

REAL ACADEMIA DE FARMACIA
DE BARCELONA

**PAPEL DE LAS PROTEINAS G
EN EL SISTEMA RECEPTOR-EFECTOR**

DISCURSO

leído por el Académico Numerario electo

Dr. D. JORGE CAMARASA GARCIA

en el acto de su recepción celebrado en la

Real Academia de Farmacia de Barcelona

el día 12 de Marzo de 1992

BARCELONA

EXCELENTISIMO SR. PRESIDENTE

EXCELENTISIMOS E ILUSTRISIMOS SEÑORES

MUY ILUSTRES SEÑORES ACADEMICOS

SEÑORAS Y SEÑORES

Si a duda, es para mí un motivo de especial satisfacción el que esta Real Academia de Farmacia de Barcelona me haya acogido en su seno como Académico Numerario, ocho años después de que, en un acto de similares características, ingresara como Académico Correspondiente.

Mis primeras palabras de agradecimiento deben dirigirse a los Muy Ilustres Sres. Académicos Dres. Adzet, Iglesias y San Martín que, al valorar de forma harto benevolente mis escasos méritos, tuvieron a bien el elevar la correspondiente propuesta, la cual obtuvo en la sesión de votación correspondiente, la consideración de los restantes miembros de esta Docta Corporación, a los que hago extensivo mi más profundo agradecimiento.

Es en estos momentos de reconocimiento de la labor profesional, cuando afloran a mi mente personas y hechos, gracias a los cuales ha sido posible que mi modesta trayectoria haya recibido algún reconocimiento.

Desde el punto de vista personal, mi agradecimiento debe dirigirse en primer lugar a mis padres, cuya presencia física en este acto es especialmente emotiva para mí. A mi esposa, con quien he compartido mi vida en el más amplio sentido de la palabra, pues la identidad de vocaciones ha supuesto el mejor apoyo a mi tarea profesional tanto en el ámbito de la docencia como de la investigación. Con ella iniciamos el grupo de investigación en Farmacología Molecular que es ya hoy una realidad en nuestra Facultad de Farmacia y, sin ella difícilmente podría entender el quehacer diario.

Es obligado que en estas ocasiones el beneficiario haga una glosa del Académico Numerario cuya vacante vaya a cubrir. Sin embargo en esta ocasión, mi elección no es fruto del desgraciado suceso del fallecimiento de un miembro de esta Real Academia, sino que se enmarca en la reorganización y en la creación de una nueva Sección, la de Ciencias Farmacológicas, fruto de la adecuación del marco institucional a la realidad del profesional farmacéutico.

No por ello debo de olvidar a quienes han contribuido de forma decisiva no tan sólo a mi formación universitaria, sino a mi formación de post-graduado y, muy especialmente, con quienes he compartido mis anhelos e inquietudes en los últimos quince años.

En primer lugar, deseo dedicar unas palabras al que es actualmente Presidente de Honor de esta Real Academia de Farmacia, el Prof. San Martín, en cuya Cátedra de Farmacognosia y Farmacodinamia fui admitido como alumno interno en 1975, marcando así el inicio de una labor ininterrumpida y de una relación cada vez más estrecha.

Mi personal agradecimiento se dirige, sin duda alguna, al Prof. Adzet, sucesor del Prof. San Martín en la Cátedra de Farmacognosia y Farmacodinamia de nuestra Facultad. El ha actuado de "Maestro" en el sentido más amplio y generoso de la palabra, y el impulso por él generado en nuestra Unidad es el que, sin duda, ha posibilitado que la investigación farmacológica, antaño olvidada, haya tenido el reconocimiento internacional que posee en la actualidad. Lo que en un principio fue una lógica relación basada en el respeto, es hoy en día, una relación basada en la amistad de la que particularmente me precio. Esta Real Academia no ha sido ajena a este sentir y le ha encomendado la contestación a mi discurso de ingreso, hecho que ha aceptado de forma incondicional, lo que corrobora esta amistad con mayúsculas.

Con idéntico sentir debo dirigirme al Prof. Iglesias, Catedrático igualmente de nuestra Unidad con quien he compartido una gran parte del quehacer diario. Desde el punto de vista académico fue el director tanto de mi Tesina de Licenciatura como de mi Tesis Doctoral. En momentos difíciles para mí supo prestarme el apoyo incondicional de quien hace de la amistad un sentimiento cotidiano.

Quiero recordar aquí a los Profesores de las Facultades de Farmacia y de Ciencias de los que fui alumno y que supieron infundirme el respeto y el amor a la Ciencia. Finalmente, mis palabras se dirigen a todos los miembros de la Unidad de Farmacología y Farmacognosia de nuestra Facultad, y muy especialmente a quienes comparten conmigo la Línea de Investigación cuyo contacto diario es, sin duda, enriquecedor.

Aparte de la responsabilidad personal y profesional que representa elaborar el discurso de ingreso para esta Real Academia, la elección del tema se convierte a menudo en algo complejo. Complejidad que viene derivada del hecho de adecuar las propias preferencias al selecto auditorio por una parte, y a la novedad científica por otra.

Si bien desde hace varios años, mi tarea profesional en el campo de la Farmacología se centra en la caracterización molecular de receptores (el receptor benzodiazepínico periférico es "nuestro" receptor y de él precisamente el Prof. Adzet disertó de forma brillante y autorizada en la Sesión Inaugural de esta Real Academia correspondiente a 1990), el dar una lista de su localización y reactividad farmacológica se aparta del lógico contenido de un discurso de ingreso.

Es por ello, que el tema escogido ha sido el de la amplificación de la respuesta farmacológica a través de un mecanismo como es el de las proteínas G,

cuya descripción se inicia en 1985, y en la que nuestro grupo investigador ha trabajado a nivel de la musculatura lisa.

Tema pues novedoso y, a la vez, suficientemente investigado para que les pueda ofrecer una visión de lo que actualmente sabemos de este sistema de proteínas cuya distribución parece ser bastante universal.

El sistema de proteínas G, al igual que cualquier otro sistema de segundos mensajeros que conforma los mecanismos de transducción de la respuesta a los fármacos, aparte del valor científico particular, tiene la importancia que a partir de 1985 no cabe ya plantearse el hecho de que la respuesta a los fármacos sea una consecuencia directa de la interacción fármaco-receptor, sino que, antes bien, la modulación de los sucesos bioquímicos que transcurren entre dicha interacción y la aparición del efecto final son los elementos clave de la regulación farmacológica.

Es en este contexto de pieza clave en la comprensión del efecto de los fármacos, que debemos abordar el estudio de cualquier sistema de segundos mensajeros, bien sean a nivel intracelular o de membrana, y en este último caso el sistema de las Proteínas G.

Por consiguiente, procederé a la lectura del discurso de ingreso sobre el papel de las proteínas G en el sistema receptor- efector.

Uno de los objetivos de la Farmacología moderna es el de elucidar y conocer con precisión los mecanismos de acción de los fármacos, sobre todo desde el punto de vista bioquímico y/o fisiológico. Es evidente que tanto el conocimiento del modo de acción de las sustancias utilizadas en terapéutica como el de sus efectos resultantes, es indispensable para una utilización racional de los fármacos y para proseguir en el descubrimiento de nuevos agentes más eficaces y mejor tolerados.

En este campo de la Farmacología, un avance de gran significado lo constituye la investigación en el campo de los receptores celulares. Gracias a dicha investigación, sabemos hoy en día que los efectos, favorables o indeseables, de los medicamentos, son debidos a la interacción molecular entre el fármaco y sus receptores específicos, los cuales son, en su mayoría, componentes proteicos (macromoleculares) de la célula. A partir de esta interacción se originan la totalidad de los procesos que van a caracterizar el efecto de los medicamentos en el organismo.

La teoría de la existencia de receptores celulares a los fármacos fue expresada

por primera vez por Langley en 1905 quien utilizó la denominación de "sustancia receptora" y realizó una serie de elegantes experimentos que lo llevaron a concluir que la estimulación de los receptores tisulares podía dar lugar a efectos diametralmente opuestos. Muy poco tiempo después, en 1907 Paul Ehrlich los denominó "quimiorreceptores". Es interesante el resaltar que el mismo Paul Ehrlich ya había anunciado en 1894 su concepto para explicar la neutralización de la toxina diftérica y otras toxinas por los anticuerpos, utilizando la famosa teoría de las cadenas laterales. Según esta teoría, las cadenas laterales serían estructuras químicas involucradas en los procesos biológicos comunes a todas las células, tales como la oxidación, crecimiento, etc., a diferencia de otras estructuras a las cuales corresponderían las funciones específicas de los distintos tipos celulares. Ehrlich postuló que la toxina tenía afinidad química específica por la antitoxina por lo cual deberían acoplarse la una a la otra. Al hacer esta comparación explicó el mismo símil que Fischer había ya utilizado para ilustrar la acción enzimática.

Aunque Ehrlich empleó originalmente la teoría de las cadenas laterales para explicar las bases del conocimiento de la inmunidad, tanto él como Langley lo extendieron al concepto de los receptores farmacológicos.

Langley desarrolló el mismo concepto siguiendo una metodología distinta. El demostró que tanto la nicotina como el curare tenían acción directa y antagónica a nivel de las células musculares y, dicha acción persistía aún después de seccionado el músculo. Langley concluyó que estos fármacos se deberían combinar con un componente celular al que denominó "sustancia receptora" la cual, a su vez, pondría en marcha las sustancias encargadas de originar las

funciones celulares más importantes tales como la contracción. Esta declaración encierra ya el germen de la idea de que la interacción del fármaco con su receptor específico no es la causa inmediata de la respuesta farmacológica sino que existen unas, según Langley "sustancias", que son las responsables de la puesta en marcha de mecanismos endógenos los cuales son, a su vez, los responsables últimos de la acción farmacológica. Asimismo, aunque erróneamente, Langley pensó que estas "sustancias" eran cadenas laterales de la molécula protoplasmática, reconociendo la semejanza de tal interpretación con la teoría de las cadenas laterales, propuestas por Ehrlich para establecer los cimientos de la inmunidad.

Por otra parte, el propio Ehrlich había emprendido una serie de estudios sobre quimioterapia de la tripanosomiasis, los cuales demostraron que el parásito adquiría resistencia frente a los fármacos ensayados de forma sucesiva. Estos resultados y los de Langley le permitieron afirmar en 1907 que los fármacos se fijaban a la célula por medio de los "quimiorreceptores".

No obstante las notables contribuciones de Ehrlich y Langley, la teoría de los receptores farmacológicos quedó durante 50 años como eso "una simple teoría" apoyada tan sólo por unas pocas evidencias experimentales.

Evidentemente, el panorama actual de la investigación farmacológica ha cambiado de forma radical. No tan sólo conocemos con bastante exactitud cuáles son los receptores farmacológicos implicados en el mecanismo de acción de un fármaco determinado, sino que dichas estructuras receptoras han sido aisladas.

caracterizadas y, en la actualidad, la mayoría de ellas clonadas, con lo cual se han despejado las dudas existentes acerca de su naturaleza funcional y orgánica.

La Farmacología Experimental y la Molecular, mediante técnicas en las que después incidiremos, sobre todo de índole bioquímico y biotecnológico han conseguido evidenciar la distribución anatómica y la mayoría de los mecanismos de activación e inactivación farmacológica que están muy lejos pero, filosóficamente muy cercanos, de las cadenas laterales de principios de nuestro siglo.

Muchos de los receptores que han sido caracterizados en la actualidad son componentes de la membrana celular y su papel es el de fijar un ligando apropiado (hasta aquí un concepto "estático" de receptor) así como el propagar su señal en la célula efectora, bien sea a través de un efecto directo o bien promoviendo la síntesis o la liberación de otra molécula reguladora intracelular denominada *segundo mensajero*.

