El ATP como transmisor químico extracelular

Rangel-Yescas Gisela Edith,[1] Garay Rojas Teresa Edith,[2] Arellano Ostoa Rogelio[3]

RESUMEN

Además del papel que juegan los nucleótidos en la fisiología celular, estas moléculas pueden ser liberadas de la célula y actuar como transmisores químicos en diversos sistemas celulares. Particularmente, el trifosfato de adenosina o ATP, una vez fuera de la célula, es degradado por ecto-ATPasas, formando ADP, AMP y adenosina. Todas estas moléculas ejercen su acción a través de los receptores tipo P. Estas proteínas se dividen a su vez en los receptores P1 y P2, los cuales son activados principalmente por adenosina y ATP respectivamente. De manera general, al subtipo P1 pertenecen receptores acoplados a proteínas G y han sido relacionados con fenómenos celulares como: procesos antiinflamatorios, la disminución de la actividad neuronal, y la inhibición de la contracción muscular. Por otra parte, los receptores del subtipo P2 se subdividen en P2Y y P2X. Los receptores P2Y, también son receptores acoplados a proteínas G y se les asocia con: la proliferación y la diferenciación celular, la liberación de macromoléculas, el proceso de coagulación y con la permeabilidad celular. Por su parte los receptores P2X, son canales catiónicos activados directamente por el ligando, y su activación está relacionada con procesos como: la transmisión de información sensorial, la contracción del músculo liso, la respuesta inflamatoria y la muerte celular programada. Entender la relación estructura-función de cada elemento del sistema de comunicación mediada por ATP, adenosina y otros nucleótidos, permitirá definir cabalmente su papel en la fisiología y en algunos casos, proponer el diseño de fármacos específicos para el tratamiento de patologías asociadas.

Palabras clave: *trifosfato de adenosina, receptores tipo P, canales catiónicos.*

Rev Mex Neuroci 2007; 8(3): 276-285

ATP as extracellular chemical transmitter

ABSTRACT

In addition to their role in cellular metabolism, nucleotides can be released from the cell to act as chemical transmitters in diverse cellular systems. In particular, adenosine triphosphate or ATP, once outside the cell, is degraded by ecto-ATPases, forming ADP, AMP and adenosine. All of these molecules, including ATP, exert physiological actions through the stimulation of P-type receptors. These proteins are divided into the P1 and P2 receptors, which are activated mainly by adenosine and ATP, respectively. In general, P1 subtype receptors are coupled to G proteins, and members of this group participate in cellular phenomena such as: anti-inflammatory processes, decrease of the neuronal activity, and the inhibition of muscular contraction. On the other hand, the P2 subtype is subdivided into P2Y and P2X subtypes. The P2Y receptors are also coupled to G proteins and are involved in processes such as: cellular proliferation and differentiation, the release of macromolecules, coagulation, and cellular permeability. The P2X receptors are cationic channels which are operated directly by ATP binding, and their activation is related to several processes, for example: transmission of sensorial information, smooth muscle contraction, the inflammatory response, and apoptosis. A comprehensive understanding of the relationship between the structure and function of the different elements involved in purinergic communication, and particularly that of P receptors, would allow their physiological role to be defined, and in some cases, would facilitate the design of specific drugs to treat associated pathologies.

Key words: *Adenosine triphosphate, P-type receptors, cationic channels.*

Rev Mex Neuroci 2007; 8(3): 276-285

1. *Alumna del Doctorado en Ciencias Biomédicas, UNAM. (Candidato a Doctor). Instituto de Neurobiología, UNAM.*
2. *Técnico Académico Titular "C". Instituto de Neurobiología, UNAM.*
3. *Investigador Titular "B" y Coordinador de la Maestría en Ciencias (Neurobiología). Instituto de Neurobiología, UNAM.*

Correspondencia:
Dra. Gisela Edith Rangel Yescas
Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México
Apartado Postal 1-1141, 76001. Querétaro, Qro., México
Tel.: (01-442) 238-1062 o 5623-4062
Fax: (01-442) 238-1017 o 5623-4017
Correo electrónico: grangelyescas@yahoo.com.mx

INTRODUCCIÓN

Los nucleótidos son moléculas que cumplen funciones de gran importancia en la fisiología celular. Sólo por mencionar algunos ejemplos, se puede destacar su participación en la síntesis de macromoléculas, en la modulación funcional de múltiples proteínas y su relevante papel en el metabolismo celular. Particularmente el trifosfato de adenosina (ATP), además de ser la principal "moneda energética", a principios del siglo pasado se mostraron las primeras evidencias de que, bajo diferentes estímulos, el ATP es liberado de la célula y actúa como transmisor químico en diferentes sistemas celulares. Sin embargo, la importancia del ATP

como elemento central en el metabolismo energético ha recibido sin duda la mayor atención, mientras que el reconocimiento de sus efectos a nivel extracelular ha ocurrido sólo en años recientes. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo, es presentar un panorama general del conocimiento sobre el llamado "sistema de señalización purinérgico", destacando su importancia fisiológica y las posibles aplicaciones clínicas.

ATP…¿UN TRANSMISOR QUÍMICO?

La idea de que los nucleótidos de adenosina podían actuar como transmisores químicos surge a partir de los trabajos de Drury & Sent-Györgyi en 1929. Durante la primera mitad del siglo pasado, todas las investigaciones al respecto, se enfocaron en la descripción de los efectos fisiológicos observados al aplicar experimentalmente ATP o adenosina en diferentes tejidos. Dentro de los efectos más importantes encontrados en ese momento, se pueden destacar, su papel como vasodilatador en corazón y arterias coronarias, la inhibición en la motilidad intestinal y la contracción uterina y del músculo estriado. Aunado a esto, se observó que este nucleótido provocaba cambios bioquímicos y electrofisiológicos en el sistema nervioso, lo que se manifestaba como ataxia y un efecto anestésico general. No fue hasta 1959, cuando Pamela Holton demuestra que el ATP puede liberarse durante la estimulación eléctrica de nervios sensoriales, lo que sugería que esta molécula pudiera ser considerada como un neurotransmisor.[1-5]

Desafortunadamente, en estos primeros estudios aún no se contaba con nucleótidos puros; y dada la rápida hidrólisis de estas moléculas en medios biológicos, no fue posible establecer una relación clara entre una respuesta fisiológica y un nucléotido determinado. Por lo anterior, el producto final de hidrólisis extracelular del ATP, es decir, la adenosina, recibió entonces el principal reconocimiento como un transmisor químico extracelular.

