéticas, abstractas y pasaron a ser concebidos como delicados mecanismos valvulares incluidos en la membrana plasmática. Merced a ellos, la resistencia que tal membrana ofrece a los movimientos de iones a su través, es controlada desde lugares remotos mediante señales químicas; neurohormonas o drogas.

Como consecuencia de la fusión de conceptos farmacológicos clásicos con los resultados de la experimentación biofísica, surgió una novel imagen de los receptores que puede resumirse de la siguiente forma:

a) La sensibilidad química específica de ciertas regiones de la superficie celular a las moléculas de drogas y transmisores es debida a la existencia, en tales parajes de su membrana, de ciertas entidades estructurales denominadas, por convención, receptores.

b) Suele creerse que solamente una zona restringida de cada receptor, la superficie aceptora, entra en combinación directa con la droga o transmisor.

c) Tal superficie parece estar situada en la interfase que separa la membrana plasmática del líquido extracelular. Esta región del receptor es, a menudo, imaginada como la parte que en un témpano flotante emerge sobre el agua. El resto de la estructura receptora estaría sumergida en la membrana.

d) Los receptores están polarizados; es decir, orientados de tal forma que sus superficies aceptoras se dirigen solamente hacia la cara externa de la membrana, y no a su superficie interna.

e) Se cree que —al menos durante cortos períodos experimentales— los receptores existen en números constantes y ocupan posiciones fijas en la membrana.

f) Debido a la característica topografía química de la superficie aceptora, los receptores poseen un alto grado de especificidad química. Es decir, reaccionan solamente con moléculas que poseen una configuración y distribución de cargas eléctricas que corresponden, o complementan, a las existentes en la superficie aceptora.

g) La reacción entre un receptor y una molécula de droga o transmisor da lugar a la formación de un complejo en el cual las funciones químicas y cargas complementarias de sus dos mitades se unen por enlaces reversibles, relativamente débiles.

h) Como resultado de la formación del complejo droga-receptor se abren nuevos canales penetrables por iones, a través de la membrana. En consecuencia, su resistencia eléctrica disminuye de forma honda e intensa y —en el caso de las sinapsis excitadoras— el potencial de membrana se reduce, iniciándose así el proceso de excitación eléctrica que da lugar al potencial de acción postsináptico.

A pesar de que esta nueva imagen de los receptores, considerados como válvulas iónicas controladas químicamente y, en consecuencia, como mecanismos a la vez transmutadores y amplificadores representó un considerable avance, debemos reconocer que las técnicas eléctricas son, por sí solas, insuficientes para proporcionar información

sobre la naturaleza y funcionamiento de los mecanismos receptores. Es decir, sobre su configuración molecular, sobre los rasgos topográficos que determinan su especificidad química y los cambios y mecanismos merced a los cuales su interacción con la droga o transmisor determina un aumento en la conductancia iónica de la membrana. Tales respuestas no pueden ser obtenidas en experimentos puramente farmacológicos, que nos dicen tan solo que los receptores deben existir, o electrofisiológicos, que revelan simplemente los cambios en las propiedades de la membrana plasmática que acaecen como consecuencia de su activación.

De suerte que, si queremos saber qué son, realmente, los receptores es menester estar dispuestos a manipularlos y alterarlos, aislarlos y destruirlos, inducir su aparición en células y reproducirlos o imitarlos en sistemas artificiales; algo que requiere, necesariamente, un abordaje polifacético, multidisciplinario. Los últimos diez años se han caracterizado por una creciente actividad experimental sobre este tema.

Varios investigadores, por ejemplo, han intentado aislar las sustancias receptoras. Para cualquiera dotado de inclinaciones bioquímicas, el método más atractivo para averiguar la naturaleza de los receptores será, simplemente, el homogenizar células o tejidos y aislar o purificar la sustancia receptora después de marcarla con la droga o transmisor correspondiente. Este ha sido, al fin y al cabo, el método básico, y en sobremanera fértil, de la enzimología. Las reacciones catalizadas por

diferentes enzimas no pueden ser conocidas con exactitud hasta que cada enzima no haya sido aislada.

