

Edición patrocinada por:



**COLEGIO
OFICIAL DE
FARMACÉUTICOS DE
ZARAGOZA**

IMPORTANCIA DEL SISTEMA SEROTONINÉRGICO EN LA FISIOPATOLOGÍA INTESTINAL

Ana Isabel Alcalde Herrero

IMPORTANCIA DEL SISTEMA SEROTONINÉRGICO EN LA FISIOPATOLOGÍA INTESTINAL

POR LA ACADÉMICA DE NÚMERO ELECTA

ILMA. SRA. DRA. D.^a ANA ISABEL ALCALDE HERRERO

DISCURSO LEÍDO EN EL ACTO DE SU RECEPCIÓN ACADÉMICA
EL DÍA 22 DE MARZO DE 2011

DISCURSO DE CONTESTACIÓN DEL
ACADÉMICO DE NÚMERO

ILMO. SR. DR. D. JESÚS DE LA OSADA GARCÍA



ACADEMIA DE FARMACIA "REINO DE ARAGÓN"

Zaragoza
2011

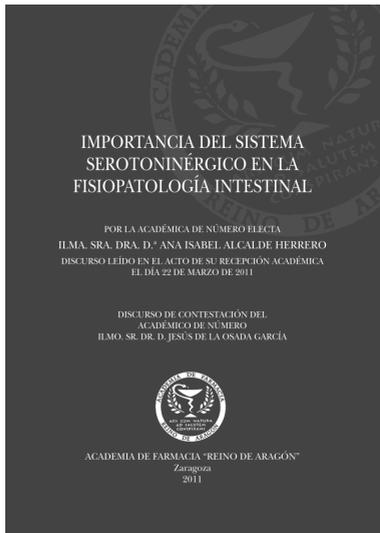
IMPORTANCIA DEL SISTEMA SEROTONINÉRGICO EN LA FISIOPATOLOGÍA INTESTINAL

POR LA ACADÉMICA DE NÚMERO ELECTA
ILMA. SRA. DRA. D.^a ANA ISABEL ALCALDE HERRERO
DISCURSO LEÍDO EN EL ACTO DE SU RECEPCIÓN ACADÉMICA
EL DÍA 22 DE MARZO DE 2011

DISCURSO DE CONTESTACIÓN DEL
ACADÉMICO DE NÚMERO
ILMO. SR. DR. D. JESÚS DE LA OSADA GARCÍA



ACADEMIA DE FARMACIA "REINO DE ARAGÓN"
Zaragoza
2011



Edita:

Colegio oficial de Farmacéuticos de Zaragoza

Distribuye:

Academia de Farmacia "Reino de Aragón"

Imprime:

Cometa, S.A.
Ctra. Castellón, Km. 3,400 — 50013 Zaragoza

Depósito Legal:

Z-499-11

Sumario

<i>Discurso de recepción Académica</i>	
Dra. D. ^a Ana Isabel Alcalde Herrero	7
1. INTRODUCCIÓN.....	15
2. EL SISTEMA SEROTONINÉRGICO INTESTINAL.....	19
2.1. La serotonina.....	23
Funciones centrales	27
Funciones periféricas.....	28
2.2. El transportador de serotonina (SERT).....	32
3. EL INTESTINO COMO ÓRGANO INMUNOLÓGICO.....	37
3.1. El sistema inmune innato intestinal: Receptores tipo Toll (TLRs) .	39
4. MODULACIÓN DE LA ACTIVIDAD Y EXPRESIÓN MOLECULAR DEL TRANSPORTADOR DE SEROTONINA MEDIADA POR LOS RECEPTORES TLR3, 4 Y 5.....	45
5. CONCLUSIONES.....	47
6. BIBLIOGRAFÍA	49
<i>Discurso de Contestación</i>	
Ilmo. Sr. Dr. D. Jesús de la Osada García	59

Discurso de recepción Académica

Dra. D.^a Ana Isabel Alcalde Herrero

Catedrática de Universidad de Fisiología
Facultad de Veterinaria
Universidad de Zaragoza
aalcalde@unizar.es

Excelentísimo Señor Presidente de la Academia de Farmacia “Reino de Aragón” y Rector Magnífico

Excelentísimos e ilustrísimos Señoras y Señores Académicos

Queridos familiares y amigos

Señoras y Señores:

Es para mí un grandísimo honor poder optar a ser recibida como Académica en esta ilustre Academia de Farmacia “Reino de Aragón”. Ello ha sido posible gracias a la labor y generosidad del Presidente, de los miembros fundadores de la Academia y de los académicos que la constituyen, a los cuales agradezco que hayan considerado que mi trayectoria académica era merecedora de esta distinción. Asimismo es mi deseo manifestar mi más profunda deferencia hacia esta institución joven, y mi sentimiento de respeto y proximidad hacia los miembros de la misma, con gran parte de los cuales mantengo una estrecha relación en la actividad universitaria. Particularmente deseo agradecer al profesor D. Jesús de la Osada haber aceptado realizar la contestación. Dado que la Academia de Farmacia “Reino de Aragón” debe ser un referente en la sociedad en los aspectos relacionados con el estudio, la investigación y la difusión de las ciencias farmacéuticas, deseo manifestar que supone para mí una enorme satisfacción personal formar parte de ella, al mismo tiempo que reconozco la gran responsabilidad que representa.

Antes de abordar el desarrollo del tema de exposición, quiero expresar mi profundo agradecimiento a aquellas personas e instituciones que, a lo largo de mi vida universitaria y académica, han hecho posible que me encuentre en esta tribuna delante de todos

ustedes. En primer lugar, y en relación a mis orígenes académicos en la Universidad de Navarra, deseo manifestar un especial recuerdo y agradecimiento a mis directores de Tesis de licenciatura y Doctoral, D. Jesús Larralde, por aquel entonces Decano de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Navarra y Catedrático de Fisiología de dicha Universidad, y Dña. Ana Ilundáin actualmente Catedrática de Fisiología en la Facultad de Farmacia de Sevilla. A D. Jesús le agradezco que me acogiera como alumna interna de Fisiología en tercero de carrera; con él aprendí el significado de la proximidad y el respeto, así como el entusiasmo por la Fisiología Animal. A Ana Ilundáin le agradezco su dedicación, que me permitió adquirir la formación científica, la actitud de sacrificio por el trabajo, el espíritu de lucha y el aliento en el ámbito científico. Todo ello me ha permitido, en gran medida, abordar con éxito el tema que he venido desarrollando durante toda mi vida universitaria “La fisiología intestinal”. De este periodo de trabajo predoctoral en el departamento de Fisiología y Nutrición de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Navarra guardo además el magnífico recuerdo de compañerismo y amistad con Yolanda Barcina y Matilde Toval, así como con el resto de becarios y doctorandos del grupo de Fisiología y Farmacología de Farmacia. Fueron esos unos tiempos de formación, expansión y socialización que marcaron profundamente el sentimiento de trabajo, disciplina, y sobretodo, amistad.

Finalizada mi etapa de formación doctoral y con el título de Doctora en Farmacia en la mano, continué mi actividad docente e investigadora incorporándome a la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, donde tras 26 años sigo realizando mi labor. Los principios fueron duros, y por ello debo agradecer a mis compañeros su generosidad y espíritu de lucha para llegar a ser quienes somos y ocupar el lugar que ocupamos en la Fisiología. Así, deseo manifestar mi enorme gratitud a mis compañeros de Fisiología de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza: A Divina Murillo por su generosidad y por abrirme las puertas hacia la Fisiología Veterinaria; A Pilar Arruebo, por su gran apoyo en los primeros momentos y su inestimable labor en todo momento, a M. Jesús Rodríguez, a M. Ángel Plaza por su serenidad y especialmente a José Emilio Mesonero por su importantísimo apoyo en todo. A los profesores más jóvenes: Laura y Marta. A todos mis be-

carios pasados, Herminia, Victor, Ruth, Nyurky, Carmen, y actuales Eva, y demás becarios y técnicos de Fisiología de Veterinaria, a todos gracias por crear el ambiente de trabajo propicio para avanzar con el rigor y sacrificio que la investigación en Fisiología exige y además humanizar nuestro trabajo día a día.