La identificación de las dos funciones de un receptor, la fijación del ligando y la propagación de la señal han llevado a postular la existencia de dos dominios funcionales dentro de cada receptor:

- 1) Dominio de fijación del ligando.
- 2) Dominio efector.

Este concepto se apoya en la evolución de los distintos receptores para los

diversos ligandos que actúan a través de mecanismos bioquímicos similares, por una parte, y de múltiples receptores para un mismo ligando que actúa mediante mecanismos relacionados, por otra. La caracterización de la estructura de un receptor permite normalmente la identificación de estos dominios distintos dentro de la secuencia primaria de aminoácidos o de la estructura tridimensional de la proteína.

La reacción entre la molécula receptora y otras estrechamente relacionadas que conducen a la respuesta farmacológica, constituye el denominado sistema *receptor-efector*. El primer ejemplo conocido y muy estudiado de dichos sistemas lo constituye el sistema de la adenilato ciclasa sensible a hormonas. El receptor regula la actividad adenilato ciclasa, complejo enzimático que se convierte en el efector del sistema al sintetizar el AMPc como segundo mensajero. Hoy en día conocemos muy bien este sistema receptor-efector y podemos asegurar que dicho sistema es complejo ya que en él intervienen dos proteínas reguladoras y fijadoras de los nucleótidos de guanina (Proteínas G) que actúan como intermediarios entre el receptor y el enzima. Una permitiendo la transducción de señales estimuladoras y otra de inhibidoras.

Las señales efectoras pueden integrarse también en el interior celular como resultado de la interacción entre las vías de los distintos segundos mensajeros. Así pues, el AMPc ya hemos dicho que se sintetiza por acción de la adenilato ciclasa en respuesta a la activación de determinados receptores. Pero es que la adenilato ciclasa también es estimulada en las células neuronales por el calcio que actúa a

través de la calmodulina, la proteína reguladora responsable de la fijación del ión calcio. La hidrólisis del AMPc sintetizado se lleva a cabo por el sistema multienzimático de las fosfodiesterasas, que a su vez, pueden ser activadas por el calcio, la calmodulina o por el propio AMPc.

La concentración citoplasmática de calcio, un segundo mensajero de reparto universal, está controlada por la regulación de varios canales específicos para este ión o bien por la liberación del propio ión a partir de los depósitos intracelulares. Los canales de calcio pueden abrirse por despolarización eléctrica, interacción con proteínas G, fosforilación por proteinkinasa dependientes de AMPc o por iones K^+ o Ca^{2+} . La liberación de calcio a partir de sus depósitos intracelulares está mediada fundamentalmente por otro segundo mensajero: el inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3), producto éste último resultante de la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-difosfato por medio de la fosfolipasa C (Berridge, 1987), enzima regulado por al menos dos proteínas G distintas. El calcio regula la actividad celular al interactuar con diversas proteínas como, por ejemplo, la proteinkinasa C o la calmodulina. La activación de la proteinkinasa C por el calcio es potenciada por el diacilglicerol, el cual es otro producto de reacción de la fosfolipasa.

A través de esta visión amplia de la implicación de los segundos mensajeros en la respuesta farmacológica, hemos incidido ya en el campo de las denominadas Proteínas G que constituyen el marco del presente Discurso.

LAS PROTEÍNAS G

La evolución de los seres pluricelulares está unida a la capacidad que tienen sus células de comunicarse entre ellas. Esta comunicación se hace mediante una serie de intermediarios diversos como pueden ser las hormonas, los neurotransmisores, los factores de crecimiento, etc. La mayoría de estos intermediarios no penetran en el interior celular, es por ello, que dichos intermediarios o mensajeros son reconocidos por receptores situados a nivel de la membrana plasmática celular. Al estimularse estos receptores se produce una serie de fenómenos de tipo biofísico o bioquímico que podemos denominar "en cascada" que provocan uno o varios cambios en el comportamiento de la función celular como pueden ser la contracción, secreción, la propia división celular, etc. (Bockaert, 1986).

Sin duda, uno de los descubrimientos más importantes de los últimos cinco años y que, en su inicio fue infravalorado, es el de que la mayoría de los receptores farmacológicos entre los que podemos poner como ejemplo los adrenérgicos, hormonales, a diversos neurotransmisores, a la luz (rodopsina), al olfato, etc. actúan a través de un sistema proteico situado en la membrana. Este sistema es capaz de ligar al GTP y por ello se le denominó **EL SISTEMA DE LAS PROTEÍNAS G** (Neer y Clapham, 1988).

Cuando por medios farmacológicos activamos un determinado receptor, la proteína G asociada al mismo va a modificar la actividad de uno o varios enzimas.

Enzimas tan diversos como pueden ser la adenilato ciclasa, las fosfolipasas C o A₂ o una fosfodiesterasa dependiente de GMPC.

Iniciada la investigación sobre el papel de estas proteínas en la respuesta farmacológica, se caracterizaron 3 tipos distintos de proteínas G a las que se denominó G_s, G_i y G_t. Las dos primeras respondían al criterio de acoplamiento positivo (estimulador) o negativo (inhibidor) de ciertos receptores con la adenilato ciclasa, mientras que la tercera, también denominada "transducina" fue identificada como la responsable del acoplamiento entre la rodopsina y la fosfodiesterasa GMPC-dependiente de los conos y bastones retinianos.

En la actualidad conocemos un número cada vez más creciente de proteínas G, a título de ejemplo podemos citar:

G_O: abundante en las células neuronales y en otras células excitables (Homburger y col., 1987; Brabet y col., 1988).

G_P: responsable del acoplamiento entre el receptor (por ejemplo el alfa adrenérgico) y la activación de la fosfolipasa C.

G_{ins}: ligada al receptor a la insulina, etc.

El hecho de que no tan sólo conozcamos hoy en día distintos tipos de proteínas G, sino que se hayan descrito y caracterizado un número importante de isoformas para la mayoría de los tipos ya aceptados de proteínas G, han cambiado de forma radical el concepto sobre el papel de dichas proteínas en la respuesta

farmacológica.

Hoy en día se acepta la existencia de tres subtipos de la proteína G_i , cuatro de la G_s , dos de la G_o , y esto es sólo el inicio.

El papel clave de las toxinas bacterianas

Conocida la estructura del complejo trímero de las proteínas G, se inicia la etapa en la investigación de su reactividad frente a fármacos u otros complejos de ámbito biológico. A este nivel las toxinas bacterianas de *Vibrio cholerae* y de *Bordetella pertussis* han representado y siguen representando la herramienta de trabajo más útil en la investigación de aquellas respuestas farmacológicas en las que están implicadas distintos tipos de proteínas G.

Ambas toxinas son en realidad enzimas del tipo ADP-ribosiltransferasa que catalizan la ADP-ribosilación del NAD^+ a la subunidad alfa de la proteína G. La unión de ambas toxinas a las correspondientes subunidades alfa se lleva a cabo de forma covalente, por lo que ahí reside la importancia en cuanto a la elucidación de los mecanismos de acción de determinados fármacos.

Bajo el punto de vista de las toxinas, podemos dividir o clasificar las proteínas G en cuatro grupos (Fong y col., 1988):

Aquellas que son sólo sustrato de la toxina cólera: G_s .

Aquellas que son sólo sustrato de la toxina pertussis: G_o y la G_i .

Aquellas que son sustrato de ambas: G_t .

La importancia de las toxinas deriva del hecho de que la toxina cólera es un activador específico de la G_s , mientras que la toxina pertussis es un inhibidor específico de la G_i , lo que permite, al menos para estos dos tipos de proteínas G, llegar a un conocimiento exacto del mecanismo de acción de aquellos fármacos que median su efecto a través de ambos sistemas de proteínas G acopladas al receptor correspondiente. Los últimos cinco años han representado la etapa clave en el conocimiento del papel primordial y yo diría que fundamental de las proteínas G como elementos de transducción de la señal fármaco-receptor que finalmente se convierte en la respuesta farmacológica.

Las proteínas G, al contrario que otras proteínas fijadoras de GTP, son heterotrímeros formados por una subunidad alfa que fija e hidroliza al GTP, una subunidad beta y una subunidad gamma.

Hasta hace cinco años tan sólo se tenía el conocimiento del papel de estas proteínas en dos sistemas biológicos: el primero, ya mencionado era el sistema de la adenilato ciclasa descubierta en 1971 por Rodbell y col. la cual era estimulada o inhibida por el GTP (Birnbaumer y col., 1973, 1974; Yamamura y col., 1977; Londos y col., 1978 y Jakobs y col. 1978). Y, en segundo lugar la fosfodiesterasa

de retina descubierta en 1985 por Wheeler y Bitensky que requiere la presencia de GTP para ser activada por la luz.

Sin embargo, a partir de 1985 se han descrito muchos otros procesos celulares dependientes del GTP. Entre ellos pueden citarse: la activación de fosfolipasas C y A₂ (Litosch y col., 1985; Cockroft y Gomperts, 1985) y un importante número de canales iónicos regulados por neurotransmisores u hormonas (Pfallinger y col., 1985; Breitwieser y Szabo, 1985).

El conocimiento de las proteínas G en la acción farmacológica ha sido posible gracias al desarrollo de:

1) En primer lugar la biología molecular y la obtención de anticuerpos frente a cada uno de los componentes de las proteínas G (Mumby y col., 1986; McKenzie y col., 1988).

2) Al desarrollo de técnicas combinadas de bioquímica y de electrofisiología (Brown y Birnbaumer, 1988).

Estos estudios han permitido establecer que las Proteínas G no son sólo unos ejemplos raros de proteínas fijadoras de GTP sino que constituyen una amplia familia de proteínas homólogas. Prénsese que la subunidad alfa de la transducina, la proteína G presente en retina, fue clonada en 1985 y que las proteínas G_s, G_o y G_i fueron clonadas en 1986. Pero más importante todavía es el hecho de que el

mecanismo de transducción mediado por proteínas G no sólo existe en la célula del mamífero sino también en levaduras (Dietzel y col., 1987; Miyajima y col., 1987), o en invertebrados (Selinger y Minke, 1988; Pupillo y col., 1988).

En la actualidad se han clonado del orden de treinta receptores distintos cuyo mecanismo efector está ligado a las proteínas G. A su vez, podemos decir que un centenar de receptores farmacológicos están unidos a una familia compuesta por 9-15 proteínas G en las células animales.

Mecanismo de activación de las proteínas G

Las proteínas G presentan una situación de activación/inactivación cíclica dependiente del GTP y de la activación o no de los receptores. Esta actividad cíclica implica dos reacciones distintas:

a) La disociación de la subunidad alfa tras la activación de la propia proteína G y la formación de dos complejos: uno GTP-subunidad alfa y otro complejo beta-gamma.

b) La hidrólisis del GTP por parte de la subunidad alfa dando lugar a un complejo GDP-subunidad alfa, el cual vuelve a asociarse a las subunidades beta y gamma.

Los receptores pueden catalizar la activación de las proteínas G por el GTP (Tolkovsky y Levitzki, 1978; Asano y col., 1984; Brandt y Ross, 1986; May y Ross, 1988).

La reacción GTPasa es sin duda alguna el mecanismo de autocontrol de la activación de las proteínas G, ya que el complejo GDP-subunidad alfa es inactivo desde el punto de vista de mediador de la respuesta farmacológica (Fung, 1983; Graziano y col., 1989). Decir también que la actividad GTPasa es exclusiva de la subunidad alfa sólo y tan sólo cuando ésta se ha separado de las otras dos subunidades. En la actualidad se desconoce cuál es el mecanismo, si es que existe, por el que la forma trímera de las proteínas G es capaz de hidrolizar el GTP.

