

El sistema de melanocortinas es un sistema hormonal crítico en la respuesta al estrés y el control del balance energético. Sus péptidos agonistas, las hormonas estimuladoras de los melanocitos (MSHs) y la hormona adrenocorticotropa (ACTH) están codificados en un precursor común denominado proopiomelanocortina (POMC). Sus efectos se medían a través de 5 receptores (MCRs) que exhiben farmacologías y dominios de expresión particulares. Los efectos de los agonistas son contrarrestados por la acción de dos antagonistas endógenos, la proteína de señalización agutí (ASIP) y la proteína relacionada con agutí (AGRP), que pueden actuar como agonistas inversos de los receptores activados constitutivamente. Para aumentar la complejidad del sistema hormonal existen dos proteínas accesorias de los receptores de melanocortinas (MRAPs) que interaccionan físicamente con los receptores para permitir (MC2R) o modular (MC1R, MC3R, MC4R, MC5R) la expresión funcional de los mismos. La MRAP1 es imprescindible para la migración a la membrana plasmática del MC2R mientras que la MRAP2 interactúa con el resto de receptores para modular su actividad.

Experimentos anteriores demostraron que, en el pez cebra, uno de los dos parálogos de MRAP2 (MRAP2a) es capaz de interactuar con el MC4R, un receptor canónico de la MSH, transformándolo en un receptor de ACTH. Los experimentos recogidos en esta tesis doctoral demuestran que esta función se ha conservado evolutivamente y esta conservación evolutiva sugiere la existencia de un rol fisiológico para la interacción MRAP2-MC4R. Este rol puede estar relacionado con la transmisión de información desde el eje hipotálamo-hipófisis-interrenal, que regula la respuesta al estrés hacia los sistemas centrales que controlan el balance energético. Además, proponemos que dicha interacción oferta un mecanismo molecular potencial para la explicación de los beneficios de la terapia con ACTH en síndrome de espasmos infantiles.

Nuestro segundo objetivo fue caracterizar molecularmente la interacción entre ambas proteínas (MRAP2 y MC4R) utilizando una estrategia de receptores quiméricos. Experimentos previos en nuestro laboratorio habían demostrado que la interacción MRAP2a-MC1R no provocaban una alteración farmacológica del receptor. Por tanto, nuestra estrategia fue sustituir diferentes dominios del MC4R

por aquellos homólogos del MC1R esperando una pérdida de función, es decir una pérdida de la sensibilidad a ACTH inducida por la MRPA2a en el receptor quimérico. Una vez detectados estos dominios fundamentales optamos por la estrategia contraria, es decir, la sustitución de dominios del MC1R por aquellos homólogos del MC4R esperando una ganancia de función. Los resultados demuestran que la sustitución conjunta de los dominios transmembranales (TM) 3, 5 y 7 conjuntamente con el segundo y tercer giros extracelulares (ECL) del MC4R sobre el MC1R confiere sensibilidad a ACTH al receptor quimérico. Basándonos en los modelos estructurales de la interacción de diversos agonistas con el MC4R, nuestros resultados otorgan luz sobre la relación funcional entre la MRPA2a y el MC4R y permiten inferir modelos de interacción especulativos.

Resultados transcriptómicos previos del grupo de investigación habían sugerido la participación del sistema de melanocortinas en la regulación del reloj circadiano, por tanto, nuestro siguiente objetivo fue demostrar esta interrelación. Para ello utilizamos el paradigma de la actividad locomotora circadiana habitualmente utilizada para el estudio de los ritmos circadianos. En primer lugar, y para poner a punto el sistema de registro de la actividad, estudiamos las diferencias de actividad locomotora entre grupos aislados de machos y hembras mostrando que bajo estas condiciones de aislamiento los ritmos de actividad locomotora son dependientes del sexo, además también demostramos que la administración oral de esteroides opuestos al sexo fenotípico, es decir estradiol en machos y 11-ceto-androstenediona (como precursor de la 11-cetotestosterona) en hembras, revertía parcialmente los efectos del sexo sobre el perfil locomotor. Finalmente quisimos estudiar la posible interacción del sistema de melanocortinas y la regulación del reloj circadiano demostrando que la sobreexpresión de antagonistas endógenos en modelos de transgénesis en el pez cebra modifica el patrón de actividad de los animales. Los animales transgénicos exhiben una mayor actividad significativa especialmente durante el periodo nocturno. Estos datos concuerdan con datos ya publicados por nuestro grupo de investigación donde se demuestra la ausencia de diferencias significativas en los niveles de melatonina entre el día y la noche en animales transgénicos.