

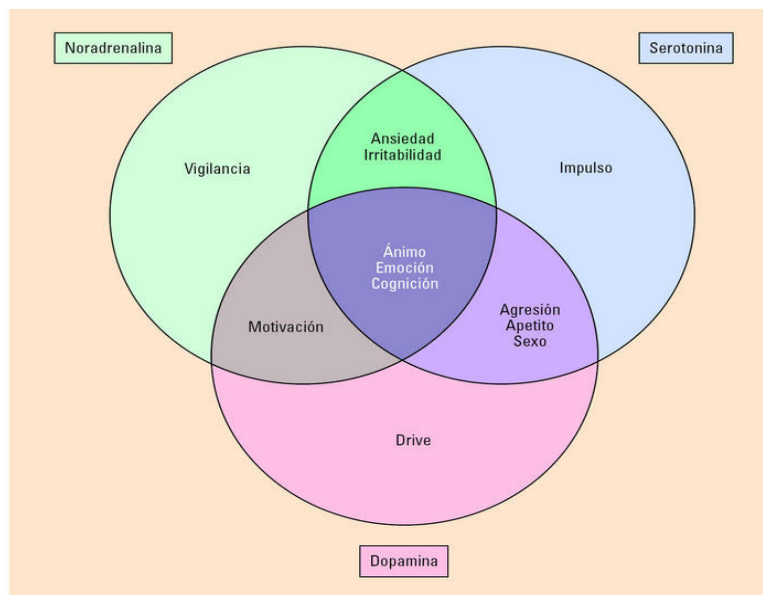
LeuT: ¿modelo para la estructura de los transportadores humanos de neurotransmisores?

Avance en el estudio de la estructura de los recaptadores de monoaminas y del mecanismo de unión para los antidepresivos.

Isabel Cuadra Casas
(Curso 2012-2013)

Trastornos depresivos: fisiopatología de la enfermedad.

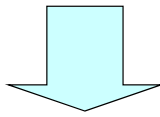
- Alteraciones en la neurotransmisión.
- Los neurotransmisores: serotonina, noradrenalina y dopamina.



Estrategias terapéuticas y sus inconvenientes.

ESTRATEGIAS:

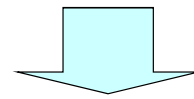
- Inhibición de MAO (primer antidepressivo: iproniácida).
- **Inhibición de la recaptación de monoaminas:** ATCs, ISRSs y otros.



Potencia y selectividad

INCONVENIENTES:

- Lentitud del inicio del efecto: regulación a la baja.
- Efectos secundarios.
- Interacciones.



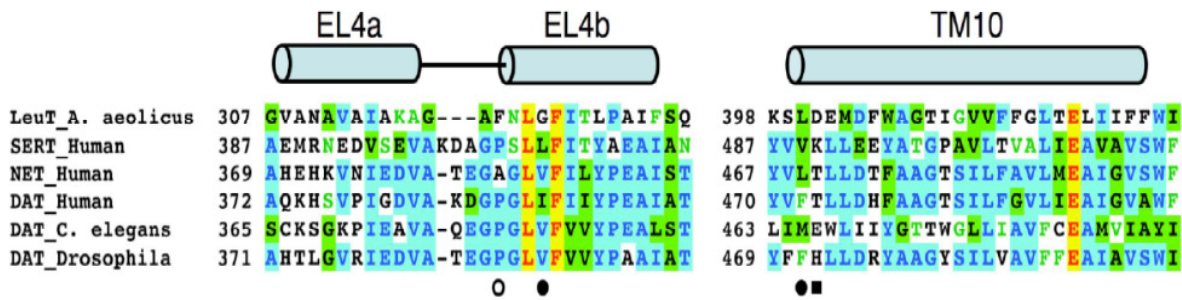
Abandono terapéutico.

