

Autoanticuerpos contra la proteína G acoplada cardiovascular: ¿cuál es su modo de acción a nivel molecular?

JOHAN HOEBEKE

Desde el trabajo originario del grupo de Borda, que mostró por primera vez la presencia de autoanticuerpos contra los receptores betaadrenérgicos cardíacos en pacientes con enfermedad de Chagas, (1) una gran cantidad de evidencias provenientes de distintos grupos han confirmado la existencia de este tipo de autoanticuerpos, no sólo en la enfermedad de Chagas, sino también en otras miocardiopatías con componente autoinmune. (2-5) El Laboratorio de Biología Molecular y Cultivo Celular del Departamento de Cardiología, Hospital Ramos Mejía de Buenos Aires, ha estado en la primera línea en la valoración de la importancia funcional de estos autoanticuerpos. (6-11)

Dos líneas de evidencia confirman que los anticuerpos de este tipo no sólo son marcadores de enfermedades cardíacas con un componente autoinmune, sino que contribuyen a algunos o a todos los síntomas asociados. La inmunoadsorción del suero de los pacientes que presentan autoanticuerpos antirreceptor β_1 -adrenérgico resulta en una mejoría de la función cardíaca. (12) Si bien esta observación no prueba en forma inequívoca que los anticuerpos antirreceptor β_1 -adrenérgico son responsables de los síntomas patológicos, dado que por esta técnica se eliminan también autoanticuerpos contra otros efectores tisulares, sugiere al menos que los autoanticuerpos tienen un efecto deletéreo. La otra línea de evidencia demuestra que la inducción de los anticuerpos antirreceptor contra el receptor β_1 -adrenérgico y el receptor cardíaco muscarínico M_2 en animales experimentales, produce cambios morfológicos similares, si bien no idénticos, a aquéllos que se encuentran en la miocardiopatía dilatada idiopática. (13, 14) La observación del grupo del Hospital Ramos Mejía, de que la presencia de autoanticuerpos dirigidos contra diferentes receptores cardiovas-

culares se correlaciona con anomalías electrofisiológicas específicas, que se publica en este número de la Revista Argentina de Cardiología, confirma la patogenicidad de estos autoanticuerpos.

Como inmunofarmacólogo estructural, desearía revisar los datos disponibles que pueden arrojar luz en los mecanismos moleculares por los cuales estos autoanticuerpos ejercen su efecto sobre los receptores semejantes, para señalar las intervenciones terapéuticas potenciales que podrían aliviar los síntomas patológicos inducidos por los anticuerpos.

Los anticuerpos estabilizan los dímeros de receptores activos

Hay evidencia creciente acerca de que la activación del receptor acoplado a la proteína G por agonistas, lleva a la dimerización del receptor. (15) Esta evidencia se basa sobre estudios en células transfectadas con genes del receptor, que expresan una cantidad relativamente elevada de éste en la membrana plasmática. Si bien el modelo de dimerización puede extrapolarse a las células que expresan en forma constitutiva receptores acoplados a la proteína G, no puede excluirse que la inducción de la dimerización se vea favorecida por la alta densidad de receptores expresados en células transfectadas, según la ley de acción de masas. Empleando cardiomiocitos de cobayos adultos normales, pudimos mostrar que los anticuerpos antirreceptor reconocían un epítipo sólo accesible en la conformación de receptor activo y que la estabilizaban. Sugerimos que esta estabilización resultó del entrecruzamiento de un receptor dimérico, lo cual mostraba la presencia de estos dímeros en células que expresan constitutivamente al receptor. (16) Pudimos confirmar esta hipótesis mostrando que los fragmentos monovalentes Fab de un anticuerpo monoclonal con actividad "de

tipo agonista" sobre el receptor muscarínico M_2 , ya no podía activar al receptor, a diferencia del anticuerpo divalente. Cuando los fragmentos Fab nuevamente se unieron con una IgG anti-Fab, se restableció una actividad del tipo agonista. (17) El mismo enfoque aplicado en un anticuerpo monoclonal "de tipo agonista" dirigido contra el receptor β_2 -adrenérgico, dio resultados similares. Los fragmentos Fab monovalentes no activaron al receptor, pero la activación se restableció después de entrecruzar los fragmentos Fab con la IgG anti-Fab. (18)

Los anticuerpos actúan como agonistas parciales

Los autoanticuerpos que reaccionan a los receptores betaadrenérgicos, ya sea los autoanticuerpos del paciente o los anticuerpos monoclonales, se comportan como agonistas parciales, en el sentido de que ejercen una actividad intrínseca pero bloquean la actividad agonista completa de la hormona correspondiente. (18, 19) Estos resultados son confirmados por el efecto antagonista de los fragmentos Fab monovalentes. De hecho, los fragmentos Fab de un anticuerpo monoclonal antirreceptor adrenérgico β_2 bloquean el efecto del agonista completo clenbuterol. (18) Como agonistas parciales, los anticuerpos antirreceptor betaadrenérgico no inducen la desensibilización, si bien inducen la activación de la fosfoquinasa A, (20, 21) responsable de la fosforilación del receptor, que lleva a la desensibilización heteróloga de éste.