El caso es que, por una razón muy fundamental, este procedimiento ha fracasado al ser aplicado a los receptores sinápticos. El aislamiento de la "substancia aceptora" es posible, en principio. Pero en el momento en que las estructuras celulares circundantes se destruyen, no hay forma inequívoca de saber si la substancia que buscamos está aún presente en nuestras preparaciones. En efecto, un receptor no puede ser dissociado del ambiente celular en que se halla incluido sin que deje de ser tal receptor.

Hasta la fecha ha habido tres intentos distinguidos de aislar receptores colinérgicos. Dos de ellos^{10,11, 12, 13} que utilizaron como punto de partida el órgano eléctrico de peces, condujeron a conclusiones interesantes, pero no inequívocas. El tercero, cuyos resultados acaban de ser comunicados por De Robertis al VIII Congreso Latino-Americano de Ciencias Fisiológicas,¹⁴ ha partido de membranas sinápticas aisladas mediante homogenización y ultracentrifugación. De ellas se ha extraído una proteína dotada de gran afinidad por el transmisor químico.

Otra forma de abordar este problema es el intentar la destrucción o inactivación de receptores mediante tratamiento con diversos agentes físicos y químicos como enzimas y agentes que desnaturalizan proteínas (urea, altas temperaturas, etc.).

Sin embargo, el hecho de que las respuestas contráctiles de un tejido a un fármaco, desaparezcan o disminuyan a

raíz de diversos tratamientos¹⁵ no demuestra, en rigor, que los receptores hayan sido alterados o destruidos. La contracción del tejido muscular, índice más común para evaluar la combinación y activación de sus receptores, depende, en realidad, de una compleja constelación de factores, entre los que se cuentan no sólo la disponibilidad de los receptores apropiados, sino también la existencia de un potencial de membrana adecuado, de concentraciones de calcio suficientes en los depósitos intracelulares y la integridad de la maquinaria contráctil. Factores, tantos y tan diversos, que han de ser analizados, separadamente, antes de poder llegar a conclusiones.

Un grupo de experimentos que ha proporcionado importante información sobre el posible origen celular de los receptores sinápticos son aquellos dedicados a estudiar la influencia ejercida por la motoneurona sobre la sensibilidad química del músculo estriado.

Como hemos mencionado, la superficie de las fibras musculares normales, invadidas, es sensible a la acción despolarizante de la acetilcolina únicamente en las áreas subyacentes a las terminaciones motoras. La denervación crónica; es decir, la sección y subsiguiente degeneración de los nervios motores causa, sin embargo, drásticos cambios en la distribución anatómica de tal sensibilidad. Como demostraron por vez primera Ginetzinsky y Shamarina¹⁶ en Rusia, las áreas de la membrana sensibles al transmisor desbordan en el músculo denervado la región sináptica llegando a invadir toda la superficie de la fibra muscular.

El fenómeno opuesto acaece cuando el nervio motor regenera y restablece sus conexiones funcionales con el músculo. En efecto, cuando esto ocurre, los receptores regresan, restringiéndose de nuevo a la región subsináptica. Miledi y sus colaboradores han demostrado que estos cambios no son patológicos, sino parte del patrón normal de desarrollo ontogenético del tejido muscular. En el embrión y en el feto, el músculo estriado, virgen aún de inervación motora, es sensible a la acetilcolina en toda su superficie. Sin embargo, cuando las fibras motoras establecen sinapsis con el músculo, las áreas quimiosensibles se revienen, alcanzándose, así, el patrón adulto de sensibilidad.

Estas observaciones se han interpretado en términos de cambios en la densidad y distribución de los receptores colinérgicos. El aumento en la superficie de la membrana que responde con una despolarización a la aplicación de la acetilcolina refleja, se piensa, la proliferación y diseminación de los receptores colinérgicos, mantenidos a raya de alguna forma, hasta ese momento, por la inervación motora.