En los años 60's y 70's dos hechos consolidaron el papel del ATP como un transmisor químico. Por un parte se demostró que las terminales nerviosas, que inervan el tracto gastrointestinal y la vejiga, no cumplían con los criterios para considerarse como terminales colinérgicas o aminérgicas, ya que no sintetizaban, no almacenaban ni tampoco liberaban acetilcolina o noradrenalina, lo que sugería la existencia de otros transmisores químicos en dichas terminales. Muchas substancias se estudiaron como posibles candidatos, pero la única que satisfizo los criterios clásicos de un neurotransmisor fue el ATP. Los trabajos al respecto fueron realizados en su gran mayoría por Geoffrey Burnstock, quien denominó a estos nervios como no-adrenérgicos, no-colinérgicos, o como NANC por sus siglas. Cabe destacar que esta hipótesis que fue rechazada por más de 10 años, ahora es plenamente aceptada.[6]

Otro hecho que consolidó la hipótesis de la "transmisión purinérgica" fue la demostración de que, durante en la contracción muscular, además de noradrenalina y acetilcolina, existía otro neurotransmisor involucrado. Con base en estudios farmacológicos, se evidenció que es justamente el ATP quien se co-libera con los neurotransmisores antes mencionados. La idea de la co-transmisión iba en contra del "principio de Dale" según el cual, una neurona era capaz de liberar un solo transmisor. No fue sino hasta 1976, cuando Burnstock demuestra que dos substancias pueden ser co-liberadas de la misma terminal sináptica y actúan sobre las mismas regiones postsinápticas, activando en estas últimas dos tipos de receptores específicos independientes. El papel del ATP como cotransmisor está hoy en día plenamente confirmado principalmente en las terminales de los nervios simpáticos y parasimpáticos. Además, recientemente se ha demostrado que este nucleótido también puede ser coliberado en el sistema nervioso central con neurotransmisores como glutamato, dopamina y GABA.[7,8]

A mediados de los 80's, finalmente se reconoció, mediante estudios farmacológicos, la existencia de los llamados "receptores purinérgicos" o tipo P, y a lo largo de la década pasada se lograron clonar los primeros receptores de este tipo. Esto último permitió un gran avance en el estudio detallado de la importancia fisiológica y patológica del sistema se señalización purinérgico.[9-12]

ATP FUERA DE LA CÉLULA

Mecanismos de liberación

Actualmente se sabe que bajo diferentes estímulos, el ATP puede ser liberado al espacio extracelular y actuar como transmisor al estimular de manera autócrina o parácrina a las células adyacentes. Existe un gran número de células que son capaces de liberar ATP, y el tipo de estímulos que lo induce son de diversa índole. Dentro de los estímulos que promueven la liberación de ATP, se encuentran: los impulsos eléctricos, los estímulos mecánicos, el cambio de volumen celular, la isquemia, la hiperoxia, la liberación por estímulos químicos (neurotransmisores) y la lisis celular.[13-15]

Asimismo, se han propuestos diversos mecanismos involucrados en la liberación de este nucleótido, los cuales se pueden dividir en cuatro:

1. *La liberación a través de vesículas.*[16-18]
2. *Por medio de transportadores específicos.*
3. *Como consecuencia de la lisis celular.*
4. *A través de diversos canales iónicos.*

Entre las moléculas transportadoras que han sido propuestas como responsables en liberación del ATP, se encuentran:

a) Algunos miembros de la familia de proteínas ABC (*ATP- binding cassette protein*), tales como la glicoproteína-P, el transportador resistente a multidrogas (mdr) y el regulador de la conductancia transmembranal de la fibrosis quística (CFTR).[19,20]
b) Los hemicanales formados por las conexinas 46 ó 50, así como los de panexina 1.[21,22]
c) Canales iónicos como: los aniónicos regulados por volumen o voltaje (VRACs: volume-regulated anion channels; VDAC: voltage-dependent anion channels; VSOAC: volume-sensitive organic anion channels), los canales de cloro de rectificación entrante (ORCC: outwardly rectifying Cl^- channel) e, incluso, el receptor purinérgico $P2X_7$. Cabe mencionar que, la concentración basal reportada para ATP en el espacio extracelular es de aproximadamente 10nM, sin embargo, bajo condiciones que implican su liberación, este transmisor puede alcanzar concentraciones hasta del orden de decenas de mM.[23-29]

Metabolismo extracelular del ATP

Uno de los mecanismos que interrumpen la actividad de un transmisor químico es su eliminación del espacio extracelular, ya sea por recaptura o por degradación. En el caso del ATP, se sabe que, una vez que éste se encuentra en el espacio extracelular, puede ser hidrolizado por ectoATPasas generándose ADP, AMP y finalmente adenosina, esta última ingresa nuevamente a la célula a través de transportadores específicos. Las reacciones químicas implicadas en la degradación del ATP extracelular, son catalizadas por diferentes enzimas fosfatasas, las cuales se localizan en el lado externo de la membrana plasmática. Se han descrito, hasta el momento, tres familias de fosfatasas implicadas en el catabolismo del ATP extracelular:

1. Las nucleótidos tri y difosfohidrolasas (NTPDasa), las cuales hidrolizan los nucleótidos di y trifosfato, sin especial preferencia por la base púrica o pirimídica presente en ellos.
2. Las ecto-fosfodiesterasas (E-NPP), estas enzimas son las encargadas de romper los enlaces fosfodiester y enlaces pirofosfato, por lo que pueden hidrolizar el ATP generando AMP y PPi como productos de la reacción. Dichas enzimas, también pueden romper el enlace fosfodiester de los diadenosina polifosfatos, de las coenzimas que contienen componentes nucleotídicos, de los azúcares activos unidos a los nucleótidos correspondientes, o incluso de los nucleótidos cíclicos que puedan salir de la célula.
3. Las Ecto-5'-nucleotidasas, estas enzimas catalizan la etapa final de la degradación de los nucleótidos monofosfato, produciendo nucleósidos y fosfato inorgánico, y es por lo tanto la enzima responsable de la formación de adenosina a partir del ATP y el ADP liberados.[30-35]

RECEPTORES TIPO "P"

Tanto el ATP como sus metabolitos activan al grupo de receptores denominados originalmente "purinérgicos", sin embargo, es importante señalar que algunos de estos receptores también pueden ser activados por nucleótidos con bases pirimidínicas como por ejemplo el tri y el difosfato de uridina (UTP, UDP). Por esto, actualmente a estos receptores se les nombra como tipo P, donde la "P" hace alusión en forma general tanto a los nucleótidos con bases púricas o pirimidínicas. Estos receptores han sido identificados en un gran número de organismos que van desde peces, anfibios, aves, diversas especies de mamíferos (incluido el hombre), e incluso en algunas especies de plantas. El organismo más antiguo en la escala evolutiva en donde se ha demostrado la expresión de los receptores P es el platelminto de la especie *Schistosoma mansoni.* Sin embargo, hasta el momento no se tienen evidencias de su expresión en *Drosophila melanogaster* o en *Caenorhabditis elegans*.[36-45]

Como hemos mencionado, este grupo de receptores se divide en P1 y P2, cuya característica distintiva es que son activados de forma específica por adenosina o por ATP, respectivamente. Los receptores P1 pertenecen a la superfamilia de receptores con siete dominios transmembranales acoplados a proteínas G heterotriméricas (Figura 1A). Dichos receptores ejercen su acción en las células regulando la concentración de segundos mensajeros tales como: el monofosfato cíclico de adenosina (AMPc), el diacilglicerol (DAG) y el inositol trifosfato (IP_3).[36,37]

Dentro de este primer tipo de receptores se han descrito cuatro diferentes genes denominados: A1, A2a, A2b y A3. Los suptipos A1 y A3 tienen un 49% de identidad y ambos se acoplan preferentemente a las proteínas heterotriméricas Gi y Gq, las cuales inhiben la síntesis de AMPc y promueven la formación de DAG e IP_3 respectivamente. De manera particular el subtipo A1, a través del complejo $\beta\gamma$ de la proteína G, también es capaz de activar a canales de potasio sensible a ATP tipo Kir (K_{ATP}), e inhibir a los canales de calcio dependientes de voltaje del tipo Q, P y N. Por su parte, los subtipos A2a y A2b