Papel de las subunidades en la transducción de la señal farmacológica

Subunidad alfa: No hay ninguna duda de que la subunidad alfa de las proteínas G activadas por el GTP o análogos es un mediador de la respuesta farmacológica. Así ha sido demostrado en el caso de la α_1 estimuladora de la fosfodiesterasa GMPc-dependiente de retina (Fung y col., 1981), la α_s estimuladora de la adenilato ciclasa (Olate y col., 1988) y la estimulación de diversos canales iónicos como los de potasio (Codina y col., 1987; Mattera y col., 1989; Yatani y col., 1988), los canales catiónicos sensibles a amilorida (Light y col., 1989) y los propios canales de calcio sensibles a las dihidropiridinas, los cuales son activados por una subunidad α_s idéntica a la responsable de la activación adenilato ciclasa (Mattera y col., 1989).

Complejo beta-gamma: Hasta la fecha se han propuesto tres funciones para

el complejo beta-gamma. La primera de ellas implica que la disociación favorece la actividad catalítica de la proteína G activada (Tolkovsky y Levitzki, 1978). La segunda, quizás la más aceptada, sea el que el complejo beta-gamma sea el responsable de la reactivación de la proteína G y, por último, que el complejo beta-gamma sea el inhibidor específico de la activación de la proteína G (Cerione y col., 1987; Okabe y col., 1989).

Sin embargo el complejo beta-gamma ha sido citado como el responsable de la transducción de la respuesta farmacológica en dos situaciones. Una es la inhibición de la actividad adenilato ciclasa propuesta por Gilman en 1987 y otra la activación de la fosfolipasa A_2 en tejidos no neuronales propuesta por Kim y col. en 1989.

La G_i y la inhibición de la adenilato ciclasa

El término G_i (lo que antiguamente se denominaba N_i) se utiliza normalmente para designar aquellos sustratos de proteína G que son sensibles a toxina pertussis. Originalmente, sin embargo, definía una entidad bioquímica cual era el sitio de unión del GTP de naturaleza reguladora y que comporta la acción inhibidora sobre la adenilato ciclasa (Cooper, 1982).

Este componente regulador adquirió su papel definitivo propio cuando Katada y Ui en 1982 demostraron que existía una correlación directa entre la inhibición de la actividad adenilato ciclasa provocada por toxina pertussis y la ADP-ribosilación de un sustrato de aproximadamente 40 kilodaltons. El hallazgo

de que la inhibición de la actividad reguladora de la adenilato ciclasa por nucleótidos de guanina no tenía lugar en un tipo celular que genéticamente carecía de la fracción α_s confirmó la existencia de una nueva entidad, denominada entonces G_i separada de la hasta entonces descrita G_o , hecho que se produce en 1983 cuando Hildebrandt y col. lo comunican a la revista Nature.

Actualmente, no tan sólo la G_i representa el sustrato típico de la toxina pertussis, sino que se han descrito e identificado siete subunidades alfa sensibles a dicha toxina, de las cuales seis son producto de distintos genes y el séptimo todavía no ha sido clonado. Sin embargo de todos ellos tan sólo las transducinas de conos y bastones retinianos que actúan como estimuladoras de la fosfodiesterasa GMPC-dependiente han sido bien caracterizadas.

A nivel de la farmacología con una implicación terapéutica clara, cabe decir que hoy en día conocemos la participación de proteínas G_i en la evocación de los potenciales postsinápticos inhibidores a nivel del sistema nervioso central. Como ejemplo tenemos el acoplamiento entre las proteínas G_i y los receptores GABA_B, muscarínico M₂, serotonina 5-HT_{1A} y dopamina D₂ (Andrade y col., 1986; Sasaki y Sato, 1987; Thalmann, 1988)

La G_p y la hidrólisis de fosfatidilinosítoles

Las proteínas G que median la activación de las fosfolipasas de membrana no han sido del todo caracterizadas desde el punto de vista bioquímico. En general se denominan como G_p y pueden actuar a nivel de la fosfolipasa C o de la A₂. Los estudios realizados hasta la fecha indican que existen dos grandes tipos de proteínas G_p uno de ellos sensible a toxina pertussis y el otro no.

Así por ejemplo, a nivel hepático, las respuestas a la vasopresina, angiotensina II y la respuesta adrenérgica del tipo alfa-1 o bien las respuestas a los factores liberadores de tirotropina o gonadotropina en hipófisis son debidos a la estimulación de la fosfolipasa C provocada por una proteína G_p insensible a toxina pertussis.

Sin embargo, la liberación de ácido araquidónico tras activación de macrófagos o bien la estimulación tiroidea por activación de tipo alfa-1 adrenérgica, son ejemplos de una activación de la fosfolipasa A₂ debida a una proteína G_p sensible a toxina pertussis.

Interacción Receptor-Subunidad alfa

La clonación del receptor beta-adrenérgico ha permitido establecer que los receptores que presentan proteínas G acopladas a los mismos pertenecen a una

'superfamilia" de proteínas tipo opsina que atraviesan la membrana plasmática unas siete veces y cuyo resto aminoacídico terminal está normalmente glicosilado y ocupa el espacio extracelular, mientras que el carboxilo terminal ocupa el espacio intracelular.

El concepto de que una sólo clase de proteínas G interactúe con distintos tipos de receptor no se opone al concepto mismo de subtipo de receptor y ello es debido fundamentalmente a tres datos experimentales:

A) El descubrimiento a finales de la década de los sesenta de que al menos cinco receptores hormonales distintos pueden activar un mismo sistema adenilato ciclasa (Birnbaumer y Rodbell, 1969; Rodbell y col. 1970).

B) El descubrimiento a finales de los setenta de que pueden transferirse los receptores de una célula a otra (Citri y Schramm, 1980) y,

C) No existen diferencias en cuanto a la procedencia específica o tisular de las proteínas G_s en cuanto a la reconstitución de un sistema adenilato ciclasa hormonalmente funcional (Ross y col., 1978; Kaslow y col., 1979).

El hecho de que una variante de la G_s que activa la adenilato ciclasa, a la vez capaz de regular la actividad de canales de calcio (Mattera y col., 1989) indica que una misma proteína G es capaz de interactuar con más de un sistema receptor. Por otra parte, en 1988 Yatani y col. describen por primera vez que tres

proteínas G_i distintas pueden activar un mismo tipo de canal (en este caso el de potasio), lo que indica que varias proteínas G pueden regular un mismo sistema efector. Finalmente, Ashkenazi y col. en 1987 describen que un mismo receptor, en este caso el muscarínico M_2 puede afectar a más de un sistema de proteínas G, lo que hace posible múltiples combinaciones.

Proteínas G y canales iónicos

La caracterización inicial de los canales iónicos como poros afectados por el voltaje y situados en la membrana celular ha sido superada por las nuevas tecnologías de patch-clamp, reconstitución y clonaje molecular (Breitwieser, 91).

Sabemos hoy en día que la mayoría de los canales iónicos están modulados por el entorno tanto intracelular como extracelular. La apertura o cierre del canal tras la activación de un determinado receptor comporta la clasificación en dos grandes grupos:

1) El receptor puede constituir el propio canal iónico, tal como ocurre con el receptor colinérgico nicotínico, el receptor $GABA_A$ o el receptor a NMDA en los que el receptor y el canal iónico residen en el mismo complejo proteico oligomérico.

2) El receptor y el canal iónico residen en complejos proteicos distintos y unidos por diversos sistemas de transducción como puede ser el de las proteínas G. Ejemplos de este segundo tipo lo constituyen el receptor colinérgico

muscarínico que activa canales de potasio, el receptor beta-adrenérgico que activa canales de calcio tipo L o el canal iónico asociado al receptor GABA_B.

La participación inequívoca de las proteínas G en el proceso de apertura o cierre de los canales iónicos de membrana se deduce de una serie de experimentos de tipo electrofisiológico como pueden ser:

a) La modificación de la proteína G por las toxinas cólera o pertussis (Kahn y Gilman, 1984, 1986).

b) La activación directa, es decir independientemente de la activación del receptor, de la proteína G por medio de análogos del GTP resistentes a la hidrólisis como la guanosina-5'-O-(3-tio-trifosfato) o el guanilil-imidodifosfato (Katada y col., 1986; Wong y Martin, 1988)

c) El bloqueo de los efectos mediados por la activación del receptor mediante la guanosina-5'-O-(2-tio-difosfato) (Eckstein y col., 1979; Ho y col. 1986).

d) Cuando es posible, la utilización de anticuerpos específicos frente a un subtipo de proteína G y,

e) La activación del canal iónico mediante la aplicación de subunidades purificadas de proteína G por técnicas de patch-clamp (Birbaumer y col., 1990).

Relación entre proteínas G, Proteinkinasa C y canales iónicos

La proteinkinasa C es un enzima que ocupa una posición central en las secuencias bioquímicas que conforman el trasiego de información en el interior celular, ya que es capaz de modular la mayor parte de los procesos que culminan en la respuesta celular frente a diversos estímulos (Kikkawa y Nishizuka, 1986; Nishizuka, 1986, 1988; Shearman y col., 1989).

La activación directa de la proteinkinasa C por parte del diacilglicerol (metabolito de la vía de los fosfatidilinositoles) o de los ésteres del forbol, no provocan efectos idénticos a los que se obtienen con estímulos procedentes de fármacos agonistas, que son capaces de activar el enzima a través de un mecanismo que implica la activación del receptor correspondiente (Castagna y col., 1982). De ello se desprende que la mayor parte de los canales iónicos que están acoplados a receptores por medio de proteínas G sensibles a toxina pertussis, lo son vía activación de la proteinkinasa C.

Relevancia farmacológica a nivel cardiovascular

Activación de los canales de calcio por el receptor beta-adrenérgico en corazón: Tanto la farmacología experimental como la biología molecular han

permitido establecer una relación estrecha entre el receptor cardíaco beta-adrenérgico y la denominada corriente lenta de entrada del calcio (Reiter, 1975; Kameyama y col., 1985)

Diversos datos experimentales sugieren que al existir un período de latencia entre la unión ("binding") del fármaco al receptor beta-adrenérgico y la entrada del ión calcio para dar lugar a una respuesta inotrópica y cronotrópica positivas, debe coexistir un mecanismo de segundos mensajeros (Trautwein y Hescheler, 1990). En concreto, hoy se sabe que este mecanismo implica la fosforilación del canal de calcio por medio de una proteinkinasa dependiente de AMPc (Osterrieder y col., 1982). La entrada del calcio es potenciada por la toxina cólera lo que permite concluir que la proteína G_s es la responsable de esta activación enzimática intracelular y, por ende, de la respuesta farmacológica final.

Activación de los canales de potasio por el receptor colinérgico muscarínico en corazón: Por su similitud con el receptor nicotínico, las primeras hipótesis del mecanismo de acción muscarínico cardíaco apuntaron a la posibilidad de una identificación entre dicho receptor y los canales del potasio (Loffelholz y Pappano, 1985), sin embargo esta hipótesis quedó descartada al comprobarse que la acción muscarínica comportaba, por una parte, un descenso en los niveles intracelulares de GTP (Pfaffinger y col., 1985) y, por otra, que la incubación de la preparación con toxina pertussis bloqueaba la activación muscarínica de los canales de potasio (Endoh y col., 1985; Sorota y col., 1985). Quedaba pues fuera de toda duda que la acción colinérgica muscarínica que

implica la apertura de canales de potasio en la célula cardíaca es debida a la activación de una proteína G sensible a toxina pertussis.

Las proteínas G y la musculatura lisa vascular: Desde hace tiempo se sabe que la musculatura lisa vascular puede ser permeabilizada mediante un tratamiento con toxina pertussis. La preparación resultante puede contraerse en respuesta a diversos agonistas como puede ser la noradrenalina pero sólo en presencia de GTP. Este hecho indicaba que al menos un tipo de proteína G debería estar implicada en la reactividad de dicha musculatura. Por otra parte es también conocido que tanto el GTP como su análogo no hidrolizable el GTP-gamma-S es capaz de estimular la hidrólisis del fosfoinositoldifosfato para dar lugar a inositoltrifosfato. Por tanto, el papel de la posible proteína G implicada debería centrarse en la activación de la fosfolipasa C (LaBelle y Murray, 1990).