El hecho de que los receptores se multipliquen y extiendan cuando la inervación motora degenera, sugiere que son sintetizados por la propia célula muscular. Idea, ésta, confirmada por los experimentos de Katz y Miledi¹⁷ mostrando que si una región de un músculo libre de terminaciones motoras, se separa quirúrgicamente de la zona que contiene las sinapsis neuromusculares, la superficie completa de los fragmentos aislados de las fibras se

hace sensible al transmisor. En otras palabras, las fibras desconectadas de las terminaciones motoras sintetizan receptores sin ninguna restricción.

A la luz de estas observaciones puede concluirse, pues, que el nervio motor ejerce una poderosa influencia inhibidora sobre los quimiorreceptores musculares. El mecanismo de este proceso es desconocido, pero es razonable suponer que se ejerce por intermedio de una substancia inhibidora liberada por las terminaciones nerviosas. Este hipotético agente puede ejercer una influencia bloqueadora sobre la síntesis de receptores, o, quizá, enmascarar funcionalmente a los receptores ya presentes en la membrana (impidiendo, o su combinación con el transmisor, o los cambios de permeabilidad que trae consigo tal interacción).

Existen resultados experimentales que hacen suponer que la liberación del agente inhibidor por las terminaciones nerviosas presinápticas debe estar íntimamente asociada a la liberación del transmisor. Es posible que ambas substancias estén ya ligadas, química o estructuralmente, en el interior de las terminaciones presinápticas.

El hecho de que, en el músculo normal, inervado, la sensibilidad a la acetilcolina esté restringida a las áreas de la membrana plasmática subyacentes a las terminaciones motoras —donde la concentración del factor inhibidor debe alcanzar máximo valor— plantea un serio problema. Y ésto ha conducido a sospechar la existencia de un segundo factor neural, una substancia o agente que, en altas concentraciones antagoni-

za al factor inhibidor. Así se explicaría que su efecto se limite a la región subsináptica.

Katz y Miledi han observado¹⁸ que si una fibra muscular es lesionada aparecen nuevos receptores colinérgicos no solamente en la región de la fibra distal a la lesión, sino también, pero en forma más limitada, en la región proximal. Esto indica que el factor inhibidor se escapa de la célula o es de alguna forma inactivado en los puntos donde su membrana se lesiona.

Si se suspende en una solución salina, de composición apropiada, caliente y oxigenada, un fragmento de músculo liso (íleo o útero) procedente de un animal inmunizado a una proteína y se añade a tal baño una pequeña cantidad del antígeno específico, el tejido responde con una contracción. Este fenómeno es conocido con el nombre de "reacción de Schultz-Dale" desde que fue descrito, independientemente, por estos autores hace ya más de diez lustros.^{19, 20}

Existe una gran semejanza entre la reacción de Schultz-Dale y las respuestas del músculo a transmisores sinápticos. Por definición el tejido sensibilizado inmunológicamente posee receptores químicos para el antígeno. Tal sensibilidad se debe, es bien sabido, a la incorporación en el tejido muscular, ya sea *in vivo* o *in vitro*, de un tipo bien definido de moléculas proteicas: los llamados anticuerpos. Es inevitable, por tanto, sospechar que los anticuerpos capturados por el tejido funcionan, de por sí, como receptores. Esto fue sugerido, por vez primera, por Sir Henry

Dale, quien en la *Croonian Lecture* de 1919 ante la Real Sociedad de Londres definió a los anticuerpos como un tipo particular de substancia receptora que podemos tener aislada en un tubo de ensayo.²¹