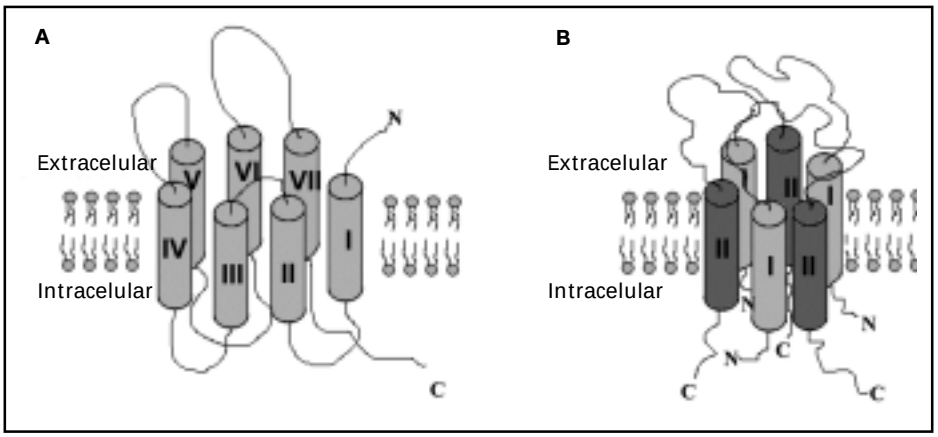

Figura 1. Receptores tipo P. **A.** Receptor P1 y P2Y activados por adenosina y ATP respectivamente. Ambos pertenecen a la familia de receptores con siete dominios transmembranales acoplados a proteínas G. **B.** Receptores P2X, son canales catiónicos activados por ATP. Están formados por tres subunidades, cada una con dos dominios transmembranales y un dominio extracelular.

tienen un 59% de identidad y ambos ejercen su acción directamente sobre la proteína Gs, estimulando con ello la síntesis de AMPc. Sumado a lo anterior, recientemente se ha demostrado que el subtipo A2a, también es capaz de activar la vía se señalización mediada por el ácido araquidónico, mientras que el subtipo A2b, en algunos sistemas celulares, también induce la formación de DAG e IP_3, a través de la proteína Gq.[36,37]

Por su parte, los receptores tipo P2 se subdividen de acuerdo con su estructura molecular y mecanismo de acción en receptores P2Y y P2X. Los receptores P2Y, al igual que los P1, pertenecen a la superfamilia de receptores con siete dominios transmembranales acoplados a proteínas G heterotriméricas (Figura 1A). Hasta el momento se han identificado en mamíferos ocho subtipos de estos receptores denominados $P2Y_1$, $P2Y_2$, $P2Y_4$, $P2Y_6$ y $P2Y_{11-14}$,. Éstos se diferencian entre sí, por la secuencia de nucleótidos que los codifican, por la afinidad por su ligando y por la cascada de señalización que activan. En cuanto a su farmacología, se puede destacar que los receptores $P2Y_{1,11-13}$ responden principalmente al ATP; el subtipo $P2Y_6$ presenta mayor afinidad por UTP y UDP y los subtipos $P2Y_{2\ y\ 4}$, son activados de forma similar por ambos nucleótidos trifosfato (ATP = UTP). El subtipo $P2Y_{14}$, ha sido identificado recientemente y se propone que responde principalmente a ADP-glucosa. Cabe mencionar que los subtipos $P2Y_{12-14}$, presentan características moleculares y farmacológicas diferentes al resto de los subtipos, por lo que desde el punto de vista filogenético, se les agrupa de manera independiente. Los receptores P2Y están involucrados en la activación de diversas vías de señalización. Se sabe que, salvo los subtipos $P2Y_{12-14}$, todos los receptores P2Y activan a la proteína Gq. Además de activar a dicha proteína G, los subtipos $P2Y_1$ y $P2Y_2$ también se acoplan a la proteína Gi, y el subtipo $P2X_{11}$ a la proteína Gs. En cuanto a los subtipos $P2Y_{12-14}$ se sabe que éstos son capaces de activar a la proteína Gi. Finalmente, cabe mencionar que los receptores P2Y, a través de las subunidades $\beta\delta$ de la proteína G, también pueden modular la actividad de diversos tipo de canales de calcio y de potasio.[14,36,38,39,45.]

En cuanto a los receptores P2X, estos son canales catiónicos activados por ligando, permeables principalmente a Ca^{2+}, Na^+ y K^+. Es importante resaltar que, a diferencia de los receptores P2Y, el ligando natural reportado para el receptor-canal es únicamente el ATP. De acuerdo a las características moleculares de estos receptores, han sido clasificados como una nueva familia de receptores, ya que no pueden ser agrupados dentro de la superfamilia de los receptores de asa-Cys, de los cuales el receptor nicotínico es el ejemplo mejor estudiado, ni a la familia de los receptores a glutamato. Hasta el momento, se han identificado en mamíferos siete diferentes subtipos de receptores llamados $P2X_{1-7}$, con un 40 a 50% de identidad entre ellos, asimismo, han sido descritas numerosas isoformas para algunos de estos receptores. Se sugiere que el receptor-canal P2X esta formado por tres subunidades que pueden ser del mismo subtipo (canales homoméricos) o de 2 subtipos diferentes (canales heteroméricos). Con excepción de la subunidad $P2X_7$, todos los subtipos pueden formar canales heteroméricos funcionales. Cada subunidad P2X esta formada por: dos dominios transmembranales, un dominio extracelular (DEC) y los grupos amino y carboxilo terminales se encuentran ubicados en la región citoplasmática. En el dominio extracelular se encuentra tanto el sitio de unión al ligando, así como a diferentes moduladores, entre los que se encuentran algunos metales (cobre y cinc) y los protones. Por su parte, los dominios transmembranales participan en el ensamble del canal y en el mecanismo de apertura del mismo. Cabe destacar que el dominio transmembranal dos está involucrado con la formación del poro y contiene el filtro de selectividad. En cuanto a la región amino terminal, se sabe que está

formada por 20 a 30 aminoácidos, y que en ella se encuentra un sitio de fosforilación reconocido por la proteína cinasa C, involucrado en la regulación del canal. El carboxilo terminal, es una de las regiones más variables en estos receptores, ya que el número de aminoácidos que conforma dicha región va de 28 a 242 dependiendo del subtipo. Este dominio participa en la desensibilización del canal, así como en la internalización del mismo. De manera general, las propiedades biofísicas y farmacológicas de estos receptores-canal son muy heterogéneas, y están determinadas por la estequiometría de los subtipos o variantes que los conforman [36,38,40,46,47] (Figura 1B).