Los experimentos en musculatura vascular tienen la importancia de ser los primeros en los que se describe la acción de un compuesto inorgánico, el tetrafluoruro de aluminio, el cual se ha convertido en una herramienta sumamente útil en la investigación de las proteínas G. Dicho compuesto mimetiza la estructura estérica del GTP y se une a su sitio en la subunidad alfa. De ahí que la acción mediada por el tetrafluoruro de aluminio se corresponda con la activación de la subunidad proteica por parte del nucleótido de guanina. De hecho en nuestro laboratorio hemos venido utilizando el tetrafluoruro de aluminio para activar y, poner de manifiesto, la participación del complejo de proteínas G tanto en conducto deferente como en duodeno de rata.

Nuevos tipos de proteínas G con implicación cardiovascular: La

investigación de estos últimos años ha conducido al establecimiento de nuevos subtipos de la familia de las proteínas G. En concreto, la plaqueta ha sido un sustrato biológico que por la facilidad de obtención, y la riqueza de receptores de membrana lo que hace que se puedan medir distintas respuestas frente a una variedad bastante amplia de agonistas, la ha convertido en un modelo óptimo de estudio a nivel experimental. La plaqueta humana responde agregándose de forma muy rápida y consistente frente al tromboxano A_2 , un metabolito de la vía del ácido araquidónico. Esta acción se realiza por la mediación de una proteína G atípica hasta al momento, e insensible a toxina pertussis para la que ha sido propuesta la denominación de proteína G_q (Shenker y col., 1991).

Aparte de estos ejemplos que implican la función cardiovascular, el papel de las proteínas G en el desarrollo de la respuesta farmacológica es cada vez más evidente (Schultz y col., 1990). Tan sólo citar aquí las experiencias de Attali y col. publicadas en 1989, en las que dichos autores demuestran la participación de la proteína G_i en la inhibición de la corriente de calcio por parte de los agonistas del subtipo de receptor opiáceo kappa. La exposición crónica de un cultivo celular de médula espinal de rata a agonistas kappa provoca una disminución de la inhibición de la captación de $^{45}Ca^{2+}$ así como una "down-regulation" de la subunidad alfa de la proteína G_i .

Por último, la musculatura lisa, un reactivo biológico muy utilizado en Farmacología, debe sus funciones de contracción/relajación a la participación de proteínas G. Nuestro grupo ha caracterizado la participación de distintos tipos de

proteínas G en la musculatura intestinal de la rata en el efecto inhibitor de las benzodiazepinas periféricas (Escubedo y col., 1991).

Control farmacológico de los niveles de proteínas G

La exposición prolongada de un conjunto celular a un fármaco o sustancia agonista que activa receptores unidos a proteínas G conduce a una reducción del número de receptores para dicho agonista. Este es un fenómeno, ya conocido desde hace tiempo, y denominado de *down-regulation* que representa un mecanismo de adaptación celular y que, por otra parte, limita la respuesta de la célula cuando ésta es expuesta a altas concentraciones de fármaco y durante un largo período.

Ya que en estos casos la respuesta farmacológica depende del acoplamiento del receptor con la proteína G, una disminución del número de receptores provocada por un fenómeno de down-regulation ¿afecta igualmente al complejo de proteínas G?

Milligan y Green en su reciente trabajo publicado en junio de 1991 describen de forma precisa que el fenómeno de *down-regulation* debe extenderse a las proteínas G acopladas a receptores que son susceptibles de ver modificada su densidad en un determinado tejido por acción de fármacos agonistas específicos. La mayoría de los estudios se han realizado en adipocitos de rata y utilizando como receptor de ensayo el adenosínico A_1 el cual es un ejemplo de receptor que

En los pacientes afectos del tipo Ia los niveles de la subunidad alfa de la proteína G_s son tan sólo del orden del 50% de las células control (Farfel y col., 1980). Además estos enfermos presentan la denominada osteodistrofia hereditaria de Albright que, hoy en día, se correlaciona asimismo con el déficit en proteína G_s (Levine y col., 1988). La enfermedad se transmite con un patrón autosómico dominante y aparte de los cuadros antes descritos, los enfermos presentan frecuentemente otras anomalías debidas posiblemente al déficit de proteína G_s como son: hipotiroidismo, hipoprolactinemia y falta de respuesta a la vasopresina o transtornos olfatorios (Weinstock y col., 1986).

La determinación y caracterización de esta enfermedad genética por lo que respecta al papel de las proteínas G ha sido posible al extraer la correspondiente proteína G_s de las plaquetas de estos enfermos y reconstituirla en las células de linfoma S49 de ratón, genéticamente deficitarias en proteína G_s .

Hipotiroidismo:

Es bien sabido que se puede inducir un cuadro de hipotiroidismo en la rata por administración de 6-propil-2-tiouracilo. En los adipocitos de estos animales es posible estudiar receptores cuya expresión implica una inhibición de la adenilato ciclasa como pueden ser los alfa-2 adrenoceptores o los adenosínicos A_2 . Pues bien, se ha comprobado que en los adipocitos de los animales hipotiroideos existe un incremento significativo de los niveles de proteína G_i y, en concreto, de la subunidad alfa.

media su respuesta farmacológica por inhibición de la actividad adenilato ciclasa vía proteína G sensible a toxina pertussis. La disminución de los niveles de proteína G no se acompañan de una reducción en los niveles de ARNm, lo que implica que los genes que codifican la expresión de dichas proteínas no se ven alterados.

PATOLOGIAS ASOCIADAS A PROTEINAS G

Existen hoy en día diversas patologías en las que se hallan implicadas o relacionadas las proteínas G. A modo de ejemplo podemos relacionar las siguientes:

Pseudohipoparatiroidismo:

El pseudohipoparatiroidismo es una enfermedad genética que implica un descenso en las respuestas a aquellas hormonas cuyo mecanismo de acción está basado en una estimulación de la actividad adenilato ciclasa vía estimulación de la correspondiente proteína G_s . Cabe decir que un descenso en la cantidad de proteína G_s funcional tan sólo es detectable en enfermos afectos de pseudohipoparatiroidismo tipo Ia pero no en aquellos enfermos afectos del pseudohipoparatiroidismo tipo Ib.

Insuficiencia cardíaca:

Aunque no está del todo bien establecido, parece admitirse hoy en día que la insuficiencia cardíaca congestiva no es tan sólo un trastorno hemodinámico y/o vascular que implique alteraciones a nivel de los receptores beta-adrenérgicos sino que también coexisten cambios en el funcionalismo de las proteínas G. Así, en la insuficiencia cardíaca congestiva la disminución de la fuerza contráctil en respuesta al agonismo beta-adrenérgico se correlaciona bien con un descenso en el número de dichos receptores en la musculatura cardíaca y, lo que parece más novedoso, en un incremento en los niveles de proteína G sensible a toxina pertussis, sin que se aprecie cambio alguno en la proteína G_s sensible a toxina cólera (Feldman y col., 1988). Por otra parte, se ha descrito un descenso en el funcionalismo de la proteína G_s en la insuficiencia ventricular originada por sobrecarga (Longabough y col., 1988). En este caso predomina un descenso de la proporción de receptores beta-adrenérgicos de elevada afinidad por el agonista.

Diabetes:

La administración de estreptozocina o de aloxana en la rata provoca una

destrucción de las células beta del páncreas lo que comporta la aparición de un cuadro diabético con hiperglucemia e hipoinsulinemia que se acompaña de resistencia hepática a la insulina. Existe una correlación entre el grado de diabetes experimental provocado en el hepatocito de estos animales y la pérdida de proteína G_i, lo que provoca un efecto sensibilizador de la adenilato ciclasa (Dighe y col., 1984; Gawler y col., 1987).

Adenomas hipofisarios:

La secreción por parte de células somatotróficas está controlada por los niveles intracelulares de AMPc y se han descrito un número considerable de adenomas hipofisarios que provocan secreción de hormona de crecimiento, aún en ausencia de factor hipotalámico liberador, con un aumento considerable de los niveles intracelulares del AMPc. En dichos adenomas se ha encontrado una proteína G_s superactiva (Vallar y col., 1987) lo que permite pensar en la posibilidad de que, en determinadas circunstancias, las proteínas G puedan tener alguna capacidad oncogénica.

Quisiera terminar este apartado comentando dos patologías en las que intervienen las dos toxinas cuya utilización ha sido básica y capital en el desarrollo de la investigación de segundos mensajeros y de las proteínas G, me refiero al cólera y la tosferina.

Cólera:

Constituye un ejemplo clásico y de extrapolación directa de la farmacología experimental a la clínica ya que la diarrea asociada a la infección por el *Vibrio cholerae* es provocada por una toxina, la enterotoxina, similar a la toxina colérica que, como ya he mencionado ha sido una de las herramientas clave para la identificación de las proteínas G, en concreto de la G_s. Pues bien, la ADP-ribosilación de la G_s presente en la mucosa del intestino es la responsable final del transporte hídrico hacia el lumen del intestino delgado que ha sido infectado por la bacteria y que provoca la diarrea masiva característica de esta enfermedad.

Tosferina:

La tosferina es una enfermedad causada por la infección por *Bordetella pertussis* y la mayoría de sus síntomas son debidos a la toxina del mismo nombre. La "sensibilización a la histamina", hipoglucemia y tos de origen neurológico son claros ejemplos de la acción de la toxina pertussis. La hipoglucemia, que incluso puede afectar a niños que han sido vacunados frente al germen, se debe a un aumento anormal de los niveles plasmáticos de insulina fruto de la acción de la toxina. Cabe recordar aquí que Ui, el primero que purificó la toxina pertussis, utilizó este efecto como bioensayo y le denominó "proteína activadora de los islotes" (Ui, 1984).

PROTEINAS RAS ¿PROTEINAS G DE SEGUNDA GENERACION?

No quisiera terminar sin citar, aunque sea de forma muy global y esquemática, el papel de las nuevas proteínas G en el terreno de la investigación farmacológica.

A partir de 1988, una nueva familia de compuestos relacionados con el GTP y, por tanto de las proteínas G, ha sido descubierta, aunque su participación en los procesos farmacológicos no está tan bien establecida como sus congéneres a los que podríamos proponer la denominación de proteínas G de primera generación.

Las proteínas ras son proteínas de un bajo peso molecular que oscila entre los 21 y los 24 KDa. Son las "pequeñas de la familia". Tienen la posibilidad, al igual que las proteínas G típicas de ligar al GTP, siendo la forma unida al GDP la conformación de reposo para las mismas. A pesar de la similitud funcional, y de que son capaces de hidrolizar al GTP, una característica particular de estas proteínas ras es de que la hidrólisis del GTP no es condición *sine qua non* para la activación del complejo. (Hall, 1990).

La acción de estas proteínas ras también se ve afectada por toxinas bacterianas, pero no por las ya establecidas (toxina cólera o pertussis), sino por toxinas producidas por el *Clostridium botulinum*, el cual presenta un enzima con actividad ADP-ribosiltransferasa denominado C₃ que es el que directa y específicamente afecta a este tipo de proteínas G (Aktories y Hall, 1989).

No hay ninguna duda de que la investigación en el campo de las proteínas G de bajo peso molecular contribuirá al conocimiento de multitud de procesos bioquímicos. Los primeros genes que codificaban proteínas ras se descubrieron en oncogenes virales, concretamente en el virus que produce el sarcoma murino de Harvey, y por ello denominado "Ha-ras" y en el que da origen al sarcoma murino de Kirsten, el "Ki-ras".

Una proporción significativa de los procesos neoplásicos humanos contiene una versión activada, es decir oncogénica, de estos genes celulares, cuya mutación empieza por un cambio en la secuencia del código de dicho gen. Esta mutación da lugar a una oncoproteína cuya diferencia es tan sólo a nivel de una única posición aminoacídica (Hall, 1990).