Las reacciones anafilácticas ofrecen, por tanto, al fisiólogo una oportunidad incomparable para experimentar con sistemas biológicos en los que podemos inducir a voluntad la aparición de nuevos receptores. Sin embargo, esta oportunidad no ha sido aprovechada hasta estos últimos años. Durante décadas, la contracción anafiláctica del músculo inmunizado se ha explicado, exclusivamente, por la liberación de compuestos farmacológicamente activos (aminas biogénicas) en el seno de los tejidos en virtud de la reacción inmunológica.²² Estas moléculas se creen almacenadas en elementos celulares no musculares, particularmente en las células cebadas. Esto implica que las células cebadas deben poseer receptores específicos para el antígeno; pero, por el momento, debido a las pequeñas dimensiones de tales células, sus receptores se escapan a una investigación electrofisiológica directa.

Una revisión crítica de la extensa bibliografía existente sobre la reacción anafiláctica revela, como ha hecho resaltar recientemente Alonso de Florida,²³ muchas observaciones experimentales que no pueden explicarse fácilmente por la hipótesis de la liberación de mediadores químicos. En efecto, existen serias y frecuentes discrepancias entre la sensibilidad farmacológica de diferentes preparaciones y

lo que conocemos sobre los transmisores químicos liberados en tales tejidos por la interacción antígeno-anticuerpo.

Tales discrepancias podrían ser explicadas individualmente por hipótesis *ad hoc* postulando la liberación de nuevos mediadores. Sin embargo, una explicación más simple y general es el asumir que aparte de su efecto sobre la liberación de mediadores químicos, los antígenos específicos ejercen una acción directa sobre la permeabilidad y las propiedades eléctricas de la membrana muscular. En otras palabras, que esta membrana posee receptores específicos para el antígeno: posiblemente las mismas moléculas de anticuerpo.

Esta idea ha sido confirmada recientemente en experimentos realizados sobre el músculo diafragmático denervado del cobayo; un tejido que exhibe contracciones anafilácticas semejantes a las descritas por Schultz y Dale en la musculatura lisa.^{19, 20} En efecto, si se aplica directamente, con una microválvula,²⁴ una pequeña cantidad de proteína a la superficie de una fibra muscular denervada procedente de un cobayo inmunizado a esa misma proteína, se observa la ocurrencia de una despolarización semejante a la causada por la acetilcolina en la membrana postsináptica. Una despolarización que está asociada, también, a una drástica disminución en la resistencia de la membrana muscular.²⁵

Puede concluirse, por tanto, que los anticuerpos incorporados a la membrana muscular denervada se comportan como receptores específicos para el antígeno.

El reciente desarrollo de técnicas para formar membranas lipoideas artificiales, cuyas propiedades físicas se asemejan a las de las membranas celulares naturales,²⁶ ofrece interesantes posibilidades al experimentador. Una de ellas es el tratar de incorporar en tales estructuras algunos de los mecanismos que operan en las membranas naturales.

Las observaciones, que acabo de resumir, sobre la acción despolarizante de antígenos específicos en el músculo denervado e inmunizado del cobayo, nos indujeron a investigar si la adsorción de anticuerpos a membranas lipoideas artificiales conferiría a éstas, también, sensibilidad química específica a los antígenos correspondientes.

Experimentos preliminares²⁷ demostraron que, en efecto, la impedancia transversal de ciertas membranas artificiales expuestas a un anticuerpo, experimenta una honda y reversible disminución cuando se añade al sistema una pequeña cantidad del antígeno específico. Dicho en otra forma, la reacción inmunológica que tiene lugar en la interfase que separa el lípido de la solución acuosa determina una ruptura transitoria de la barrera lipoidea subyacente; fenómeno semejante al observado en el músculo denervado del cobayo.

Una explicación plausible de este efecto es el pensar que la disminución súbita en la impedancia de tales membranas —un cambio que refleja un aumento en su permeabilidad iónica, y por tanto, una alteración en su estructura— puede ser debida a la modificación transitoria que la forma de las

moléculas del anticuerpo, en este caso adsorbidas o incorporadas a la membrana artificial, sufren como consecuencia de su interacción con el antígeno.