EL SISTEMA DE SEÑALIZACIÓN PURINÉRGICO

Sistema nervioso

En el sistema nervioso central, se ha reportado que el ATP es coliberado con glutamato, serotonina, noradrenalina y dopamina. Asimismo, receptores $P2X_{2,\ 4\ y\ 6}$ así como $P2Y_{2\ y\ 4}$, han sido identificados en diferentes áreas del cerebro y cerebelo, las cuales están involucradas con fenómenos como: la regulación de la temperatura del cuerpo, la potenciación a largo plazo (fenómeno que ha sido relacionado con el desarrollo de la memoria y el aprendizaje), y la regulación de las funciones somatosensoriales. Por su parte la adenosina, a través de los receptores A1 y A2a, ha sido relacionada con la inducción del estado de sueño.[1,29,37,47,48]

Tanto en el sistema nervioso central como en el periférico, el ATP es una molécula fundamental en la comunicación neurona-neuroglia. Además de las neuronas, se ha comprobado que los astrocitos son capaces de liberar este neurotransmisor en respuesta a estímulos mecánicos y químicos. Asimismo, se ha puesto en evidencia que todos los tipos de células neurogliales expresan receptores tipo P2. Las respuestas celulares observadas en células neurogliales estimuladas con ATP son diversas, y van desde la proliferación celular, la liberación de neurotransmisores y de moléculas proinflamatorias, hasta la producción de mielina y la muerte celular programada. De esta manera, las células neurogliales, a través de la activación los receptores P2, participan de manera activa en la regulación de la transmisión sináptica, y al mismo tiempo cumplen su importante papel en la "reparación tisular" en caso de que se presente algún tipo de daño en el sistema nervioso. Este último punto será discutido más adelante.[1,29,47-50]

Aferencias sensoriales

Como ya se mencionó, uno de los mecanismos que inducen la liberación de ATP, es el estímulo mecánico. En este contexto, se ha demostrado que el cambio de volumen en diferentes órganos promueve, a través de un estímulo mecánico (i.e., distensión del tejido), la liberación de ATP por parte de las células epiteliales que le rodean. Esta molécula estimula, a través de los receptores $P2X_2$, $P2X_3$, $P2X_2/P2X_3$ y $P2Y_1$, a las neuronas sensoriales primarias localizadas en el ganglio de la raíz dorsal. De esta manera es posible transmitir la información mecánica generada en diferentes órganos hacia el sistema nervioso central. Asimismo, se ha demostrado que las neuronas implicadas en la transmisión de la información sensorial que expresan receptores P2, también están involucradas en la transmisión de estímulos dolorosos. Por lo anterior, se ha sugerido el empleo de antagonistas específicos de estos receptores como posibles anestésicos en el tratamiento de patologías en donde se presenta dolor crónico. [1 y 48.]

Por otra parte, diversos estudios muestran que dicho nucleótido también puede ser liberado como consecuencia de la activación de los receptores visuales, auditivos olfatorios y gustativos. En este caso, al igual que en los estímulos mecánicos y dolorosos, los receptores involucrados en la transmisión de la información generada en los llamados sentidos especiales son $P2X_2$ y $P2X_3$. Sumado a lo anterior, se ha descrito que en respuesta a cambios en la concentración de oxígeno en el organismo, los cuerpos carotídios tipo I y neuroepiteliales pulmonares liberan diferentes transmisores dentro de los que se encuentran el ATP. De igual forma que en los casos anteriores, las neuronas aferentes primarias implicadas en la transmisión de dichos cambios, expresan los receptores purinérgicos ya mencionados. Se ha propuesto que, la activación de estos receptores está relacionada con la aparición de un reflejo del nervio simpático que modifica la frecuencia cardio-respiratoria, lo que favorece el proceso de adaptación del organismo a los cambios en la concentración de oxígeno. Cabe mencionar que en dicho proceso de adaptación se lleva a cabo gracias a la activación de los receptores $P2X_1$, $P2Y_2$, A1 A2a y A3 expresados en músculo liso y cardiaco.[1,37,44,48,51-56]

Sistema nervioso autónomo

Los neurotransmisores que comúnmente se han asociado con la comunicación neurona-músculo son la acetilcolina y la noradrenalina. Sin embargo, actualmente se sabe que el ATP también puede ser liberado en estas terminales nerviosas y actuar como cotransmisor en el sistema nervioso autónomo. Particularmente, en el sistema nervioso simpático, el ATP es coliberado con noradrenalina, y ambos neurotransmisores ejercen su acción a través de la

activación de receptores específicos, el P2X y el α1 respectivamente, los cuales son expresados en las células del músculo liso. De esta manera, el ATP participa en la contracción dichos músculos (Figura 2). Cabe destacar que, los efectos de adenosina son opuestos a los descritos para ATP. Para el caso de la actividad muscular, la adenosina, mediante la activación de los receptores A1 y A2a, se ha demostrado que tiene un efecto dilatador tanto para músculo liso como cardiaco. De esta manera, antagonistas de los receptores $P2X_1$ y $P2Y_2$, así como agonistas de los receptores A1 y A2a, ya han sido propuestos como fármacos en el tratamiento de enfermedades como hipertensión, taquicardia o arritmias, y algunos de ellos ya se encuentran en fase I y II de prueba clínica.[1,36,37,48]

Por otra parte, el ATP también participa en la motilidad del músculo esquelético, aunque en este caso, dicho neurotransmisor es coliberado con acetilcolina. Finalmente, cabe recordar que este nucleótido, actúa como neurotransmisor principal en los llamados nervios NANC, que están involucrados en la inhibición de la motilidad en tejidos como el intestino, la vejiga y parte del sistema reproductor.[1,48,57]

RESPUESTA INFLAMATORIA Y SISTEMA INMUNE

Después de una lesión, todos los elementos del contenido celular son liberados en la zona dañada. Como parte de estos elementos se encuentra el ATP. Una vez que hay lisis celular, la concentración de dicho nucleótido, aumenta de manera drástica en la región afectada. Por lo anterior, no es de extrañar que esta molécula participe como transmisor químico entre las células sanguíneas. En primer lugar, se ha reportado que el ATP, actúa como una señal quimioatrayente para los monocitos y las células dendríticas, mediante la activación de los receptores $P2Y_{11}$. Después de que se reclutó a dichas células, el mismo ATP, a través de los receptores $P2X_7$, participa en la activación de los monocitos y promueve con ello, la liberación de moléculas proinflamatorias como prostaglandinas, el factor de necrosis tumoral-α (TNF-α) y la interleucina 1β (IL-1β). Al mismo tiempo, con la llegada de las células dendríticas a la zona dañada, se favorece, en el caso de una lisis celular por infección, la captura del antígeno, lo cual permitirá una rápida activación de la respuesta inmune. Como ya se mencionó, el ATP puede ser degradado en el espacio extracelular hasta adenosina, esta última a través de los receptores A2a, inhibe la liberación de moléculas proinflamatorias en monocitos, linfocitos y células dendríticas. De esta manera, el equilibrio en la activación de los receptores P1 y P2, regulan el funcionamiento de las células sanguíneas y con ello permiten una correcta reparación del tejido lesionado.[1,37,48, 58]