Estructura de los transportadores humanos de neurotransmisores

- Imposibilidad de cristalizar las proteínas eucariotas SERT, DAT y NET (familia NSS).
- Uso de homólogos procariotas cristalizables de la misma familia de proteínas.
- Éxito relativo en la observación de los sitios de unión de ATCs a un transportador procariota: **LeuT** (primer miembro de la familia de proteínas NSS del que se ha podido conocer su estructura).

***LeuT es una proteína transportadora de leucina presente en la especie bacteriana Aquifex aeolicus.**

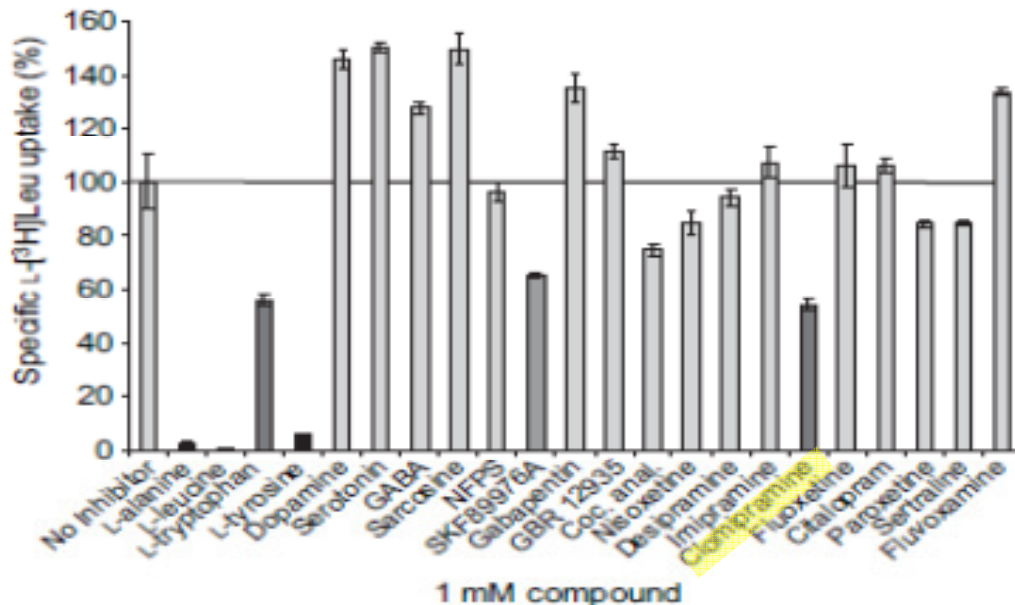
AMS de proteínas NSS de distintas especies



La similitud en la secuencia de aminoácidos entre los transportadores humanos y los de especies inferiores llevan a la hipótesis siguiente: las proteínas bacterianas NSS tienen afinidad de unión por los antidepresivos.

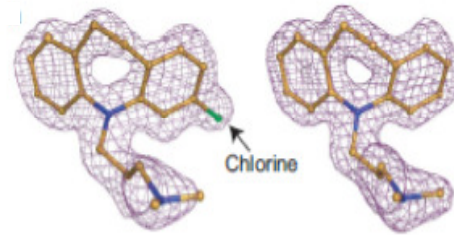
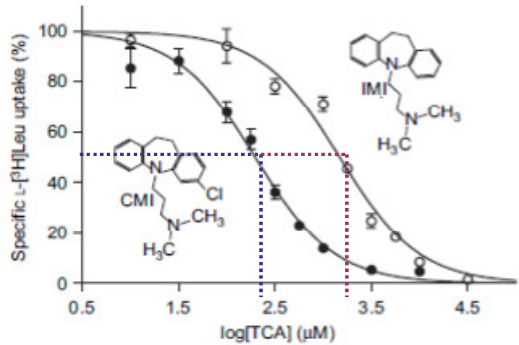
Ventajas de la confirmación de esta hipótesis: conocimiento del mecanismo molecular de unión de los antidepresivos al transportador y de la naturaleza del mecanismo de inhibición de los mismos.