Esta aparente paradoja podría explicarse por el hecho de que los anticuerpos inducen una conformación específica del receptor, el cual, por mecanismos alostéricos, bloquea el bolsillo para la entrada del agonista, sin hacer accesibles los sitios de fosforilación para la fosfoquinasa A. Dado que la depalmitoilación del receptor se relaciona en forma directa con la activación de la adenilato ciclasa por diferentes agonistas, (22) y que el aumento en el AMPc inducido por anticuerpos es muy bajo en comparación con el inducido por isoproterenol, (19) podemos adelantar la hipótesis de que la conformación inducida por el anticuerpo no permite la depalmitoilación del receptor, y así no abre los sitios de fosforilación presentes en el dominio C-terminal del receptor. De la interacción entre un anticuerpo monoclonal antirreceptor muscarínico M_2 y su receptor afín puede extraerse una hipótesis similar. De hecho, la conformación inducida por este anticuerpo monoclonal, que también es dimérica, sólo es capaz de activar la vía de transducción mediada por la Gq y no la inducida por Gi (Nascimento y col., enviado a publicación). Aquí nuevamente, debe suponerse una conformación altamente específica que sólo permita la asociación con la proteína Gq, para explicar las observaciones mencionadas. Resulta

notable que los autoanticuerpos contra el receptor muscarínico M_2 , presente en los sueros de los pacientes con enfermedad de Chagas, también parecen actuar por la vía de señalización del NO. (23) Más aún, los autoanticuerpos contra el receptor muscarínico M_2 , tampoco conducen a la desensibilización. (24)

Implicaciones terapéuticas

Los autoanticuerpos antirreceptores autonómicos son responsables de, al menos, las alteraciones electrofisiológicas asociadas con la miocardiopatía dilatada idiopática o chagásica y, si ejercen sus efectos patogénicos al inducir una conformación dimérica activa, que lleva a la activación continua, no regulada por los mecanismos de desensibilización clásicos, la inhibición de esta dimerización llevaría a la desaparición de los síntomas patológicos.

Dado que se ha mostrado que los agonistas inversos inhiben la formación de los receptores diméricos, (25) el uso de inhibidores de los receptores muscarínicos M_2 o betabloqueantes, con propiedades agonistas inversas, aliviaría los síntomas electrofisiológicos. Las fallas en un tratamiento de este tipo, en especial para los inhibidores muscarínicos M_2 , radican en el hecho de que no están dirigidos contra un tejido en particular y que pueden presentar efectos adversos en otros tejidos, en especial músculo y cerebro, en los cuales los receptores desempeñan un papel funcional importante. En vista de los efectos benéficos de la inmunoadsorción (12) deberían considerarse técnicas de inmunoadsorción más específicas, empleando columnas de afinidad, que sean específicas para los autoanticuerpos antirreceptor, en lugar de eliminar la fracción de IgG completa. En forma alternativa, dado que se han descrito péptidos lineales capaces de bloquear el efecto de los anticuerpos al unirse al sitio de combinación de ellos, estos péptidos o peptidomiméticos derivados de ellos podrían emplearse como drogas que, al saturar los autoanticuerpos antirreceptor, podrían inhibir el reconocimiento del receptor. Un enfoque más sofisticado consistiría en el empleo de fragmentos scFv, expresados en bacterias o células transfectadas con un gen de fusión, que comprenda las regiones variables de los autoanticuerpos antirreceptor. Estos fragmentos, de peso molecular relativamente bajo (alrededor de 12 kD) podrían unirse a los receptores, dado que mimetizan al sitio de combinación del anticuerpo, pero, puesto que son monovalentes, no pueden inducir la dimerización activa, por lo que podrían bloquear la dimerización inducida por los anticuerpos e inhibir la activación por el agonista del receptor, dado que, como se mencionó previamente, los fragmentos monovalentes se comportan como antagonistas. Esto podría resultar

particularmente interesante cuando la miocardiopatía se correlaciona con concentraciones aumentadas de hormonas adrenérgicas porque los fragmentos scFv también podrían actuar como betabloqueantes. Más aún, estas moléculas podrían no atravesar la barrera hematoencefálica, dado que su tamaño es demasiado grande.

La combinación de la experiencia electrofisiológica con la inmunología molecular y herramientas farmacológicas y biotecnológicas, tarde o temprano resultará relevante para el clínico responsable de la salud y el bienestar de los pacientes con enfermedades cardiovasculares autoinmunes.