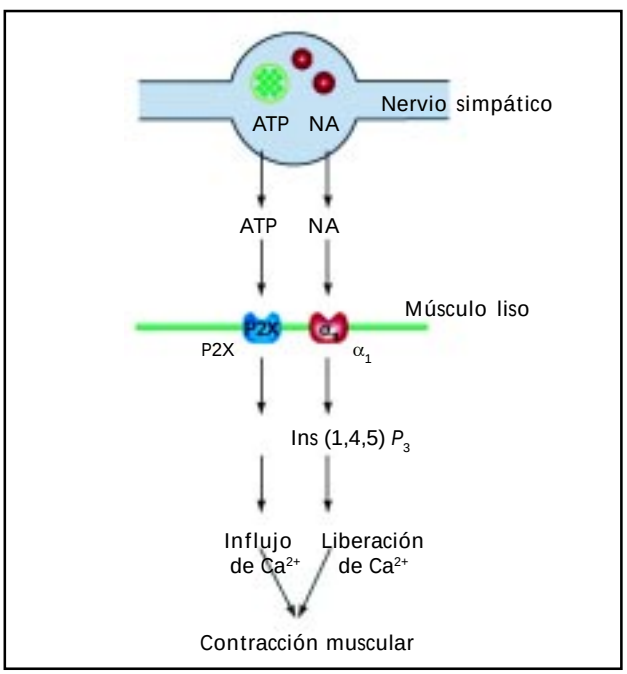

Figura 2. Coliberación de noradrenalina y ATP de nervios simpáticos. El ATP y la noradrenalina promueven la contracción del músculo liso a través de la activación de los receptores P2X y α1 respectivamente. (Reproducida y modificada con autorización de Elsevier Inc de ref 1).

El papel del sistema inmune en el sistema nervioso está a cargo de los astrocitos y de la microglia. Al igual que en el resto del organismo, en el sistema nervioso también se ha demostrado que el ATP juega un importante papel como una molécula proinflamatoria. Tanto en astrocitos como en la microglia este nucleótido, a través del receptor $P2X_7$, estimula la liberación de moléculas como plaminógeno, TNF-α e IL-6 y 1β, con lo cual se promueve la inflamación en la zona dañada y se estimula con ello, una posible reparación de dicha zona. Asimismo, se ha demostrado que el ATP, mediante la activación de los receptores $P2Y_1$ y $P2Y_2$, favorece en las neuronas la formación de nuevas neuritas, y al mismo tiempo induce la proliferación celular en los astrocitos. Esto último permite la formación de la llamada cicatriz neuroglial, cuya finalidad es tratar de compensar la pérdida celular observada después de una lesión.[1,48,50,59, 60.]

El proceso inflamatorio, es de gran importancia para el mecanismo de reparación tisular. Sin embargo, cuando se presenta inflamación crónica, lejos de favorecer la recuperación del tejido, se promueve una lesión más grave y progresiva en el área afectada. Este tipo de inflamación, se presenta frecuentemente en las enfermedades degenerativas

tanto en el sistema nervioso como en el resto del organismo. En este sentido, se ha reportado que cuando se presenta una liberación constante de ATP, como consecuencia de lisis celular no controlada, este nucleótido es capaz de inducir a su vez, muerte celular programada o apoptosis en células cercanas a la región del daño, lo que favorece el proceso degenerativo. El receptor que está involucrado en este evento es del subtipo $P2X_7$. El cual, después de una activación prolongada por ATP, presenta cambios conformacionales muy particulares, el poro del canal se dilata llegando a permear a través de él moléculas hasta de 900 daltons. Por lo tanto, se ha propuesto el uso de antagonistas específicos para este receptor, como una alternativa en el tratamiento de enfermedades degenerativas.[1,48,50,59, 60]

Otras células sanguíneas que expresan receptores tipo P son los linfocitos. En dichas células, se ha reportado que el ATP está involucrado en la activación de linfocitos T CD4+ y en la proliferación de linfocitos B. Los receptores involucrados con estas respuestas son: $P2Y_1$ y $_2$ y $P2X_{1,4}$ y $_7$. Por su parte la adenosina, a través de los receptores A2a, tiene efectos contrarios, es decir, inhibe la activación y proliferación de dichas células. Cabe mencionar que, se ha demostrado que algunos agentes patógenos, liberan ecto-ATPasas solubles como un mecanismo de defensa para evitar la activación del sistema inmune mediada por ATP. Lo anterior apoya la idea de que el sistema de señalización purinérgico juega un papel fundamental en la regulación de la respuesta inmune, por lo que receptores tipo P podrían ser blancos terapéuticos para tratar patología relacionadas con alteraciones en dicho sistema.[1,37,48]

Uno de los intermediarios en la hidrólisis de ATP es el ADP. Este último nucleótido es una los principales transmisores químicos entre las plaquetas. Existen diversos trabajos que han demostrado que tanto el ATP como el ADP, promueven la agregación de plaquetas a través de los receptores $P2X_1$, $P2Y_1$ y $P2Y_{12}$ (Figura 3). Asimismo, la activación de los receptores A2a, están involucrados con el efecto inverso, es decir, inhiben la agregación plaquetaria. De acuerdo a lo anterior, se sugiere que los receptores tipo P que regulan la agregación plaquetaria, podrían ser utilizados como fármacos específicos en el tratamiento de trombosis.[1,3,37,48, 61.]

Finalmente cabe mencionar que células precursoras del linaje hematopoyético, también expresan receptores P2. Se ha reportado que el ATP también promueve la proliferación y diferenciación en dichas células. Y así mismo, se ha observado que después de una exposición prolongada a dicho transmisor, estas células también pueden sufrir apoptosis, lo que causaría una alteración en la respuesta inflamatoria e inmune.[62]

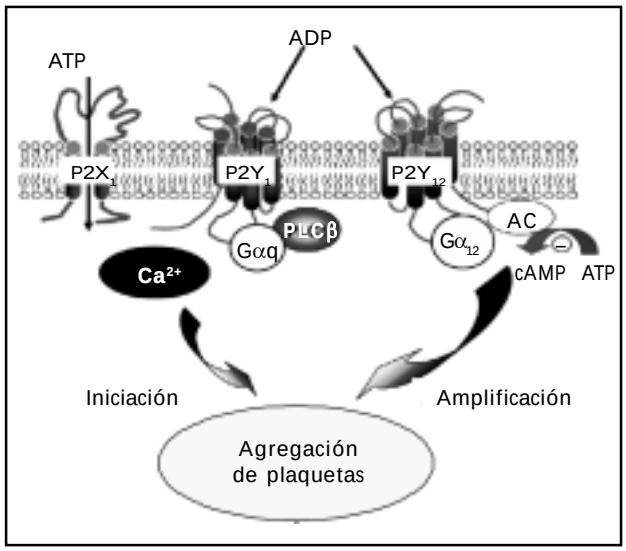

Figura 3. Receptores P2 involucrados en la agregación plaquetaria: vías de señalización. Gαq: Subunidad α de la proteína G tipo q; PLC: Fosfolipasa C; $G\alpha_{12}$: Sunidad α de la proteína G tipo 12; AC: Adenilato ciclasa. (Reproducida y modificada con autorización de Elsevier Inc de ref. 61).