Otra etapa interesante y aleccionadora en mi vida científica fue la estancia post-doctoral que realicé a finales de los años 80 en el laboratorio de Recherche sur la Nutrition del Centre National de la Recherche Scientifique de Meudon (Paris) con el Dr Francisco Alvarado y la Dra Edith Brot-Laroche. Debo agradecer el cariño con el que me acogió el Dr Alvarado, la enorme amabilidad y comprensión de Brigitte Delhomme y la capacidad formativa y organizativa de la Dra Brot-Laroche. Con mi estancia en Meudon tuve la oportunidad de formarme en la tecnología más avanzada para el estudio de los transportadores intestinales de azúcares, y de convivir con personas de ámbitos científicos distintos, que me acogieron y brindaron su amistad. Quiero especialmente recordar a la Dra. Nieves Pérez de la Universidad de Salamanca y agradecerle su apoyo y amistad, y a la Dra. Cinta Bladé de la Universidad Rovira i Virgili, por compartir los días de laboratorio y de ocio en París.

Deseo manifestar también mi agradecimiento a las instituciones implicadas en el proceso de mi formación pre y post doctoral y en el desarrollo de la labor científica que en la actualidad llevo a cabo. En este aspecto, deseo mencionar el Ministerio de Sanidad, el Ministerio de Educación y Ciencia, y el Ministerio de Ciencia e Innovación, así como a las Universidades de Navarra y de Zaragoza, por su apoyo en el desarrollo de mi actividad docente e investigadora.

Quede pues manifiesto mi agradecimiento a cuantos han estado y a los que siguen estando, codo con codo, trabajando y colaborando, y que de este modo han contribuido a que todo sea siempre mejor.

La última mención deseo dedicársela a mi familia. A mi padre, ya fallecido, a mi madre y hermanos, que siempre generosamente han apoyado mis decisiones, y con su esfuerzo, dedicación y comprensión han hecho posible que sea quien, personal y profesionalmente, soy. Asimismo, y muy especialmente agradezco a mi marido Pedro y

a mis dos hijas Beatriz y Mónica la complicidad que han mostrado conmigo, la fe que han vertido en mis proyectos y la generosa comprensión y valoración del esfuerzo, que hacen que cada día tenga más sentido. A todos gracias en pasado, presente y futuro.

La actividad que llevo realizando desde que finalicé mis estudios de Licenciatura en Farmacia ha ido encaminada a desarrollar labores docente e investigadoras en el ámbito de la Fisiología. Mi formación investigadora, además, se ha especializado desde la realización de la Tesis doctoral, en abordar los diferentes aspectos de la fisiología intestinal, y más concretamente en el estudio del transporte intestinal y de las proteínas transportadoras de membrana. Las disertaciones presentadas por los dos últimos académicos nombrados por esta Academia: Los Dres Roncalés y De la Osada, nos situaron en el ámbito científico de la conservación de los alimentos, y de las propiedades del aceite de oliva virgen para la prevención de la aterosclerosis, respectivamente. Bien está por tanto, que dando un paso más en la ciencia, nos situemos en la fisiología intestinal, que es donde realmente incide el aprovechamiento nutritivo tanto de los alimentos bien conservados, como del aceite de oliva virgen.

El ámbito de la fisiopatología intestinal es muy extenso, por ello desarrollaré en esta disertación un aspecto algo menos conocido dentro del mismo, en el cual llevo trabajando los últimos 10 años y que hace referencia al papel de la serotonina y del sistema serotoninérgico en la fisiopatología intestinal. Por ello he titulado mi tema de disertación:

IMPORTANCIA DEL SISTEMA SEROTONINÉRGICO EN LA FISIOPATOLOGÍA INTESTINAL

Importancia del sistema
serotoninérgico en la
fisiopatología intestinal

1. INTRODUCCIÓN

El intestino delgado es un órgano complejo cuya estructura se encuentra formada por diferentes tipos de tejidos. Así, si se realiza un corte transversal del intestino observamos desde la parte externa hacia la luz intestinal la capa serosa, el tejido muscular liso longitudinal y liso circular, la submucosa y la mucosa. La mucosa presenta un epitelio muy desarrollado y constituido por diferentes tipos celulares como son, células caliciformes productoras de moco, células de Paneth, células endocrinas y los enterocitos, éstos últimos son los más abundantes y desarrollan un papel importante en la fisiología intestinal, como más adelante se detallará (Figura 1).