La reacción o combinación del antígeno con el anticuerpo, que solía imaginarse como el fácil y suave acoplamiento de dos estructuras moleculares complementarias (de donde el modelo de la llave y cerradura) es concebida, hoy día, por los inmunoquímicos como la unión forzada y violenta de dos configuraciones espaciales que no llegan a casar exactamente. Por ello, la idea de complementariedad entre antígeno y anticuerpo, ha sido substituida por la de "cuasi-complementariedad".²⁸ Y es, precisamente, tal falta de correspondencia entre las dos moléculas lo que determina que en el momento de su unión sus formas se alteren y sufran una considerable "desfiguración". Se ha demostrado, en efecto, que el volumen, la actividad óptica y número de grupos —SH expuestos de la molécula del anticuerpo cambian marcadamente durante su reacción con el antígeno.

No es sorprendente, por tanto, que si las moléculas del anticuerpo están ligadas a la membrana en el momento de reaccionar con el antígeno, el cambio que su forma experimenta sea reflejado en la estructura de la película lipoidea, y, por ende, en un cambio en su permeabilidad.

Estas ideas recibieron apoyo de los resultados de un grupo de experimentos en los que se empleó otro sistema bioquímico en el cual también se sospechan cambios en la configuración de moléculas proteicas; a saber, la interacción entre enzima y substrato.

Koshland²⁹ y otros autores han postulado que la formación del complejo enzima-substrato va acompañada por un cambio en la forma de la molécula de la proteína catalítica, que sería necesaria para el preciso arreglo y orientación de los grupos que constituyen el sitio activo. Era de esperar, por tanto, que si las moléculas de un enzima son adsorbidas a una membrana lipoidea artificial, sin perder su especificidad biológica y actividad catalítica, los cambios estéricos que resultan de su interacción con el substrato podrían dar lugar, también, a una alteración en la impedancia de la fase lipoidea.

Estas expectativas fueron confirmadas en experimentos en que membranas artificiales fueron tratadas con diversos enzimas y expuestas, después, a los substratos específicos correspondientes. La adición del substrato al sistema causó cambios de impedancia semejantes a los que fueron observados trabajando con proteínas inmunológicas.²⁷

Podemos, ahora, intentar recapitular a grandes rasgos los resultados e hipótesis que hemos presentado.

La idea de receptor, como vimos, fue introducida en Farmacología a título de hipótesis de trabajo necesaria para dar razón de los efectos de algunas drogas. El primer eslabón en la cadena que conduce a su acción farmacológica sería de acuerdo con tal hipótesis su combinación con ciertos sitios específicos de la materia viviente. Áreas o facetas, éstas, de dimensiones moleculares y de localización no definida, cuya topografía química correspondería, o complementaría, a la de las moléculas

de la droga. Consecuencia de tal complementariedad sería la afinidad química existente entre droga y receptor. Tal hipótesis tuvo extraordinario éxito y permitió asentar a la farmacología sobre firmes cimientos cuantitativos.

No obstante, la identificación de ciertos receptores y el descubrimiento de su precisa ubicación en células y tejidos, ha dependido, como indicamos, del progreso realizado por otras disciplinas, no farmacológicas. Dos clases principales de receptores fueron así determinadas. Unos resultaron ser los grupos activos de algunos enzimas. Otros, más importantes desde el punto de vista del número de drogas que con ellos se combinan, son idénticos a los denominados receptores sinápticos; únicos a que nos hemos referido.

El concepto de receptor sináptico surgió, vimos, para explicar los cambios producidos por los transmisores químicos en las regiones de la membrana plasmática en contacto con las terminaciones nerviosas. De esta forma, los receptores dejaron de ser superficiesceptoras de naturaleza vaga e hipotética, y pasaron a ser concebidos como mecanismos que regulan la permeabilidad de la membrana celular. La superficie aceptora, expuesta al medio extracelular, y las partes del receptor sumergidas en la substancia de la membrana, fueron, a menudo consideradas como regiones distintas de una única molécula. Las técnicas electrofisiológicas, sin embargo, fueron incapaces de proporcionar información sobre la naturaleza de tales entidades.