SISTEMA ENDOCRINO

Además de inducir la liberación de moléculas proinflamatorias en células del sistema inmune, el ATP también actúa como factor liberador de diferentes hormonas. En este sentido, uno de sus principales tejidos blanco es la hipófisis. En dicho tejido, se ha demostrado que el ATP induce la liberación de prolactina, oxitocina y vasopresina. Asimismo, promueve la liberación de aldosterona en la corteza suprarrenal, de insulina en las células del páncreas y de estradiol en las células de Sertolli. Hasta el momento el receptor que principalmente se ha relacionado con la liberación hormonal es el subtipo $P2Y_1$.[1,3,63,64]

SISTEMA UROGENITAL

Los receptores tipo P2, están ampliamente distribuidos en las diferentes regiones de la nefrona, y su activación se ha relacionado con la secreción de renina, con los procesos de filtración y el transporte de agua, iones, nutrientres y toxinas. Hasta el momento no se ha podido asociar directamente a cada una de estas funciones con algún tipo de receptor en particular. Lo anterior sugiere que, la activación conjunta de varios subtipos de receptores es necesaria para el buen funcionamiento de las nefronas.[1,48]

Por otra parte, se ha puesto en evidencia que los órganos reproductores están inervados por el sistema nervioso simpático y por terminales NANC, por lo que noradrenalina y ATP controlan la motilidad de algunos órganos genitales. En el sistema reproductor masculino, se ha propuesto que este

nucleótido participa en la emisión del semen del epidídimo hacia la uretra prostática. Este fenómeno ha sido relacionado con la activación de los receptores $P2X_1$ y $_2$, los cuales se expresan en los conductos deferentes y al parecer regulan la contracción de los mismos. Sumado a lo anterior, se tienen evidencias de que el ATP también participa en el proceso de relajación de los cuerpos cavernosos, mediante la activación de receptores tipo P2Y. Por lo anterior se propone que en alteraciones en dicho receptores, pudieran estar relacionados con disfunción eréctil o con algún tipo de esterilidad.[3,48,65,66]

Al igual que en el sistema reproductor masculino, varios receptores tipo P2 han sido identificados en las diferentes estructuras del sistema reproductor femenino. El ovario por ejemplo, ha mostrado ser una de las estructuras que más expresa este tipo de receptores. Mediante estudios electrofisiológicos y de biología molecular, en nuestro laboratorio contamos con evidencias que sugieren que el ATP pudiera actuar como transmisor químico entre los distintos tipos celulares que conforman este importante tejido. De este sistema celular nos hemos enfocado en el estudio del papel que juega este nucleótido en la comunicación celular entre el ovocito, las células de la granulosa y las células de la teca. Los receptores que han sido involucrados hasta el momento en este sistema son los $P2Y_2$, sin embargo, no se puede descartar la participación de algún otro subtipo. También hemos demostrado que las células de la teca expresan de forma específica receptores del subtipo $P2X_7$, y de acuerdo con ensayos *in vitro*, el ATP es capaz de inducir apoptosis en dichas células. Al parecer, el ATP pudiera estar participando en la maduración del ovocito así como en la viabilidad folicular, un proceso que repercutiría en el reclutamiento de los folículos. Sin embargo, aún se requieren más estudios para establecer de manera detallada la importancia del ATP en la fisiología del ovario.[67-72]

CICLO CELULAR Y CÁNCER

Como ya se mencionó, el ATP es un transmisor que regula diversas respuestas celulares. Dicho nucleótido induce por una parte, la proliferación y la diferenciación celular, a través de los receptores $P2Y_1$ y $_2$ y $P2X_5$ y $P2Y_4$ y $_{11}$ respectivamente, y por otra parte, se ha reportado que la sobre estimulación del receptor $P2X_7$ está involucrada directamente con el fenómeno de apoptosis (Figura 4). Para el caso de la adenosina, se le ha relacionado con un efecto antiapoptótico, ya que en diversos tipos celulares, que han sido expuestos a diferentes factores de riesgo, la adenosina favorece su adaptación a los cambios en el ambiente y por lo tanto incrementa la sobrevivencia celular. Los receptores P1 involucrados en este tipo de respuestas son el A1, A2a y A3. Con base en estos datos, actualmente se ha sugerido que alteraciones funcionales en dichos receptores pudieran jugar un papel importante en el desarrollo del cáncer. Por lo anterior, ya se están realizando diferentes estudios que permitan confirmar esta hipótesis y al mismo tiempo, proponer alternativas para el tratamiento de esta importante enfermedad.[1,3,57,73, 74]

CONCLUSIONES

Desde los trabajos de Drury y Sent-Györgyi (1929) a la fecha es realmente notable el avance en el co-

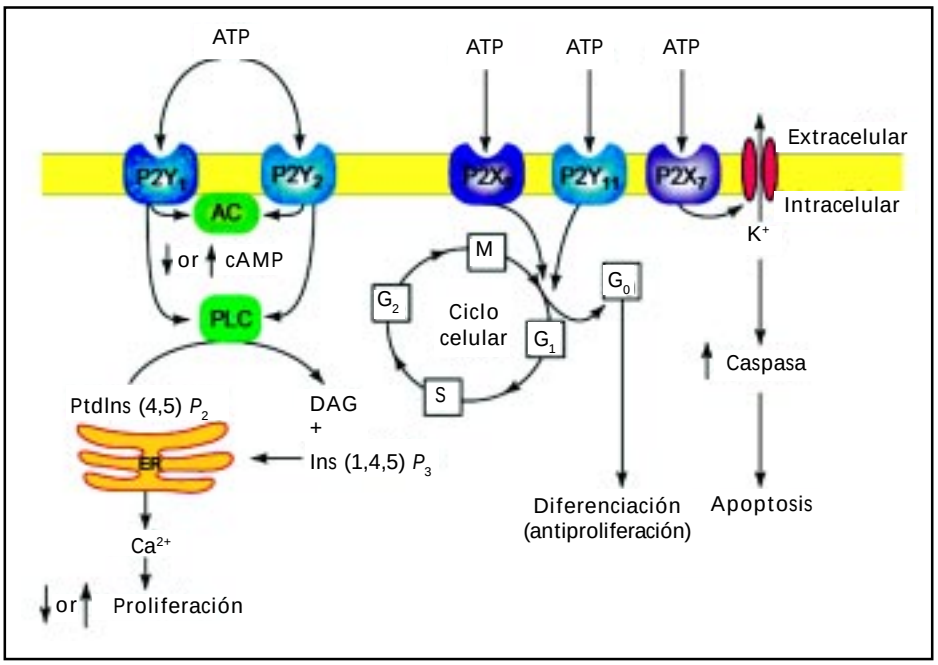

Figura 4. Mecanismos por los cuales los receptores P2 pudieran alterar las funciones de la célula e inducir cáncer. Los receptores $P2Y_1$ y $P2Y_2$ regulan el índice de proliferación celular a través de la activación de la adenilato ciclasa (AC) o alterando los niveles intracelulares de calcio, mediante la activación de la fosfolipasa C (PLC). La activación de los receptor $P2X_5$ y $P2Y_{11}$ inhiben la proliferación celular e inducen la diferenciación celular. El receptor $P2X_7$ activa a la caspasa, la cual está involucrada con la muerte celular programada. Abreviaturas: DAG: diacilglicerol; Ins(1,4,5)P3: Inositol (1,4,5)-trifosfato; PtdIns(4,5)P2: Fosfatidilinositol (4,5)-bifosfato. (Reproducida y modificada con autorización de Elsevier Inc de ref. 73).

nocimiento del llamado "sistema de señalización purinérgico". Sin embargo, su cabal entendimiento aún requerirá de futuras investigaciones. Es necesario entonces, profundizar en el conocimiento de cada uno de los elementos de dicho sistema de señalización, tratar de establecer si existe una relación directa entre una respuesta celular y un receptor en particular y seguir avanzando en el análisis molecular y funcional, tanto *in vitro* como *in vivo*, de los diferentes receptores tipo P, así como de las diferentes variantes generadas por cortes alternativos de intrones y empalme de exones. Todo lo anterior, permitirá en su momento, conocer las propiedades funcionales de cada elemento del "sistema de señalización purinérgico", analizar su importancia fisiológica y finalmente, diseñar fármacos específicos que pudieran ser utilizados como una alternativa clínica en el tratamiento de diferentes patologías.