No cabe la menor duda que un conocimiento del papel de estas proteínas ras en el crecimiento y el desarrollo celular normal, y las consecuencias bioquímicas de las sustituciones aminoacídicas, puede conducir a un mejor conocimiento del crecimiento neoplásico y, por tanto, a una mejor comprensión de la problemática del cáncer.

Excmo. Sr. Presidente, hace ahora ocho años y con ocasión de mi discurso de ingreso como Académico Correspondiente de esta Real Academia, me hacía eco de unas palabras que pronunciara quien para muchos ha constituido el punto de referencia al hablar de la investigación científica en este país. Quisiera apelar de

nuevo a ellas pues mantienen toda su vigencia.

Me refiero a las palabras pronunciadas por el Dr. Ramón y Cajal hace ahora 75 años en un acto de idénticas características al de hoy.

Decía el insigne sabio: " La Ciencia debe cultivarse por sí misma sin considerar por el momento inmediatas aplicaciones, pues éstas llegan siempre tardando años, a veces siglos, pero poco importa que una verdad científica sea aprovechada por nuestros hijos o nuestros nietos. El progreso científico implica el desarrollo no sólo de la personalidad del investigador, sino la creación de un ambiente favorable al mismo de tipo social.

De nada sirve tener una excelente preparación y disposición a la Ciencia, si la sociedad no dispone de medios necesarios y suficientes. El investigador a una edad con frecuencia demasiado madura alcanza la plenitud de sus ideales. Debemos dar un giro a este concepto y enraizar las vocaciones a edades más tempranas" (Ramón y Cajal, 1971).

Excmo. Sr. Presidente, llevo a esta Real Academia en un momento de profunda transformación, tanto por lo que se refiere a la creación y remodelación de sus Secciones, como por las circunstancias que rodean la vida académica universitaria y la profesional en el ámbito farmacéutico.

A pesar de que mi ingreso como Académico Numerario se produce a una edad relativamente temprana, espero que mi posible inexperiencia sea suplida por

un indudable afán de trabajo y cooperación que, sin duda alguna, brindo a esta Institución al admitirme en su seno como miembro de la Sección sexta de "Ciencias Farmacológicas".

Muchas gracias.

BIBLIOGRAFIA

Aktories, K, Hall, A, 1989

Botulinum ADP-ribosyltransferase C3: A new tool to study low molecular weight GTP-binding proteins.

Trends Pharmacol. Sci., 10, 415, 418,

*

Andrade, R, Malenka, RC, Nicoll, RA, 1986

A G protein couples serotonin and GABA_B receptors to the same channels in hippocampus.

Science, 234, 1261, 1265,

*

Asano, T, Pedersen, SE, Scott, CW, Ross, EM, 1984

Reconstitution of catecholamine-stimulated binding of guanosine 5'-O-(3-thiotriphosphate) to the stimulatory GTP-binding protein of adenylate cyclase.

Biochemistry, 23, 5460, 5467,

*

Ashkenazi,A,Winslow,JW,Peralta,EG,Peterson,GL,Schimerlik,MI,1987

An M2 muscarinic receptor subtype coupled to both adenylyl cyclase and phosphoinositide turnover.

Science,238,672,675,

*

Attali,B,Saya,D,Nah,S,Vogel,Z,1989

Chronic kappa opiate agonist treatment induces down-regulation of Gi proteins in rat spinal cord-dorsal root ganglion cocultures.

Pflugers Arch.,413,55,,

*

Berridge,MJ,1987

Inositoltrisphosphate and diacylglycerol: two interacting second messengers.

Annu. Rev. Biochem.,56,159,193,

*

Birnbaumer,L,1973

Hormone-sensitive adenylyl cyclases: Useful models for studying hormone receptor functions in cell-free systems.

Biochim. Biophys. Acta,300,129,158,

*

Birnbaumer,L,Abramowitz,J,Brown,AM,1990

Receptor-effector coupling by G proteins.

Biochim. Biophys. Acta,1031,163,224,

*

Birnbaumer,L,Nakahara,T,Yang,PCH,1974

Studies on receptor-mediated activation of adenylyl cyclases. II. Nucleotide and nucleoside regulation of the activities of the beef renal medullary adenylyl cyclase and their stimulation by neurohypophyseal hormones.

J. Biol. Chem.,249,7857,7866,

*

Birnbaumer,L,Rodbell,M,1969

Adenyl cyclase in fat cells. II. Hormone receptors.

J. Biol. Chem.,244,3477,3482,

*

Bockaert,J,1986

Les récepteurs membranaires.

La Recherche,17,892,900,

*

Bockaert,J,1989

Les protéines G étendent leur pouvoir sur les canaux ioniques.

Synthèse,5,562,569,

*

Brabet,P,Dumuis,A,Sebben,M,Pantaloni,C,Bockaert,J,Homburger,V,1988

Immunocytochemical localisation of the guanine nucleotide binding protein Go in primary cultures of neuronal and glial cells.

J. Neurosci.,8,701,708,

*

Brandt,DR,Ross,EM,1986

Catecholamine-stimulated GTPase cycle. Multiple sites of regulation by beta-adrenergic receptor and Mg²⁺ studied in reconstituted receptor-Gs vesicles.

J. Biol. Chem.,261,1656,1664.

*

Breitwieser,GE,1991

G-Protein-mediated ion channel activation.

Hypertension,17,684,692.

*

Breitwieser,GE,Szabo,G,1985

Uncoupling of cardiac muscarinic and beta-adrenergic receptors from ion channels by a guanine nucleotide analogue.

Nature,317,538,540.

*

Brown,AM,Birnbaumer,L,1988

Direct G protein gating of ion channels.

Am. J. Physiol.,23,H401,410.

*

Castagna,M,Takai,Y,Kaibuchi,K,Sano,K,Kikkawa,U,Nishizuka,Y,1982

Direct activation of calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase C by tumor-promoting phorbol esters.

J. Biol. Chem.,257,7847,7851.

*

Cerione,RA,Gierschik,P,Staniszewski,C,Benovic,JL,Codina,J,1987

Functional differences in the beta-gamma complexes of transducin and the inhibitory guanine nucleotide regulatory protein.

Biochemistry,26,1485,1491.

*

Citri,Y,Schramm,M,1980

Resolution, reconstitution and kinetics of the primary action of hormone receptor.

Nature,287,297,300.

*

Cockroft,S,Gomperts,BD,1985

Role of guanine nucleotide binding protein in the activation of polyphosphoinositide phosphodiesterase.

Nature,314,534,536.

*

Cooper,DMF,1982

Bimodal regulation of adenylate cyclase.

FEBS Lett.,138,157,163.

*

Dietzel,C,Kurjan,J,1987

The yeast SCG1 gene: A G_i-like protein implicated in the α - and β -factor response pathway.

Cell,50,1001,1010.

*

Dighe,RR,Rojas,FJ,Birnbaumer,L,Garber,AJ,1984

The impact of streptozocin-induced diabetes mellitus on the glucagon-stimulable adenylyl cyclase system in rat liver.

J. Clin. Invest.,73,1013,1023.

*

Eckstein,F,Cassel,D,Lefkowitz,H,Lowe,M,Sclinger,Z,1979

Guanosine 5'-O-(2-thiodiphosphate): An inhibitor of adenylate cyclase stimulation by guanine nucleotides and fluoride ions.

J. Biol. Chem.,254,9829,9834,

*

Endoh,M,Maruyama,M,Iijima,T,1985

Attenuation of muscarinic cholinergic inhibition by islet-activating protein in the heart.

Am. J. Physiol.,249.H309,H320,

*

Escubedo,E,Pallas,M,Nuñez,C,Camarasa,J,1991

Effects of Ro 5-4864 and PK 11195 in rat duodenum and vas deferens.

Eur. J. Pharmacol. (Mol. Pharmacol. Sect.),en prensa.

*

Farfel,Z,Brickman,A,Kaslow,HR,Brothers,VM,Bourne,HR,1980

Defect of receptor-cyclase coupling protein in pseudohypoparathyroidism.

New Engl. J. Med.,303,237,242,

*

Feldman,AM,Cates,AE, Veazey,WB,Hershberger,RE,Bristow,MR,1988

Increase of 40,000-mol wt pertussis toxin substrate (G protein) in the failing human heart.

J. Clin. Invest.,82,189,197,

*

Fong,HKW,Yoshimoto,KK,Eversole-Cire,P,Simon,MI,1988

Identification of a GTP binding protein alpha subunit that lacks an apparent ADP-

ribosylation site for pertussis toxin.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA,85,3066,3070,

*

Fung,BKK,1983

Characterization of transducin from bovine retinal rod outer segments. I. Separation and reconstitution of the subunits.

J. Biol. Chem.,256,10495,10502,

*

Fung,BKK,Hurley,JB,Stryer,L,1981

Flow of information in the light-triggered cyclic nucleotide cascade of vision.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA,78,152,156,

*

Gawler,D,Milligan,G,Spiegel,AM,Unson,CG,Houslay,MD,1987

Abolition of the expression of inhibitory guanine nucleotide regulatory protein Gi activity in diabetes.

Nature,327,229,232,

*

Gilman,AG,1987

G proteins: Transducers of receptor-generated signals.

Annu. Rev. Biochem.,56,615,649,

*

Graziano,MP,Freissmuth,M,Gilman,AG,1989

Expression of Gs_i in Escherichia coli: Purification and properties of two forms of the protein.

J. Biol. Chem.,264,409,418,

*

Hall,A,1990

Ras and ras-related guanine nucleotide binding proteins.

in,G-proteins as mediators of cellular signalling processes.,HouslayMD\MilliganG\Ed,John Wiley & Sons,Chichester.,173,195,

*

Hildebrandt,JD,Sekura,RD,Codina,J,Iyengar,R,Manclark,CR,Birnbaumer,L,1983

Stimulation and inhibition of adenylyl cyclases is mediated by distinct proteins.

Nature,302,706,709,

*

Hingorani,VN,Ho,YK,1990

Transducin: The signal transducing G-protein of photoreceptor cells.

in G-proteins as mediators of cellular signalling processes.

Houslay,MD\Milligan,G\Ed. John Wiley & Sons, Chichester, 95,112,

*

Homburger,V,Brabet,P,Audigier,Y,Pantaloni,C,Bockaert,J,Rouot,B,1987

Immunological localisation of the GTP binding protein Go in different tissues of vertebrates and invertebrates.

Mol. Pharmacol.,31,313,319,

*

Ho,RJ,Shi,QH,Ruiz,J,1986

Conditional inhibition of forskolin-activated adenylyl cyclase by guanosine diphosphate and its analog.

Arch. Biochem. Biophys.,251,148,155,

*

Jakobs,KH,Saur,W,Schultz,G,1978

Inhibition of platelet adenylyl cyclase by epinephrine requires GTP.

FEBS Lett.,85,167,170,

*

Kahn,RA,Gilman,AG,1984

Purification of a protein cofactor required for ADP-ribosylation of the stimulatory regulatory component of adenylyl cyclase by cholera toxin.

J. Biol. Chem.,259,6228,6234,

*

Kahn,RA,Gilman,AG,1986

The protein cofactor necessary for ADP-ribosylation of Gs by cholera toxin is itself a GTP binding protein.

J. Biol. Chem.,261,7906,7911,

*

Kameyama,M,Hofmann,F,Trautwein,W,1985

On the mechanism of beta-adrenergic regulation of the Ca channel in the guinea-pig heart.

Pflugers Arch.,405,285,293,

*

Kaslow,HR,Farfel,Z,Johnson,G,Bourne,HR,1979

Adenylyl cyclase assembled in vitro: Cholera toxin substrates determine different patterns of regulation by isoproterenol and guanosine 5'-triphosphate.