BIBLIOGRAFIA

- Borda E, Pascual J, Cossio P y col. A circulating IgG in Chagas' disease which binds to β -adrenoceptors of myocardium and modulates their activity. *Clin Exp Immunol* 1984; 57: 679-686.
- Wallukat G, Wollenberger A. Effect of gamma-globulin fraction of patients with allergic asthma and dilated cardiomyopathy on chronotropic β -adrenoceptor function in cultured neonatal rat heart myocytes. *Biomed Biochem Acta* 1987; 46: 634-639.
- Limas CJ, Goldenberg JF, Limas C. Autoantibodies against β -adrenoceptors in human dilated cardiomyopathy. *Circ Res* 1989; 64: 97-103.
- Magnusson Y, Marullo S, Hoyer S y col. Mapping of a functional autoimmune epitope on the β 1-adrenergic receptor in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest* 1990; 86: 1658-1663.
- Jahn R, Boivin V, Siegmund C, Inselmann G, Lohse MJ, Boege F. Autoantibodies activating human β 1-adrenergic receptors are associated with reduced cardiac function in chronic heart failure. *Circulation* 1999; 99: 649-654.
- Rosenbaum MB, Chiale PA, Schejtmán D y col. Antibodies to β -adrenergic receptors disclosing agonist-like activity in idiopathic dilated cardiomyopathy and Chagas' heart disease. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1994; 5: 367-375.
- Ferrari I, Levin MJ, Wallukat G y col. Molecular mimicry between the immunodominant ribosomal P0 of *Trypanosoma cruzi* and a functional epitope on the human β 1-adrenergic receptor. 1995.
- Chiale PA, Rosenbaum MB, Elizari MV y col. High prevalence of antibodies against β 1- and β 2-adrenoceptors in patients with primary electrical cardiac abnormalities. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 864-869.
- Elies R, Ferrari I, Wallukat G y col. Structural and functional analysis of the B cell epitopes recognized by anti-receptor autoantibodies in patients with Chagas' disease. *J Immunol* 1996; 157: 4203-4211.
- Ferrari I, Levin MJ, Elizari MV y col. Cholinergic autoantibodies in sinus-node dysfunction. *Lancet* 1997; 350: 262-263.
- Kaplan D, Ferrari I, Bergami PL y col. Antibodies to ribosomal P proteins of *Trypanosoma cruzi* in Chagas' disease possess functional autoreactivity with heart tissue and differ from anti-P autoantibodies in lupus. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1997; 94: 10301-10306.
- Müller J, Wallukat G, Dandel M y col. Immunoglobulin adsorption in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2000; 101: 385-391.
- Matsui S, Fu MLX, Katsuda S y col. Peptides derived from cardiovascular G protein-coupled receptors induce morphological cardiomyopathic changes in immunized animals. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 641-655.
- Matsui S, Fu ML, Hayase M y col. Active immunization of combined β 1-adrenoceptor and M2-muscarinic receptor peptides induces cardiac hypertrophy in rabbits. *J Card Fail* 1999; 5: 246-254.
- Salahpour A, Angers S, Bouvier M. Functional significance of oligomerization of G protein-coupled receptors. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11: 163-168.
- Mijares A, Lebesgue D, Argibay J y col. Antipeptide antibodies sensitive to the 'active' state of the β 2-adrenergic receptor. *FEBS Letters* 1996; 399: 188-191.
- Elies R, Fu LXM, Eftekhari P y col. Immunochemical and functional characterization of an agonist-like monoclonal antibody against the M2 acetylcholine receptor. *Eur J Biochem* 1998; 251: 659-666.
- Mijares A, Lebesgue D, Wallukat G y col. From agonist to antagonist: Fab fragments of an "agonist-like" monoclonal anti- β 2-adrenoceptor antibody behave as antagonists. *Mol Pharmacol* 2000 (en prensa).
- Magnusson Y, Wallukat G, Waagstein F y col. Autoimmunity in idiopathic dilated cardiomyopathy - characterization of antibodies against the β 1-adrenoceptor with positive chronotropic effect. *Circulation* 1994; 89: 2760-2767.
- Lebesgue D, Wallukat G, Mijares A y col. An agonist-like monoclonal antibody against the human β 2-adrenoceptor. *Eur J Pharmacol* 1998; 348: 123-133.
- Mobini R, Fu M, Wallukat G, Magnusson Y, Hjalmarsen Å, Hoebeke J. A monoclonal antibody directed against an autoimmune epitope on the human β 1-adrenergic receptor recognized in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Hybridoma* 2000; 19: 135-142.
- Loisel TP, Ansanay H, Adam L y col. Activation of the β -adrenergic receptor-G α s complex leads to rapid depalmitoylation and inhibition of repalmitoylation of both the receptor and G α s. *J Biol Chem* 1999; 274: 31014-31019.
- Sterin-Borda L, Leiros CP, Goin JC y col. Participation of nitric oxide signaling system in the cardiac muscarinic cholinergic effect of human chagasic IgG. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29:1851-1865.
- Wallukat G, Fu HM, Matsui S y col. Autoantibodies against M2 muscarinic receptors in patients with cardiomyopathy display non-desensitized agonist-like effects. *Life Svi* 1999; 64: 465-469.
- Hebert TE, Mofett S, Morello JP y col. A peptide derived from a β 2-adrenergic receptor transmembrane domain inhibits both receptor dimerization and activation. *J Biol Chem* 1996; 271: 16384-16392.