REFERENCIAS

1. *Burnstock G. 2006. Historical review: ATP as a neurotransmitter. TRENDS in Pharmacol Scien. 27(3): 166-76.*
2. *North RA, Verkhratsky A. 2006. Purinergic transmission in the central nervous system. European J of Physiol. 452: 479-85.*
3. *Burnstock G. 2006. Purinergic signalling. British J of Pharmacol. 147, S172-S181.*
4. *Drury AN, Szent-Györgyi A. 1929. The physiological activity of adenine compounds with special reference to their action upon the mammalian heart. J of Physiol. 68: 213-237.*
5. *Holton P. 1959. The liberation of adenosine triphosphate on antidromic stimulation of sensory nerves. Journal of Physiol. 145: 494-504.*
6. *Burnstock G. 1972. Purinergic nerves. Pharmacol Rev. 24: 509-81.*
7. *Burnstock G. 1976. Do some nerve cells release more than one transmitter?. Neuroscience 1: 239-48.*
8. *Burnstock G. 2004. Cotransmission. Currents Opinion Pharmacol. 4: 47-52.*
9. *Burnstock G, Kennedy C. 1985. Is there a basis for distinguishing two types of P2-purinoceptor? Genetics Pharmacol. 16:433-440.*
10. *Abbracchio MP, Burnstock G. 1994. Purinoceptors: are there families of P2X and P2Y purinoceptors? Pharmacol. Therapy. 64: 445-75.*
11. *Webb TE, Simon J, Krishek BJ, Bateson AN, Smart TG, et al. 1993. Cloning and functional expression of a brain G-protein-coupled ATP receptor. FEBS Letters. 324: 21925.*
12. *Valera S, Hussy N, Evans RJ, Adami N, North RA et al. 1994. A new class of ligand-gated ion channel defined by P2X receptor for extracellular ATP. Nature. 371: 516-19.*
13. *Bodin P, Burnstock G. 2001. Purinergic signalling: ATP release. Neurochemical Research. 26 (8/9): 959-69.*
14. *Novak I. 2003. ATP as a signalling molecule: The exocrine focus. News Physiol Science. 18: 12-17.*
15. *Ahmad S, Ahmad A, Ghosh M, Leslie ChC, White CW. 2004. Extracellular ATP-mediated signaling for survival in hyperoxia-induces oxidative stress. The J of Biolog Chemistry. 279 (16): 16317-25.*
16. *Gualix J, Pintor J, Miras-Portugal MT. 1999. Characterization of nucleotide transport into rat brain synaptic vesicles. The J of Neurochemistry. 73: 1098-104.*
17. *Maroto R, Hamill OP 2001. Brefeldin A block of integrin-dependent mechanosensitive ATP release from* Xenopus *oocytes reveals a novel mechanism of mechanotransduction. The J of Biological Chemistry. 276(26): 23867-72.*
18. *Gatof D, Kilic G, Fitz G. 2004. Vesicular exocytosis contributes to volume-sensitive ATP release in biliary cell. Am J of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiol. 286: G538-G546.*
19. *Schwiebert EM. 1999. ABC transporter-facilitated ATP conductive transport. Am J of Psychology. 276(45): C1-C8.*
20. *Braunstein GM, Roman RM, Clancy JP, Kudlow BA, Taylor AL, et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator facilitated ATP release by stimulating a separate ATP release channel for autocrine control of cell volume regulation. The J of Biological chemistry. 276(9): 6621-30.*
21. *Bao L, Sachs F, Dahl G. 2004a. Connexins are mechanosensitive. Am J of Physiol. Cellular of Physiol. 287: C1389-C1395.*
22. *Bao L, Locovei S, Dahl G. 2004b. Pannexin membrane channels are mechanosensitive conduits for ATP. FEBS letters 572: 65-68.*
23. *Sabirov RZ, Dutta AK, Okada Y. 2001. Volume-dependent ATP-conductive large-conductance anion channel as a pathway for swelling-induce ATP release. The J of Genetics Physiol. 118: 251-66.*
24. *Schwierbert EM, Kishore BK. 2001. Extracellular nucleotide signaling along the renal epithelium. American J of Physiol. Renal Physiol. 280: F945-F963.*
25. *Hisadome K, Koyama T, Kimura C, Droogmans G, Ito Y, et al. 2002. Volume-regulation anion channels serve as an auto/paracrine nucleotide release pathway in aortic endothelial cells. The J of Genetics Physiol. 119: 511-520.*
26. *Darby M, Brent KJ, Panenka W, Feighan D, MacVicar BA. 2003. ATP release from astrocytes during swelling activates chloride channels. The J of Neurophysiol. 89: 1870-77.*
27. *Schwierbert EM, Zsembery A. 2003. Extracellular ATP as a signaling molecule for epithelial cell. Biochimica et Biophysica Acta. 165: 7-32.*
28. *Anderson ChM, Bergher JP, Swanson. 2004. ATP-induced ATP release from astrocytes. The J of Neurochemistry. 88: 246-56.*
29. *Pankratov Y, Lalo U, Verkhratsky A. North RA. 2006. Vesicular release of ATP at central synapses. European J of Physiology 452(5): 589–597.*
30. *Joseph SM, Buchakjian MR, Dubyak GR. 2003. Colocalization of ATP release sites and Ecto-ATPase activity at the extracellular surface of human astrocytes. The J of Biological Chemistry. 278(26): 23331-42.*
31. *Zimmermann H. 1994. Signalling via ATP in the nervous system. TINS 17, 420-26.*
32. *Zimmermann H. 1996. Extracellular purine metabolism. Drug Develop Research. 39: 337-52.*
33. *Torres M, Pintor J, Miras-Portugal MT. 1990. Presence of ectonucleotidases in cultured chromaffin cells: hydrolysis of extracellular adenine nucleotides. Archives of biochemistry and biophysics. 279: 37-44.*
34. *Rodríguez-Pascual F, Torres M, Miras-Portugal MT. 1992a. Studies on the turnover of ecto-nucleotidases and ecto-dinucleoside polyphosphate hydrolase in cultured chromaffin cells. Neuroscience research communicat. 11: 101-07.*
35. *Rodríguez-Pascual F, Torres M, Rotllán P, Miras-Portugal, MT 1992b. Extracellular hydrolysis of diadenosine polyphosphates, ApnA, by bovine chromaffin cells in culture. Archives of biochemistry and biophysics. 297: 176-83.*
36. *Ralevic V, Burnstock G. 1998. Receptors for purines and pyrimidines. Pharmacol Rev. 50(3): 413-92.*
37. *Jacobson KA, Gao ZG. 2006. Adenosine receptors as therapeutic targets. Nature Rev. 5: 247-64.*