Lo que hemos considerado como una

tercera etapa en el estudio de los receptores está hoy día en pleno desarrollo. Los cambios en la sensibilidad química del músculo esquelético denervado, han demostrado que los quimiorreceptores no son inmutables, sino que, por el contrario, pueden ser considerados como *organellae*, como "organitos" celulares submicroscópicos sintetizados continuamente por el citoplasma de la fibra muscular, cuyo número y exacta distribución están bajo el control de las terminaciones nerviosas presinápticas. En ausencia de tal influencia trófica, los receptores son fabricados sin restricción y proliferan hasta cubrir toda la superficie de la célula muscular. Esto es lo que ocurre en el músculo embrionario y fetal, o cuando la inervación motora se interrumpe crónicamente en un músculo adulto.

El lugar exacto en el citoplasma donde los receptores se sintetizan es desconocido. Y tampoco conocemos su composición química. Sin embargo, el hecho de que la musculatura esquelética denervada de cobayas inmunizados, desarrolle quimiorreceptores específicos a los antígenos correspondientes sugiere que simples moléculas proteicas, en este caso los anticuerpos, son capaces de funcionar como receptores en la membrana. Idea que ha recibido considerable apoyo de los resultados, aún preliminares, de los experimentos realizados en sistemas artificiales.

Estas observaciones incitan a considerar a los receptores como macromoléculas proteicas. Desde el lugar de su manufactura en el citoplasma, los receptores parecen emigrar a la membra-

na plasmática en cuya estructura se incorporan de tal forma que cambios en su configuración se reflejan en la resistencia que opone tal membrana al paso de iones entre el citoplasma y el medio extracelular.

La superficie aceptora del receptor —que puede equipararse al sitio activo de las moléculas enzimáticas— quedaría expuesto a la solución extracelular; accesible, por tanto, a las moléculas en ella disueltas. La interacción entre tal sitio activo y una molécula “cuasi-complementaria” de droga o transmisor tendría como consecuencia un cambio en la configuración de la molécula receptora lo que, a su vez, determinaría la apertura de canales acuosos a través de la membrana.

SUMMARY

The nature, source and function of the synaptic chinioreceptors are described. A pharmacologic, an electrophysiologic and a multidisciplinary stage, the latter centering around the chemical approach, may be recognized in the evolution of the concept about these receptors. Recent observations suggest that they are protein molecules, synthesized in the cytoplasm of the post-synaptic cell, who emigrate and localize on their plasmatic membrane. The combination of the active site or acceptor of the molecules with the synaptic transmitter or a specific drug, induces a change in its configuration, which in turn reflects itself in an alteration in the ionic permeability of the membrane.