Mol. Pharmacol.,15,472,483,

*

Katada,T,Oinuma,M,Ui,M,1986

Two guanine nucleotide-binding proteins in rat brain serving as the specific substrate of islet-activating protein, pertussis toxin: Interaction of the alpha subunits with beta-gamma subunits in development of their biological activities.

J. Biol. Chem.,261,8182,8191,

*

Katada,T,Ui,M,1982

Direct modification of the membrane adenylate cyclase system by islet-activating protein due to ADP-ribosylation of a membrane protein.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA,79,3129,3133,

*

Kaziro,Y,1990

Molecular biology of G-protein.

in,G-proteins as mediators of cellular signalling processes.,HouslayMD\MilliganG\Ed,John Wiley & Sons,Chichester,,47,66.

*

Kikkawa,U,Nishizuka,Y,1986

The role of protein kinase C in transmembrane signalling.

Annu. Rev. Cell Biol.,2,149,178,

*

Kim,D,Lewis,DL,Graziadei,L,Neer,EJ,Bar-Sagi,D,Clapham,DE,1989

G protein beta-gamma subunits activate the cardiac muscarinic K⁺ channel via phospholipase A₂.

Nature,337,557,560,

*

LaBelle,EF,Murray,BM,1990

G protein control of inositol lipids in intact vascular smooth muscle. FEBS Lett.,268,91,94,

*

Levine,MA,Ahn,TG,Klupt,SF,Kaufman,KD,Smallwood,PM,1988

Genetic deficiency of the β subunit of the guanine nucleotide-binding protein G_s as the molecular basis for Albright hereditary osteodystrophy.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA,85,617,621,

*

Light,DB,Ausiello,D,Stanton,BA,1989

A GTP binding protein β -i-3, directly activates a sodium-conducting ion channel in a renal epithelium.

J. Clin. Invest.,84,345,356,

*

Litosch,I,Wallis,C,Fain,JN,1985

5-Hydroxytryptamine stimulates inositol phosphate production in a cell-free system from blowfly salivary glands. Evidence for a role of GTP in coupling receptor activation to phosphoinositide breakdown.

J. Biol. Chem.,260,5464,5471,

*

Loffelholz,K,Pappano,AJ,1985

The parasympathetic neuroeffector junction of the heart.

Pharmacol. Rev.,37,1,24,

*

Londos,C,Cooper,DMF,Schlegel,W,Rodbell,M,1978

Adenosine analogs inhibit adipocyte adenylate cyclase by a GTP-dependent process: Basis for actions of adenosine and methylxanthines on cyclic AMP production and lipolysis.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA,75,5362,5366,

*

Longabough,PJ,Vatner,DE,Vatner,SF,Homcy,CJ,1988

Decreased stimulatory guanosine triphosphate binding protein in dogs with pressure-overload left ventricular failure.

J. Clin. Invest.,81,420,424,

*

Mattera,R,Graziano,MP,Yatani,A,Zhou,Z,Graf,R,1989

Individual splice variants of the α subunit of the G protein Gs activate both adenylyl cyclase and Ca²⁺ channels.

Science,243,804,807,

*

Mattera,R,Yatani,A,Kirsch,GE,Graf,R,Olate,J,1989

Recombinant α -3 subunit of G protein activates Gk-gated K⁺ channels.

J. Biol. Chem.,264,465,471,

*

May,DC,Ross,EM,1988

Rapid binding of guanosine 5'-O-(3-thiotriphosphate) to an apparent complex of β -adrenergic receptor and the GTP-binding regulatory protein Gs.

Biochemistry,27,4888,4893,

*

McKenzie,FR,Mullaney,I,Unson,CG,Spiegel,AM,Milligan,G,1988

The use of anti-peptide antibodies to probe interactions between receptors and guanine nucleotide binding proteins.

Biochem. Soc. Trans.,16,434,437,

*

Milligan,G,Green,A,1991

Agonist control of G-protein levels.

Trends Pharmacol. Sci.,12,207,209.

*

Mumby,SM,Kahn,RA,Manning,DR,Gilman,AG,1986

Antisera of designed specificity for subunits of guanine nucleotide-binding regulatory proteins.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA,83,265,269,

*

Nishizuka,Y,1986

Studies and perspectives of protein kinase C.

Science,233,305,312,

*

Nishizuka,Y,1988

The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation.

Nature,334,661,665,

*

Okabe,K,Yatani,A,Evans,T,Ho,HK,Codina,J,1989

Inhibition of G κ -gated K⁺ channel by beta-gamma dimers of G proteins. Effect of agonists.

J. Biol. Chem.,264,36,41,

*

Olate,J,Mattera,R,Codina,J,Birnbaumer,L,1988

Reticulocyte lysates synthesize an active alpha subunit of the stimulatory G protein G α s.

J. Biol. Chem.,263,10394,10400,

*

Osterrieder,W,Brum,G,Hescheler,J,Trautwein,W,Flockerzi,V,Hofmann,F,1982

Injection of subunits of cyclic AMP-dependent protein kinase into cardiac myocytes modulates Ca⁺⁺ current

Nature,298,576,578,

*

Pfaffinger,PJ,Martin,JM,Hunter,DD,Nathanson,NM,Hille,B,1985!

GTP-binding proteins couple cardiac muscarinic receptors to a K channel.

Nature,317,536,538,

*

Pfaffinger,PJ,Martin,JM,Hunter,DD,Nathanson,NM,Hille,B,1985

GTP-binding proteins couple cardiac muscarinic receptors to a K channel.

Nature,317,536,538,

*

Pupillo,M,Klein,P,Vaughan,R,Pitt,G,Lilly,P,1988

CAMP receptor and G-protein interactions control development of Dictyostelium.

Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.,53,656,665,

*

Ramón y Cajal,S,1971

Los tónicos de la voluntad

Espasa Calpe,Col. Austral,Barcelona

*

Reiter,M,1965

The effect of various anions on the contractility of the guinea-pig papillary muscle.

Experientia,21,87,89,

*

Rodbell,M,Birnbaumer,L,Pohl,SL,1970

Adenyl cyclase in fat cells. III. Stimulation by secretin and the effects of trypsin on the receptors for lipolytic hormones.

J. Biol. Chem.,245,718,722,

*

Rodbell,M,Krans,HMJ,Pohl,SL,Birnbaumer,L,1971!

The glucagon-sensitive adenyl cyclase system in plasma membranes of rat liver. III. Binding of glucagon: Method of assay and specificity.

J. Biol. Chem.,246,1861,1871,

*

Rodbell,M,Krans,HMJ,Pohl,SL,Birnbaumer,L,1971

The glucagon-sensitive adenyl cyclase system in plasma membranes of rat liver. IV. Binding of glucagon: Effect of guanyl nucleotides.

J. Biol. Chem.,246,1872,1876,

*

Ross, EM, Howlett, AC, Ferguson, KM, Gilman, AG, 1978

Reconstitution of hormone-sensitive adenylate cyclase activity with resolved components of the enzyme.

J. Biol. Chem., 253, 6401, 6412,

*

Sasaki, K, Sato, M, 1987

A single GTP-binding protein regulates K channels coupled with dopamine, histamine and acetylcholine receptors.

Nature, 325, 259, 262,

*

Schultz, G, Rosenthal, W, Hescheler, J, Trautwein, W, 1990

Role of G proteins in calcium channel modulation.

Annu. Rev. Physiol., 52, 275, 292,

*

Selinger, Z, Minke, B, 1988

Inositol lipid cascade of vision studied in mutant flies.

Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 53, 333, 341,

*

Shearman, MS, Sekiguchi, K, Nishizuka, Y, 1989

Modulation of ion channel activity: A key function of the protein kinase C enzyme family.

Pharmacol. Rev., 41, 211, 237,

*

Shenker, A, Glodsmith, P, Unson, CG, Spiegel, AM, 1991

The G protein coupled to the thromboxane A₂ receptor in human platelets is a member of the novel G_q family.

J. Biol. Chem., 266, 9309, 9313,

*

Sorota, S, Tsuji, Y, Tajima, T, Pappano, AJ, 1985

Pertussis toxin treatment blocks hyperpolarization by muscarinic agonists in chick atrium.

Circ. Res., 57, 748, 758,

*

Thalmann, RH, 1988

Evidence that guanosine triphosphate (GTP)-binding proteins control a synaptic response in brain: Effect of pertussis toxin and GTP- γ -S on the late inhibitory postsynaptic potential of hippocampal CA3 neurons.

J. Neurosci., 8, 4589, 4602,

*

Tolkovsky, AM, Levitzki, A, 1978

Mode of coupling between the β -adrenergic receptor and adenylate cyclase in turkey erythrocytes.

Biochemistry, 17, 3795, 3810,

*

Trautwein, W, Hescheler, J, 1990

Regulation of cardiac L-type calcium current by phosphorylation and G proteins.

Annu. Rev. Physiol., 52, 257, 274,

*

Ui,M,1984

Islet-activating protein, pertussis toxin: A probe for functions of the inhibitory guanine nucleotide regulatory component of adenylate cyclase.

Trends Pharmacol. Sci.,5,277,279,

*

Vallar,L,Spada,A,Giannattasio,G,1987

Altered Gs and adenylate cyclase activity in human GH-secreting pituitary adenomas.

Nature,330,566,569,

*

Weinstock,RS,Wright,HN,Spiegel,AM,Levine,MA,Moses,A,1986

Olfactory dysfunction in humans with deficient guanine nucleotide-binding protein.

Nature,322,635,637,

*

Wheeler,GL,Bitensky,MW,1977

A light-activated GTPase in vertebrate photoreceptors: Regulation of light-activated cyclic GMP phosphodiesterase.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA,74,4238,4242,

*

Wong,SKF,Martin,BR,1986

Activation of rat liver adenylate cyclase by guanosine 5'(beta-gammaimido)iriphosphate and glucagon: Existence of reversibly and irreversibly-activated states of the stimulatory GTP-binding proteins.

Biochem. J.,233,845,851,

*

Yamamura,H,Lad,PM,Rodbell,M,1977

GTP stimulates and inhibits adenylate cyclase in fat cell membranes through distinct regulatory processes.

J. Biol. Chem.,252,7964,7966,

*

Yatani,A,Mattera,R,Codina,J,Graf,R,Okabe,K,1988

The G protein-gated atrial K⁺ channel is stimulated by three distinct Gi_o-subunits.

Nature,336,680,682,

*

FIGURAS

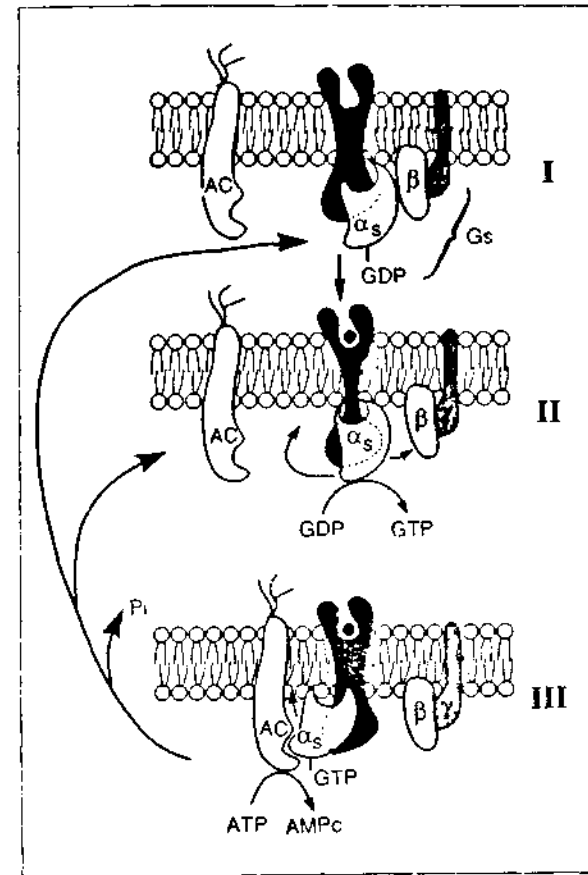


Figura I: Mecanismo de activación de la adenilato ciclasa (AC) vía G_s. En ausencia del agonista (), la proteína G está en forma trómera (α_sβγ). En presencia del agonista, el receptor cambia de conformación e interacciona con G_s y cataliza el paso de GDP a GTP. La subunidad α_s-GTP se disocia de la βγ e interacciona con AC. La reversibilidad del sistema se asegura por la hidrólisis del GTP (De Bockaert, 1989).