38. Burnstock G. 2004. Introduction: P2 receptors. Current Topics in Medicinal Chemistry. 4: 793-803.
39. Constanzi S, Mamedova L, Gao Z, Jacobson KA. 2004. Architecture of P2Y nucleotide receptors: Structural comparison based on sequence analysis, mutagenesis and homology modeling. The Journal Medical Chemistry. 47: 5393-5404.
40. North RA. 2002. Molecular physiology of P2X receptors. Physiol Rev. 82: 1013-67.
41. Kucenas S, Li Z, Cox J A, Egan TM, Voigt MM. 2003. Molecular characterization of the zebrafish P2X receptor subunit gene family. Neuroscience. 121: 935-45.
42. Agboh KC, Webb TE, Evans RJ, Ennion SJ 2004. Functional characterization of a P2X receptor from Schistosoma mansoni. The J Biolog Chemistry. 279(40): 41650-7.
43. Chivasa S, Ndimba BK, Simon WJ, Lindsey K, Slabasc AR. 2005. Extracellular ATP Functions as an Endogenous External Metabolite Regulating Plant Cell Viability. The Plant Cell. 17: 3019-34.
44. Khakh BS, North RA. 2006. P2X receptors as cell-surface ATP sensors in health and disease. Nature Rev. 442: 527-32.
45. Hussl S, Boehm S. 2006. Functions of neuronal P2Y receptors. European J of Physiol. 452(5): 538-51.
46. Khakh BS. 2001. Molecular physiology P2X receptors and signaling at synapses. Nature Rev. 2: 165-74.
47. Fields RD, Burnstock G. 2006. Purinergic signalling in neuron–glia Interactions. Nature Rev Neuroscience. 7(6): 423-36.
48. Burnstock G. 2006. Pathophysiology and Therapeutic Potential of Purinergic Signaling. Pharmacological Reviews 58: 58-86.
49. Färber K, Kettenmann H. 2006. Purinergic signaling and microglia. European J of Physiol. 452(5): 615-21.
50. Franke H. Krügel U, Illes P. 2006. P2 receptors and neuronal injury. European J of Physiol. 452(5): 622-44.
51. Brändle U, Irrle C, Weeler-Schilling TH. 1998. Gene expression of the P2X receptors in the rat retina. Molecular brain research 59(2): 269-72.
52. Housley GD, Kanjhan R, Raybould NP, Greenwood D, Salih SG, et al. 1999. Expression of the P2X(2) receptor subunit of the ATP-gated ion channel in the cochlea: implications for sound transduction and auditory neurotransmission. The J of Neuroscience. 19(19): 8377-88.
53. Rong W, Gourine AV, Cockayne DA, Xiang Z, Ford AP, et al. 2003. Pivotal role of nucleotide P2X2 receptor subunit of the ATP-gated ion channel mediating ventilatory responses to hypoxia. The J of Neuroscience. 23(36): 11315-21.
54. Ma B, Ruan HZ, Cockayne DA, Ford AP, Burnstock G, et al. 2004. Identification of P2X receptors in cultured mouse and rat parasympathetic otic ganglion neurones including P2X knockout studies. Neuropharmacol. 46(7): 1039-48.
55. Spehr J, Spehr M, Hatt H, Wetzel CH. 2004. Subunit-specific P2X-receptor expression defines chemosensory properties of trigeminal neurons. European J of Neuroscience. 19(9): 2497-510.
56. Finger TE, Danilova V, Barrows J, Bartel DL, Vigers AJ, et al. 2005. ATP signaling is crucial for communication from taste buds to gustatory nerves. Science. 310(5753):1495-9.
57. May C, Weigl L, Karel A, Hohenegger M. 2006. Extracellular ATP activates ERK1/ERK2 via a metabotropic P2Y1 receptor in a Ca2+ independent manner in differentiated human skeletal muscle cells. Biochemical Pharmacol. 71(10): 1497-509.
58. Di Virgilio F, Chiozzi P, Ferrari D, Falzoni S, Sanz JM, et al. 2001. Nucleotide receptors: an emerging family of regulatory molecules in blood cells. Blood. 97(3): 587-600.
59. Duan S. Neary J. 2006. P2X7 Receptors: Properties and Relevance to CNS Function. Glia. 54: 738-46.
60. Inoue K. 2002. Microglial activation by purines and pyrimidines. Glia. 40: 156-63.
61. Gachet C, Léon C, Hechler B. 2006. The platelet P2 receptors in arterial thrombosis. Blood Cells Molecules and Diseases. 36: 223-27.
62. Lemoli RM, Ferrari D, Fogli M, Rossi L, Pizzirani C et al. 2004. Extracellular nucleotides are potent stimulators of human hematopoietic stem cells in vitro and in vivo. Blood. 104(6): 1662-70.
63. He ML, Gonzalez-Iglesias AE, Stojilkovic SS. 2003. Role of nucleotide P2 receptors in calcium signaling and prolactin release in pituitary lactotrophs. The J Biolog Chemistry. 278(47): 46270-7.
64. Rossato M, Merico M, Bettella A, Bordon P, Foresta C. 2001. Extracellular ATP stimulates estradiol secretion in rat Sertoli cells in vitro: modulation by external sodium. Molecular and Cellular Endocrinol. 178: 181-87.
65. Burton LD, Housley GD, Salih SG, Jarlebark L, Christie DL, et al. 2000. P2X2 receptor expression by interstitial cells of Cajal in vas deferens implicated in semen emission. Autonomic Neuroscience. 84(3): 147-61.
66. Buljubasich R, Ventura S. 2004. Adenosine 5'-triphosphate and noradrenaline are excitatory cotransmitters to the fibromuscular stroma of the guinea pig prostate gland. European J of Pharmacol. 499(3): 335-44.
67. Bardini M, Lee HY, Burnstock G. 2000. Distribution of P2X receptor subtypes in the rat female reproductive tract at late pro-oestrus/early oestrus. Cellular Tissue Research. 299(1): 105-13.
68. Arellano RO, Garay E, Miledi R. 1998. Cl^- currents activated via purinergic receptors in Xenopus follicles. The American J of Physiol. 274: C333-C340.
69. Arellano RO, Martinez-Torres A, Garay E. 2002. Ionic currents activated via purinergic receptors in the cumulus cell-enclosed mouse oocyte. Biol of Reproduction 67.3:837-46.
70. Morales-Tlalpan V, Arellano RO, Díaz-Muñoz M. 2005. Interplay between ryanodine and IP_3 receptors in ATP-stimulated mouse luteinized-granulosa cells. Cell Calcium 37: 203-13.
71. Saldaña C, Vázquez F, Garay E, Arellano RO. 2005. Epithelium and/or theca are required for ATP-elicited K^+ current in follicle-enclosed Xenopus oocytes. The J of Cellular Physiol 202: 814-21.
72. Vazquez-Cuevas FG, Juarez B, Garay E, Arellano RO. 2006. ATP-induced apoptotic cell death in porcine ovarian theca cells through P2X7 receptor activation. Molecular Reproduction Development. 73(6): 745-55.
73. White N, Burnstock G. 2006. P2 receptors and cancer. TRENDS in Pharmacolog Sciences. 27(4): 211-17.
74. Araya R, Riquelme MA, Brandan E, Sáez JC. 2004. The formation of skeletal muscle myotubes requires functional membrane receptors activated by extracellular ATP. Brain Research Rev. 47: 174-88.