Inhibición del transporte de leucina tritiada por distintas sustancias.



Clomipramina muestra la mayor potencia inhibitoria.

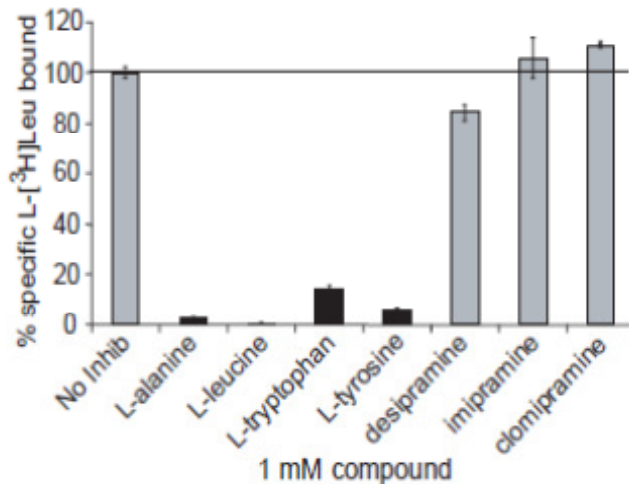
Clomipramina vs. Imipramina.



A pesar de la similitud de estructura, la clomipramina muestra una mayor potencia inhibitoria.

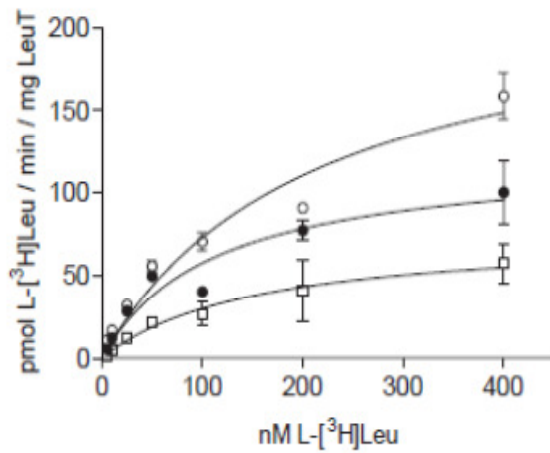
IC₅₀ (CMI)=250 µM / IC₅₀ (IMI) = 2090 µM

Experimentos de desplazamiento de radioligando unido: modelo de inhibición de los ATCs



- A diferencia de los aminoácidos, los ATCs no desplazan significativamente al sustrato.
- Se descarta una inhibición competitiva.

Modelo de inhibición por clomipramina.