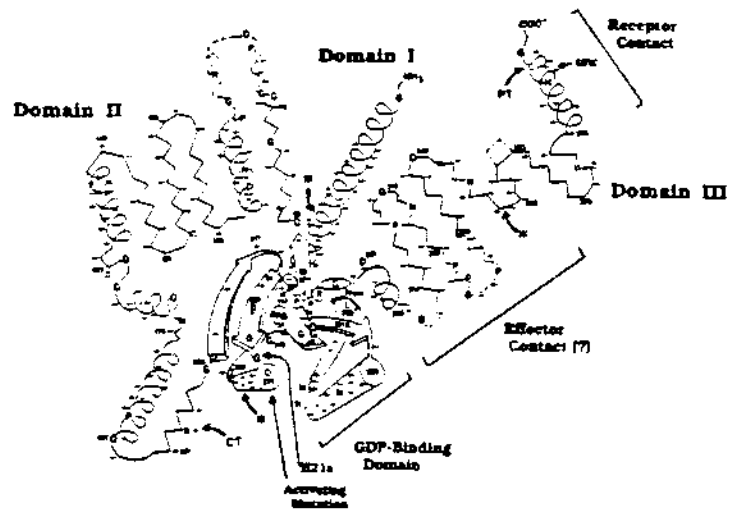


Figura 2: Disposición estructural y dominios de la subunidad G_β. (De Kaziro, 1990).

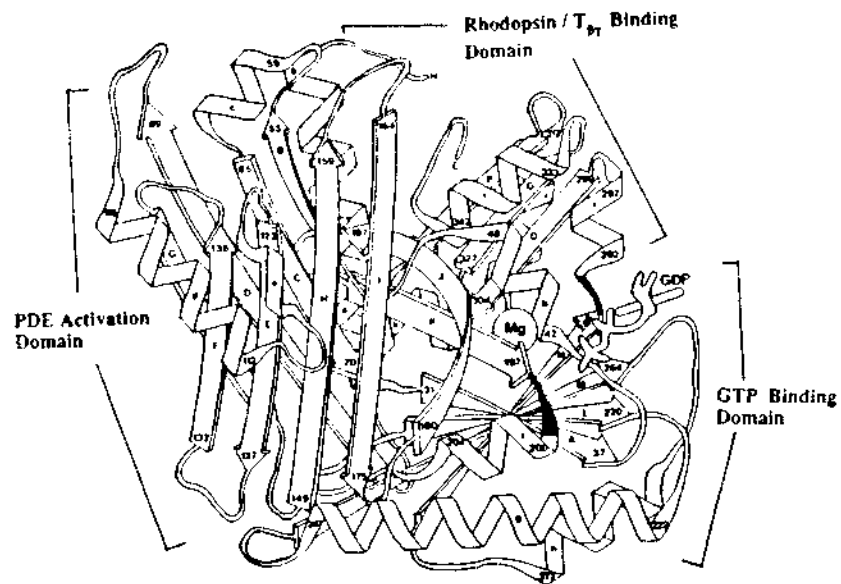


Figura 3: Estructura terciaria de la transducina. (De Hingorani y Ho, 1990)

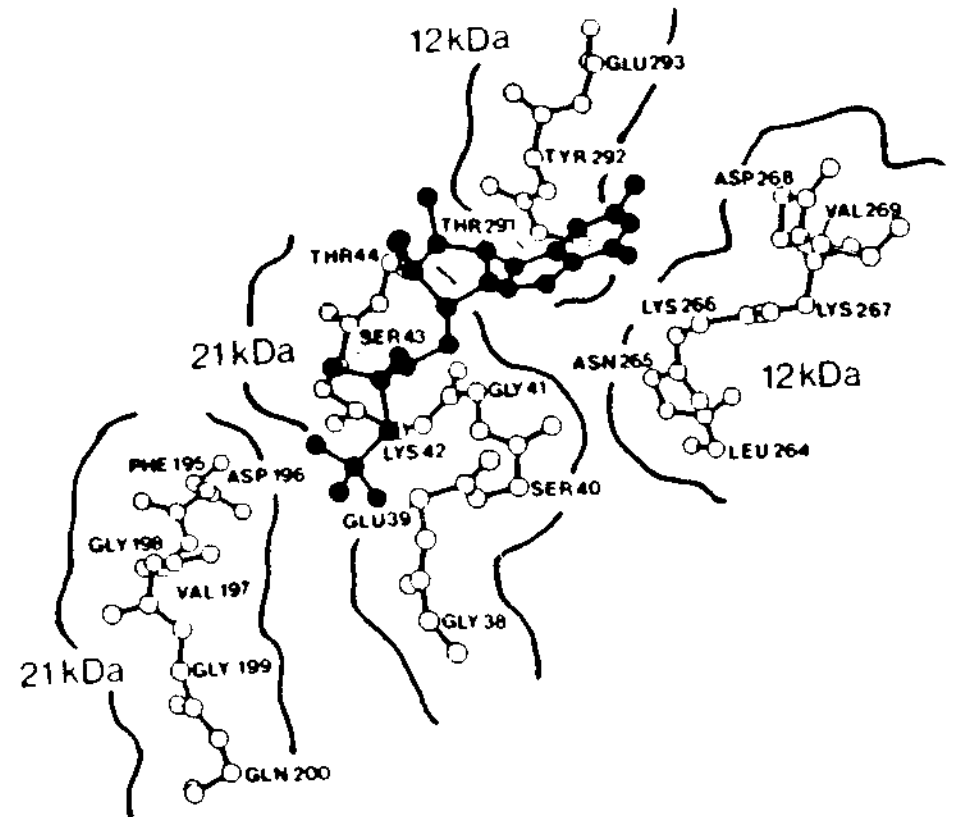


Figura 4: Sitio de unión del GTP en la subunidad alfa de la transducina. En negro se representa incluida la molécula de GDP. El magnesio se asocia con el resto Asp-196. (De Hingorani y Ho, 1990)

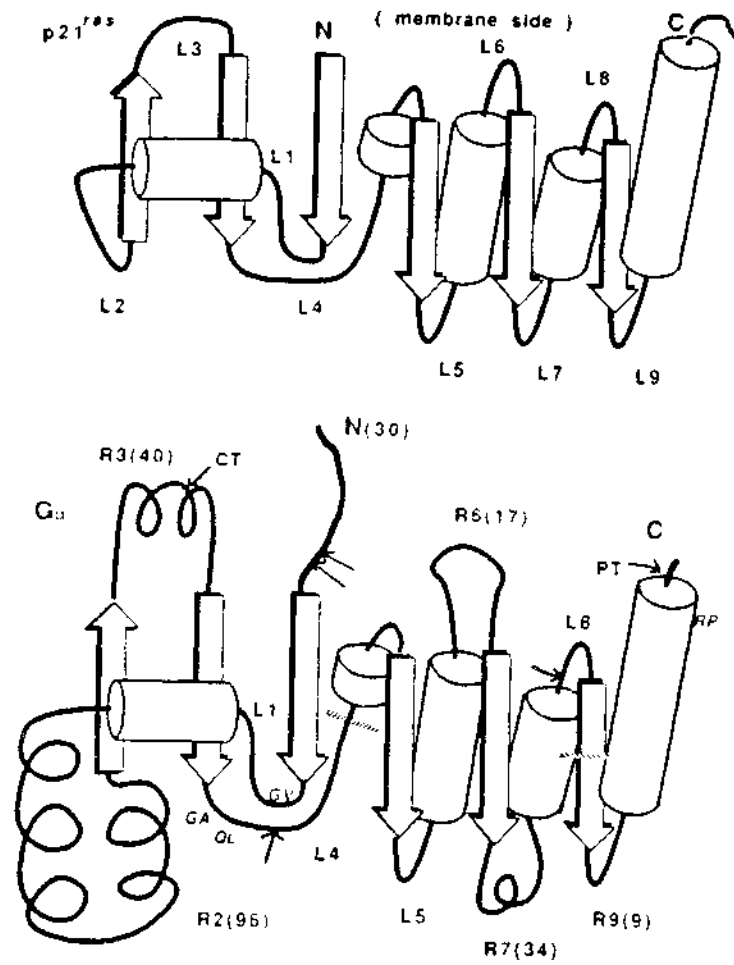


Figura 5: Diagramas que muestran la similitud estructural entre las proteínas G de bajo peso molecular (p21-ras) en la parte superior y la subunidad G_β en la parte inferior (De Kaziro, 1990).

DISCURSO DE CONTESTACION

Del Académico Numerario
y Secretario de la Real Academia de Farmacia
de Barcelona

Muy Iltre. Sr. Dr. D. Tomás ADZET PORREDON

EXCELENTISIMO SR. PRESIDENTE

EXCELENTISIMOS E ILUSTRISIMOS SRES.

MUY ILUSTRES SRES. ACADEMICOS

SEÑORAS Y SEÑORES

Muy pocas veces en la vida, las cuestiones protocolarias se convierten en un acto particularmente deseado. Hoy me cabe el honor de responder al discurso de ingreso del Dr. Camarasa como Académico Numerario de esta Real Academia de Farmacia. Tal como ya el propio beneficiario ha expuesto con sus palabras, lo que podría ser un mero acto de protocolo, la amistad lo ha convertido en una sentida muestra de afecto hacia el nuevo Académico por parte de quien os habla. Asimismo, este acto es especialmente emotivo para mí, por cuanto es la primera vez que desde esta tribuna tengo el honor de tomar la palabra para responder al discurso de ingreso de un nuevo Académico que ha sido alumno mío y, posteriormente, colaborador y compañero en nuestra Facultad de Farmacia. Quienes nos dedicamos a la docencia sabemos cuán importante es para un Profesor el que su labor sea asumida, comprendida, perpetuada y, por qué no decirlo mejorada, por sus discípulos. Es por ello que, tras oír el discurso de

ingreso del Dr. Camarasa, se ven cumplidas en mí una gran parte de las satisfacciones que como Profesor Universitario pudiera tener.

Accede el Dr. Camarasa a esta Real Academia como miembro de la recién creada Sección sexta de "Ciencias Farmacológicas", de la que también formo parte, y que, como su nombre indica, reúne en su seno a aquellos Académicos cuya trayectoria profesional ha estado marcada por su dedicación al campo de la Farmacología en su sentido más amplio. Sin duda esta adscripción no constituye un simple trámite administrativo o de organización de esta Real Corporación, sino que responde a una lógica adecuación entre los méritos del Dr. Camarasa y las necesidades de la Academia.

Permítanme que, como viene siendo tradicional en este tipo de actos, haga una sucinta glosa de la trayectoria humana y profesional del Dr. Camarasa.

El Dr. D. Jorge Camarasa García nace el último día del año de 1955 en Barcelona donde cursa sus estudios primarios y secundarios en el colegio de los Hermanos de La Salle, destacando ya en el bachillerato, con 30 Matrículas de Honor, como un alumno brillante. Muy pronto se pone de manifiesto su vocación por la investigación biológica. A los 16 años, estamos en 1972, es ya alumno de primer curso de la Facultad de Farmacia de Barcelona, de lo que entonces se conocía como el "Curso Selectivo de Ciencias y Farmacia", superado el cual, decide el Dr. Camarasa matricularse del segundo curso de Farmacia y del segundo de Ciencias (Sección de Biológicas, rama de Biología Fundamental), por lo que

cursó simultáneamente ambas Licenciaturas.