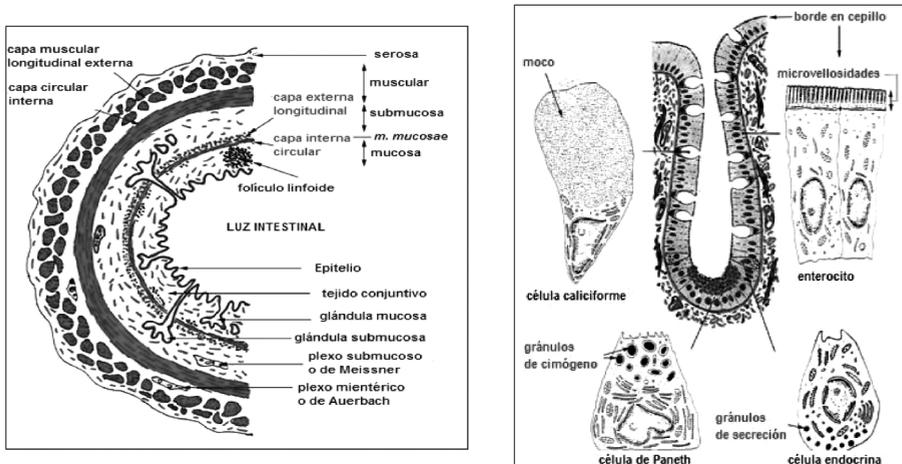


Figura 1. Estructura del intestino delgado y descripción de las células que conforman el epitelio intestinal.

Esta compleja estructura tisular le permite al intestino delgado desarrollar funciones diversas entre las cuales cabe mencionar:

- La actividad digestiva, que consiste en finalizar la digestión iniciada por los enzimas pancreáticos en la luz duodenal, que se produce en los enterocitos del epitelio intestinal que desarrollan actividad hidrolítica en su membrana apical.
- La actividad motora, que presenta unos patrones diferentes en periodo digestivo e interdigestivo. Compromete al tejido muscular liso circular y longitudinal y realiza acción de mezclado y de propulsión.
- La absorción de nutrientes, que consiste en el paso de nutrientes desde la luz intestinal hacia la sangre y la linfa, y que se realiza fundamentalmente en los enterocitos del epitelio intestinal. En ellos se genera un paso selectivo de las moléculas liberadas en la actividad digestiva, tales como monosacáridos, aminoácidos, etc. Para llevar a cabo esta actividad se requiere la expresión de proteínas transportadoras en los bordes membranosos de los enterocitos.
- La secreción de agua y electrolitos, que viene determinada por el paso de agua e iones desde el compartimento sanguíneo e interno hacia la luz intestinal. Es éste un proceso que se realiza en los enterocitos del epitelio intestinal, especialmente en los situados en las criptas intestinales, y está mediado por proteínas transportadoras o canales ubicados en las membranas enterocitarias.

La puesta en marcha de las funciones intestinales antes detalladas conduce a un tratamiento y aprovechamiento óptimo del alimento ingerido que llega al intestino parcialmente procesado desde el estómago. Asimismo la función intestinal, tal como ha quedado indicado anteriormente, exige la actividad de los distintos tejidos que componen el intestino, que para actuar eficazmente, debe ser coordinada puntualmente.

Especialmente interesante es por ello la existencia de dos sistemas de regulación específicos del tracto gastrointestinal: El sistema

nervioso entérico y el sistema endocrino gastrointestinal. El sistema nervioso entérico está constituido por dos plexos nerviosos específicos, el plexo mientérico ubicado entre las capas musculares longitudinal y circular, y el plexo submucoso localizado entre el músculo circular y la submucosa intestinal. El sistema endocrino intestinal, por otro lado, lo constituyen células endocrinas específicas del tracto digestivo ubicadas en el epitelio de la mucosa intestinal y situadas de un modo disperso en la misma. Precisamente son los sistemas endocrino y nervioso entéricos los que ejercen la coordinación de la actividad intestinal mediante la regulación adecuada a cada situación.