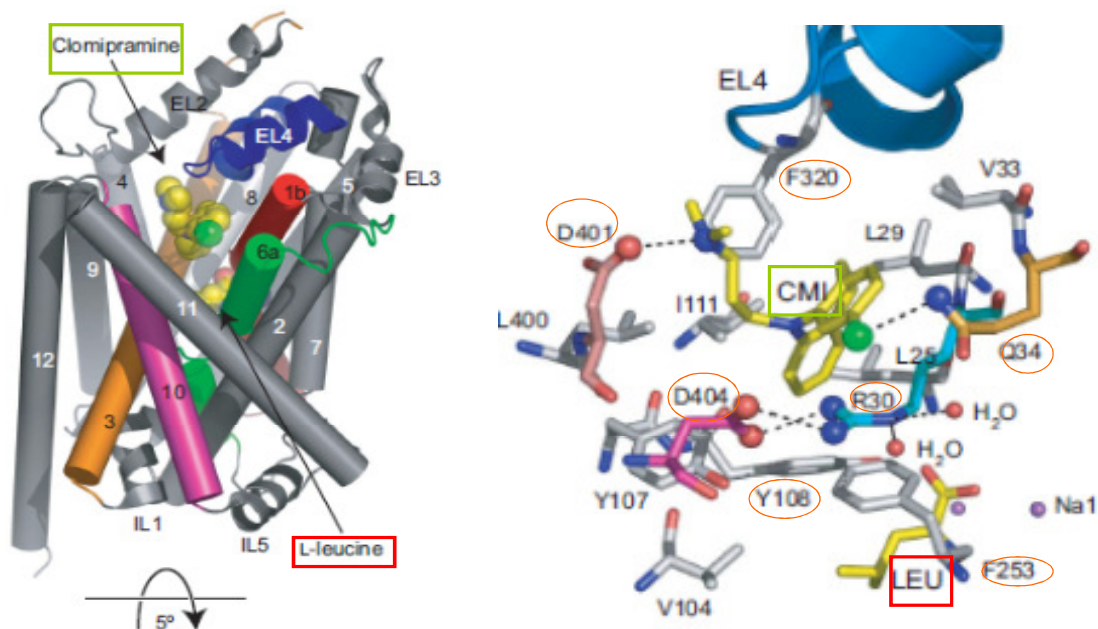


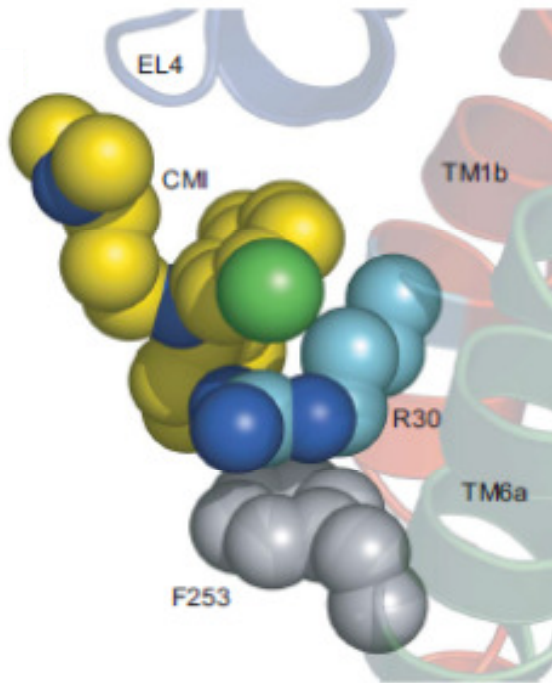
Estado estacionario cinético de la inhibición por CMI del transporte de [³H]Leu (representación de Michaelis-Menten).

- 0 μM de CMI
- 200 μM de CMI
- 800 μM de CMI

Clomipramina reduce la V_{max} del transporte de leucina.

Sitio de unión de los ATCs al transportador LeuT: CRISTALOGRAFÍA de RAYOS X



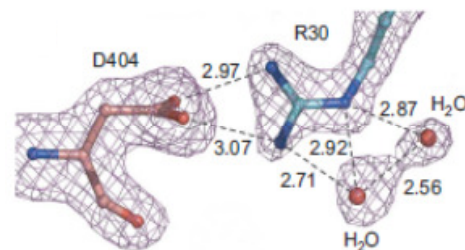


Detalle de la interacción π -catión entre Arg30 y los anillos aromáticos de CMI y Phe253

Diferencias entre el complejo LeuT-ATC y el complejo LeuT-leucina

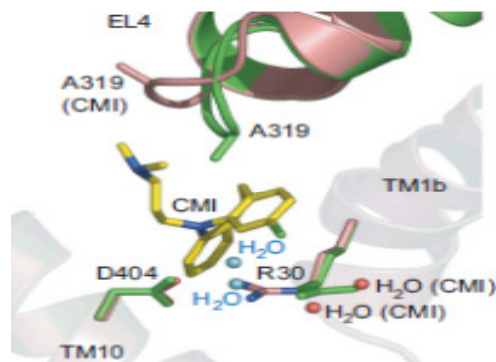
- Interacción Arg30 y Asp404:

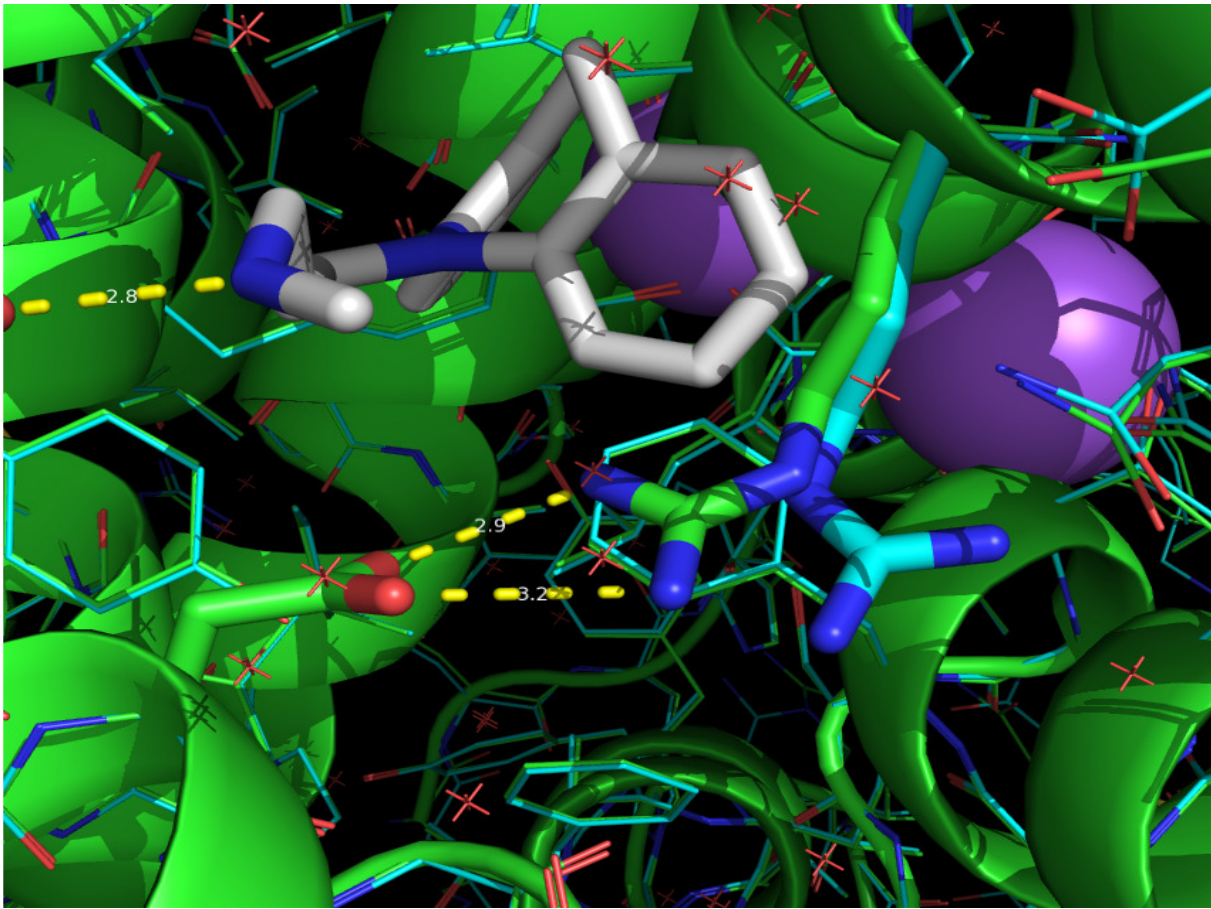
En presencia del ATC el grupo guanidinio de la Arg30 gira hacia el Asp404 estableciendo un puente salino.