REFERENCIAS

1. Ehrlich, P.: *The collected papers of Paul Ehrlich*. Vol. 1, (Londres). Pergamon Press, 1956.
2. Langley, J. N.: *On the nerve endings, and on special excitable substances in cells*. Proc. Roy. Soc. B., 78: 170, 1906.
3. Clark, A. J.: *The mode of action of drugs on cells*. Londres, Arnold, 1933.
4. Del Castillo, J.: *The transmission of excitation from nerve to muscle*. Res. Publ. Ass. Nerv. Ment. Dis., 38: 90, 1961.
5. Katz, B.: *Nerve, muscle, synapsis*. McGraw-Hill, Inc. New York, 1966.
6. Ling, G. y Gerard, R. W.: *The normal membrane potential of frog sartorius fibers*. J. Cell. Comp. Physiol. 34: 383, 1949.
7. Fatt, P. y Katz, B.: *An analysis of the end-plate potential recorded with an intracellular electrode*. J. Physiol. 115: 320, 1951.
8. Del Castillo, J. y Katz, B.: *The membrane change produced by the neuromuscular transmitter*. J. Physiol., 125: 546, 1954.
9. Del Castillo, J. y Katz, B.: *Electrophoretic application of acetylcholine to the two sides of the end-plate membrane*. J. Physiol. 125: 16, 1954.
10. Chagas, C.: *En: Curare and curare-like agents*. Ed. por Bovet, D. Bovet-Nitti, F. y Marine-Bettolo, G. B. Amsterdam, Elsevier 1959. p. 327.
11. Hassón, A. y Chagas, G.: *Purification of macromolecular components of the aqueous extract of the electric organ E. Electricus (4) with binding capacity in vitro, for quaternary ammonium bases*. En *Bioelectrogenesis*. Amsterdam, Elsevier. 1961. p. 362.
12. Ehrenpreis, S.: *Interaction of curare and related substances with acetylcholine receptor-like protein*. Science, 129: 1613, 1959.
13. Ehrenpreis, S.: *Isolation and identification of the acetylcholine receptor protein of electric tissue*. Biochem. Biophys. Acta 44: 561, 1960.
14. De Robertis, E.: *Comunicación al VIII Congreso de la Asociación Latinoamericana y X Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas México, 1967*.
15. Woolley, D. W. y Gommi, B. W.: *Serotonin receptors: V Selective destruction by neuraminidase plus EDTA and reactivation with tissue lipids*. Nature. 202: 1074, 1964.

16. Ginetzinsky, A. G. y Shamarina, N. M.: *The tonomotor phenomenon in denervated muscle*. Uspekhi Sovremennoi Biologii, 15: 283, 1942.
17. Katz, B. y Miledi, R.: *The development of acetylcholine sensitivity in nerve-free muscle segments*. J. Physiol. 156: 24, 1961.
18. Katz, B. y Miledi, R.: *The development of acetylcholine sensitivity in nerve-free segments of skeletal muscle*. J. Physiol. 170: 389, 1964.
19. Schultz, W. H.: *Physiological studies in anaphylaxis. II The reaction of smooth muscle of the guinea-pig sensitized with horse serum*. J. Pharmacol. Exptl. Therap. 1: 549, 1910.
20. Dale, H. H.: *The anaphylactic reaction of plain muscle in the guinea-pig*. J. Pharmacol. Exptl. Therap. 4: 167, 1913.
21. Dale, H. H.: *Croonian lecture: The biological significance of anaphylaxis*. Proc. Roy. Soc. B. 91: 126, 1920.
22. Mongar, J. L. y Schild, H. O.: *Cellular mechanisms in anaphylaxis*. Physiol. Rev., 42: 226, 1962.
23. Alonso de Florida, F.: *Ideas sobre la excitación celular en la anafilaxia*. GAC. MÉD. MÉX. 94: 1027, 1964.
24. Bryant, S. H., Del Castillo, J., García, Xaviera, Gijón, E. y Lee, C. F.: *An electrically operated micro-tap*. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 23: 573, 1967.
25. Alonso de Florida, F., Del Castillo, J., García, Xaviera y Gijón, E.: *Mechanism of the Schultz-Dale reaction in the denervated diaphragmatic muscle of guinea-pig*. En preparación.
26. Mueller, P., Rudin, D. O., Ti Tien, H. y Wescott, W. C.: *Reconstitution of excitable cell membrane structure in vitro*. Circulation. 26: 1167, 1962.
27. Del Castillo, J., Rodríguez, A., Romero, C. A. y Sánchez, V.: *Lipid films as transducers for detection of antigen-antibody and enzyme substrate reactions*. Science. 153: 185, 1966.
28. Najjar, V. A.: *Some aspects of antibody-antigen reactions and theoretical considerations of the immunologic response*. Physiol. Rev. 43: 243, 1963.
29. Koshland, D. E.: *Correlation of structure and function in enzyme action*. Science. 142: 1533, 1963.