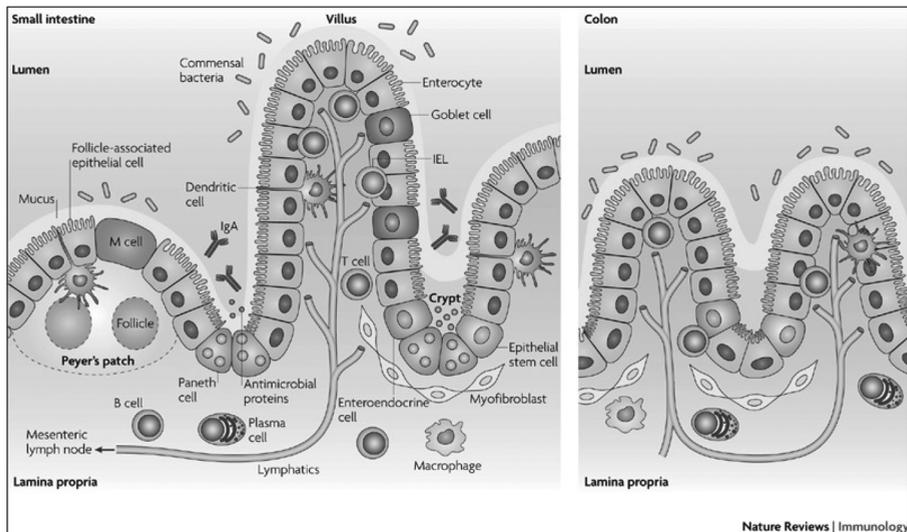


Figura 2. El sistema inmune intestinal. [1].

Otro aspecto muy significativo dentro de la fisiología intestinal es la actividad inmunológica compleja que desarrolla el intestino. Esta característica hace que este órgano constituya la estructura más extensa con actividad inmunológica dentro del organismo. El intestino está en continuo contacto por un lado, con componentes que llegan a la luz intestinal por el tracto digestivo formando parte de la ingesta y, por otro lado, con microorganismos comensales que coexisten en contacto con la mucosa intestinal. Todos estos factores pueden generar una respuesta del sistema inmune, provocando que el intestino se mantenga en situación de alerta tratando de mantener

una condición de equilibrio en condiciones fisiológicas, para lo cual pone en marcha mecanismos de distinta naturaleza con implicación inmunológica (Figura 2). Este aspecto será desarrollado más adelante dentro de la presente disertación.

2. EL SISTEMA SEROTONINÉRGICO INTESTINAL

Una vez detalladas la estructura y la función del intestino pasemos a desarrollar otro punto importante de la presente conferencia, el sistema serotoninérgico, y especialmente su desarrollo en el intestino.

La fisiología intestinal, en lo que se refiere al transporte de nutrientes, finalización de la digestión, secreción de agua y electrolitos y parte de la respuesta inmune, se ubica en el epitelio intestinal. Especialmente interesante es el hecho de que el epitelio intestinal actúa como sensor que transfiere la información desde la luz intestinal a la submucosa y al sistema nervioso entérico, para lo cual libera moléculas de naturaleza neuromoduladora entre las cuales se encuentra la serotonina o 5-hidroxitriptamina.

La serotonina es una indolamina producto de la hidroxilación y posterior descarboxilación del aminoácido L-triptófano, que actúa como neuromodulador general del organismo. De la totalidad de la 5-HT sintetizada en el organismo, el 95% se produce en el tracto gastrointestinal, en concreto en las células enterocromafines distribuidas a lo largo del epitelio intestinal, y el 5% restante es sintetizado en neuronas serotoninérgicas, la mayor parte de las cuales se encuentran en el sistema nervioso central y, en menor medida, en el sistema nervioso entérico.

Son muy numerosos los estudios que se han realizado acerca del papel de la serotonina en la fisiología del organismo; sin embargo una gran parte de estos trabajos se han centrado en el papel de la serotonina en el sistema nervioso central, y en ellos se muestra la

participación de la misma en funciones de tipo neuroendocrino, cognitivo y afectivo, y la implicación del sistema serotoninérgico en las patologías de la conducta como la depresión, agresividad, conducta bipolar, etc.

Sin embargo, el hecho de que la mayor parte de la serotonina sea sintetizada en el tracto intestinal, y además, los resultados obtenidos en recientes estudios que han permitido caracterizar el sistema serotoninérgico en este tracto, han generado un interés cada vez más creciente en el estudio del papel de la actividad serotoninérgica en la fisiología gastrointestinal.