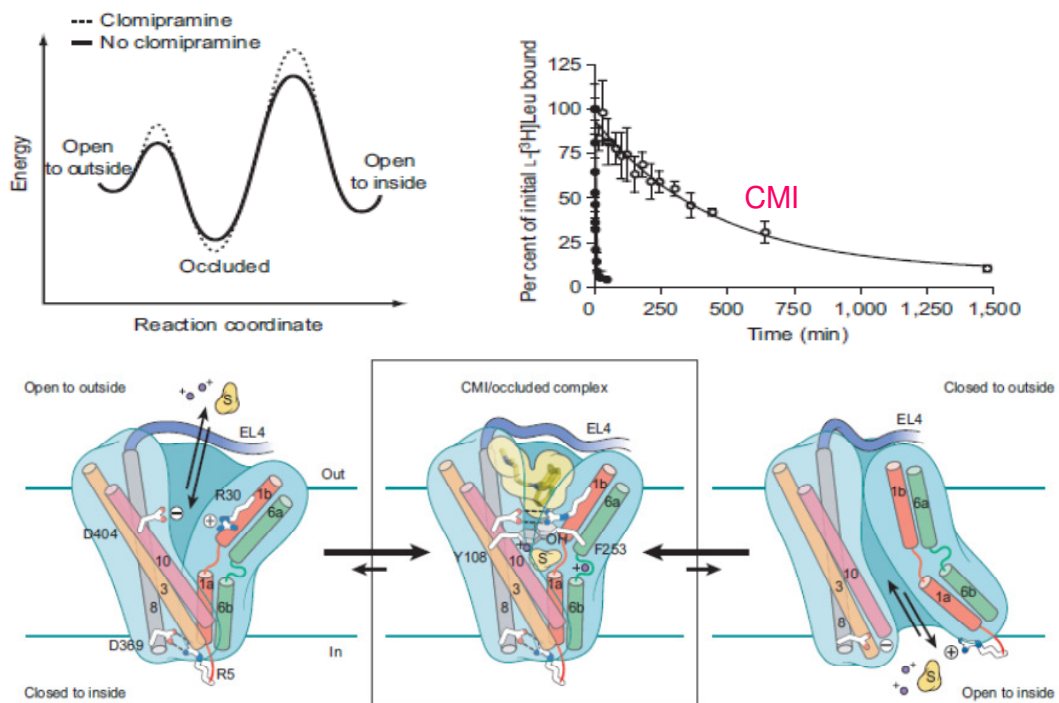
- Ala319 en EL4:

En presencia del ATC el grupo metilo de la Ala319 se orienta hacia el espacio extracelular del transportador.





Conformaciones del transportador:



CONCLUSIONES:

- El sitio de unión de ATCs está conservado de las proteínas NSS bacterianas a las de mamíferos.
- El conocimiento de este sitio de unión puede ayudar en el diseño basado en la estructura de inhibidores de la recaptación de NTs más eficaces como antidepresivos.
- La estrategia empleada en estos trabajos puede ser utilizada en el estudio de la interacción fármaco-proteína en otras investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA:

- **LeuT-Desipramine Structure Reveals How Antidepressants Block Neurotransmitter Reuptake.** Zheng Zhou et al. *Science* 317, 1390 (2007); DOI: 10.1126/science. 1147614.
- **Antidepressant binding site in a bacterial homologue of neurotransmitter transporters.** Atsuko Yamashita et al. *Nature* vol 448 (August 2007); DOI: 10.1038/nature06038.
- **Whats Is an Antidepressant Binding Site Doing in a Bacterial Transporter?** Gary Rudnik. *ACS Chemical Biology* vol. 2 NO.9, (September 2007).
- **Trastornos depresivos.** L. García Ullán, J. Pérez Rodríguez, V. González de María y S. Sánchez Iglesias. *Medicine* 9ª serie. 2007; 9(85):5451-5519.