En 1975 solicita el Dr. Camarasa entrar, y es admitido, como alumno interno de la entonces Cátedra de Farmacognosia y Farmacodinamia que dirigía el Dr. San Martín y de la que yo era Profesor Adjunto. Con 18 años, y tras haber finalizado los tres cursos de Farmacia y los tres de Biológicas, se inicia lo que podríamos denominar la etapa propiamente universitaria del Dr. Camarasa y que se prolonga hasta nuestros días.

Ni que decir tiene que el entusiasmo y la labor desarrollada entre 1975 y 1977 por el entonces alumno de la Licenciatura fueron muy destacables. En 1977 obtiene el grado de Licenciado en Farmacia y en Ciencias Biológicas y presenta su Tesina de Licenciatura que merece la calificación de Sobresaliente y con posterioridad, en el mismo año obtiene, con el mejor expediente académico de su promoción, el Premio Extraordinario de Licenciatura. Un expediente que tan sólo fue superado por otra persona a la que luego me referiré. A resaltar que cinco horas después de superar el último examen de la carrera, marchaba el Dr. Camarasa a París para, en el Laboratorio de mi buen amigo y colega el Prof. Michel Paris, realizar estudios sobre la biogénesis de los cannabinoides alucinógenos, en concreto del THC.

En octubre del mismo año, 1977, ocupa la plaza de Profesor Ayudante de Clases Prácticas de Farmacognosia y Farmacodinamia en régimen de dedicación exclusiva e inicia sus estudios de doctorado que culmina cuatro años después con la defensa de su Tesis Doctoral sobre estudios quimiotaxonómicos en el género

ingresa, tal como ya ha expuesto previamente, en esta Real Academia como Académico Correspondiente. Su discurso de ingreso versó sobre la "Farmacología de los compuestos flavónicos", tema al que se dedicaba en aquellos tiempos y que obtuvo una amplia difusión y un gran reconocimiento. En el mismo año el Dr. Camarasa contrae matrimonio con la Dra. Elena Escubedo a quien había conocido en nuestra Cátedra, la cual poseía, profesionalmente hablando, ese extraordinario expediente académico que he citado anteriormente y que todavía no ha sido superado.

Me creo en la obligación de mencionarla, por cuanto ella ha sido no sólo el complemento en su afán investigador, sino la esposa eficaz que con una gran exquisitez ha contribuido a estimular científicamente al Dr. Camarasa.

Tras una nueva estancia en París, acompañado por su esposa, esta vez en el Laboratoire de Recherches sur les maladies cardiovasculaires, en 1986 el Dr. Camarasa obtiene, en virtud del correspondiente concurso, la plaza de Profesor Titular de Farmacología y tan sólo tres años más tarde y, tras unos brillantes ejercicios de los que puedo dar fe, pues fui designado Presidente del Tribunal constituido por otros cuatro Catedráticos de diversas Facultades de Medicina, obtiene, en virtud del correspondiente concurso, la plaza de Catedrático de Farmacología de la Facultad de Farmacia de Barcelona, incorporándose como tal en nuestra Unidad. Debo manifestar también, que el prestigio actual del que goza la disciplina entre los estudiantes de nuestra Facultad se debe, en buena parte, al empuje de su dinamismo y a la extraordinaria colaboración que siempre me ha manifestado.

Euphorbia y que merece la calificación de Sobresaliente cum laude y, al igual que en el caso de la Licenciatura, obtiene con posterioridad el Premio Extraordinario de Doctorado.

En el interregno, se produce lo que podríamos denominar una "ausencia administrativa temporal" de nuestra Cátedra por parte del Dr. Camarasa. En 1979 toma parte en la oposición de ingreso en el Cuerpo de Farmacia Militar, obteniendo el número uno de dicha oposición. En 1980 obtiene el grado de Teniente Farmacéutico, siendo nuevamente el número uno de su promoción y destinado al Hospital de la Academia General Básica de Suboficiales en Tresp (Lérida) donde, con 23 años, es nombrado Jefe del Servicio de Farmacia, amén de ejercer de Profesor de la mencionada Academia. En el mismo hospital, crea el Servicio de Análisis Clínicos y es nombrado Jefe de dicho Servicio. Esta actividad dura hasta 1981 en que obtiene el traslado a Barcelona y es nombrado Jefe del Servicio de Central de Análisis Clínicos y es promovido, a sus 25 años, al empleo de Capitán Farmacéutico del Ejército

Es entonces cuando vuelve a reintegrarse administrativamente a la Cátedra, si bien nunca había dejado de colaborar con la misma. En 1984 obtiene por Concurso la Plaza de Profesor Adjunto contratado de Farmacognosia y Farmacodinamia y causa baja, a petición propia, en el Cuerpo de Farmacia Militar. Desde entonces su dedicación a lo que es su verdadera y única vocación, la docencia universitaria, es absoluta y se vuelca en la investigación en farmacología experimental que ya no abandonará. En el mismo año de 1984 el Dr. Camarasa

Obvio es decir que en todos estos años la labor científica (dirección de tesinas y de tesis doctorales, publicaciones, conferencias, asistencia a congresos, etc..) del Dr. Camarasa ha sido prolija y enumerarla de forma exhaustiva consumiría un tiempo del que no dispongo, máxime cuando los logros en la publicación científica de los resultados obtenidos, por el que ya puede considerarse su grupo investigador, han visto la luz en las revistas de Farmacología de mayor impacto como pueden ser el "European Journal of Pharmacology", "Molecular Pharmacology", etc. Por lo que respecta a esta Real Academia, ésta le ha distinguido con su Premio en las convocatorias anuales de 1977 y 1986.

Como una muestra más de su saber científico y de la capacidad de síntesis del Dr. Camarasa, propia de quien ejerce la docencia universitaria es su discurso de ingreso que acabamos de escuchar y del que quisiera hacer algún comentario.

En ocasiones como ésta en que la exposición de un tema científico en el campo de la investigación biológica obliga a hacer un recuerdo histórico, no puedo por menos que manifestar aquí mi admiración al ver cómo ha evolucionado en estos últimos años el conocimiento farmacológico. Tal como ya ha expresado el Dr. Camarasa, cuando en los años sesenta intentábamos explicar el mecanismo de acción de algunas drogas o fármacos, recurríamos al concepto "teórico" de receptor y resalto lo de teórico. Parece como si ese concepto fuera una excusa, por otra parte muy ingeniosa, que nos permitía explicar académicamente el por qué, por ejemplo, la digoxina tenía un efecto cardiotónico.

La clonación ha supuesto para la Farmacología la tecnología experimental, que ha permitido revalidar ese concepto teórico al evidenciar la existencia y la verdadera carta de naturaleza de las moléculas proteicas encargadas de recibir a los fármacos. Hemos pasado del puro concepto teórico a la realidad experimental.

Sin embargo, y aun cuando no se habían clonado la mayor parte de los receptores farmacológicos, ya se habían establecido las correspondientes teorías de la interacción fármaco-receptor. Nombres como los de Clark y Ariens o el de Stephenson estarán para siempre asociados a la historia de la Ciencia por su contribución al esclarecimiento de los modelos moleculares que rigen dicha interacción.

Pese al definitivo avance en el conocimiento de la Farmacología Molecular, faltaba un nuevo y decisivo paso: el del sistema de amplificación de la respuesta farmacológica o de segundos mensajeros. Después de haberse identificado algunos sistemas enzimáticos, la década de los ochenta se ha significado por ser la década de las proteínas G y de las que el Dr. Camarasa nos ha ofrecido tan brillante disertación.

En efecto, la existencia de unas proteínas que son capaces de unir al GTP, permite explicar hoy en día un gran número de respuestas farmacológicas al variar la actividad enzimática celular. A partir de 1985 se desencadena una verdadera carrera de obstáculos para descifrar la participación de las diversas proteínas G en la actividad de los fármacos, siendo las células neuronales las más estudiadas.

En mi opinión, el descubrimiento del sistema de las proteínas G sobresale con mucho al de otros avances en la Farmacología y en la Terapéutica por una razón, que es que con este sistema de segundos mensajeros se pone de manifiesto un carácter integrador. Tal como hemos podido escuchar, conocemos una gran cantidad de procesos que podemos englobar en el capítulo de los "segundos mensajeros": sistema adenilato ciclasa, sistema fosfodiesterasa, canales iónicos, sistema de los fosfolinosítoles, etc. Pues bien, todos ellos pueden interrelacionarse mediante el sistema de las proteínas G. Por tanto este sistema, lejos de suponer un nuevo elemento de transducción de la respuesta, lo que realmente representa es el nexo de unión entre los sistemas de segundos mensajeros hasta ahora conocidos, es como si dijéramos el "estabón perdido" o la "pieza del puzzle" que faltaba para que todo encajara a la perfección, para que pudiera establecerse un nexo racional entre la multitud de sistemas enzimáticos y de canales iónicos de que dispone la célula y que son activados o inhibidos como respuesta a la acción de los fármacos.

Un ejemplo de esta acción integradora es la que nos ha expuesto el Dr. Camarasa en su discurso al hablarnos de la activación beta-adrenérgica en corazón. La proteína G_s es la responsable última de la fosforilación del canal de calcio, lo que conlleva su apertura e ingreso masivo del ión al interior de la célula cardíaca, por medio de una proteinkinasa dependiente de AMPc.

Por otra parte, el papel de las proteínas G no tiene tan sólo un valor científico o académico sino que, tal como también se nos ha expuesto, estas proteínas son

unos excelentes marcadores de ciertas enfermedades, hipotiroidismo, insuficiencia cardíaca, etc. Sin duda, el desarrollo de técnicas sencillas y rápidas de identificación de proteínas G ha de permitir en un futuro no muy lejano la detección precoz de un buen número de patologías asociadas a la alteración de este sistema proteico.

Por último y, por lo que respecta al contenido del discurso de ingreso del Dr. Camarasa, quisiera resaltar el papel de las proteínas G de bajo peso molecular, las proteínas ras, en el marco de la biología molecular y de la Terapéutica del futuro. Como ya se ha mencionado, los genes que codifican estas proteínas son oncogenes virales. ¿Cuál es la participación de la activación de estos genes, y, por tanto de expresión de proteínas ras, en los procesos neoplásicos humanos? ¿Es que es posible inhibir selectivamente la activación de estas proteínas ras y, en consecuencia, inhibir un proceso tumoral? Actualmente son preguntas sin respuesta. Sin embargo, la denominada terapéutica genética (que ya es una realidad con la primera intervención realizada en 1991) estoy seguro que se beneficiará de los avances de la Farmacología Molecular y, particularmente, del mejor conocimiento del sistema de las proteínas G.

El Dr. Camarasa nos ha apuntado en su discurso cuán importante es cultivar la ciencia básica para que sus logros se traduzcan en un futuro en avances aplicados. Es algo a tener muy en cuenta para quienes tienen algún tipo de responsabilidad, bien sea académica, bien al frente de una industria farmacéutica.

Personalmente, no tengo ninguna duda de que la Sección sexta de Ciencias

Farmacológicas de esta Real Academia contará con el Dr. Camarasa con un nuevo miembro ansioso de trabajar por un mayor auge de la Farmacología y de la Farmacia catalanas. Su juventud y sus conocimientos profesionales, de los que su discurso de ingreso son una buena muestra, permiten augurar esos buenos presagios. En la Sección, así como con el resto de los Sres. Académicos, estoy seguro que el Dr. Camarasa encontrará el ambiente científico y humano en el que desarrollar una excelente labor profesional.

Quisiera finalmente agradecer a esta Real Academia el honor que ha supuesto para mí el designarme para contestar reglamentariamente al discurso de ingreso del Dr. Camarasa y, sin más preámbulos, solicito del Excmo. Sr. Presidente, proceda imponer al recipiendario la medalla que acredita su condición de Académico Numerario que estoy seguro desempeñará con total satisfacción.