Precisamente y en relación con el papel de la serotonina en la actividad intestinal, resultados obtenidos en nuestro laboratorio y por otros autores han demostrado que dicha molécula regula la absorción de nutrientes [5, 93], la actividad motora [85, 95] y la secreción de agua y electrolitos [49] en el tracto intestinal. Asimismo, la serotonina ha sido descrita como un importante transductor de la información luminal intestinal, de tal modo que los estímulos de la luz intestinal provocan su liberación desde las células enterocromafines, lo cual a su vez genera respuestas motoras, secretoras, y reflejos vasodilatadores vasculares [73]. La actividad de la serotonina requiere el despliegue de un complejo sistema serotoninérgico. En el intestino este sistema presenta diferentes componentes que a continuación pasamos a detallar (véase Figura 3):

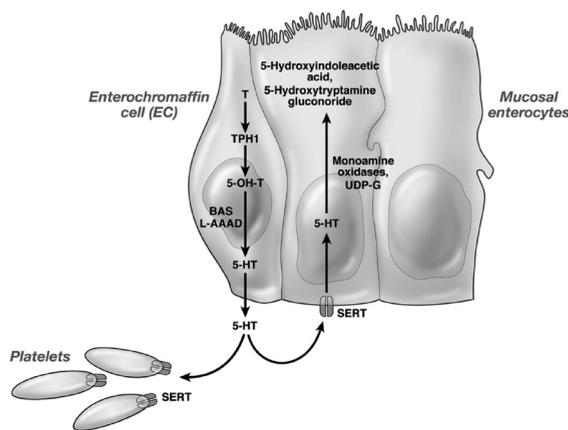


Figura 3. Sistema serotoninérgico intestinal.

En primer lugar consideraremos las células enterocromafines del epitelio intestinal, encargadas de la síntesis y liberación de serotonina ante estímulos luminales. La liberación de serotonina se realiza tanto por el borde apical de estas células hacia la luz intestinal, como por su borde basal hacia el compartimento intersticial. Este sistema de síntesis y liberación constituye el denominado mecanismo “ON” del sistema serotoninérgico.

En segundo lugar hay que mencionar a los enterocitos del epitelio intestinal, que son los encargados de la recaptación e internalización de serotonina al interior celular. Para ello estas células expresan el transportador de serotonina (SERT) tanto en la membrana apical como en la basolateral [15, 69]. Este transportador intestinal es molecular y funcionalmente idéntico al que se expresa en el sistema nervioso central [54] y constituye el denominado mecanismo “OFF” del sistema serotoninérgico.

Por último mencionaremos la familia de receptores de serotonina constituida por 14 tipos diferentes incluidos en 7 familias y que desencadenan los efectos intracelulares de la serotonina (Figura 4). Estos receptores se encuentran ampliamente distribuidos en el organismo, y especialmente en el tracto gastrointestinal [3, 55, 97]. El efecto final de la serotonina varía según el tipo de receptor al que se une, y fundamentalmente depende de la disponibilidad de

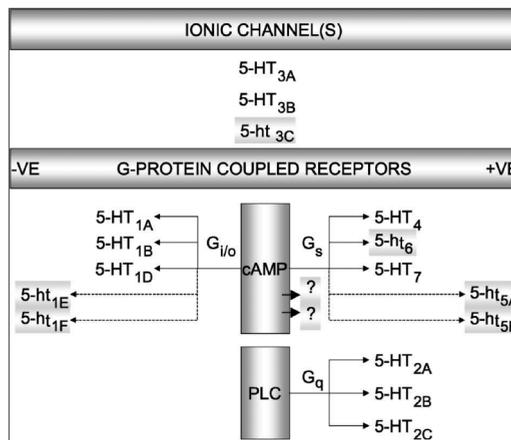


Figura 4. Tipos de receptores de 5-HT. [52].

serotonina, que en definitiva viene determinada por la actividad de los mecanismos “ON” (síntesis y liberación) y “OFF” (recaptación a través del transportador).

Una vez descritos los componentes esenciales del sistema serotoninérgico intestinal es importante señalar que existe, entre otras, una importante diferencia entre el sistema serotoninérgico del tracto intestinal y el sistema serotoninérgico del SNC. En el SNC los sistemas “ON” (síntesis y liberación de 5-HT) y “OFF” (recaptación de 5-HT por SERT) se encuentran ubicados en la misma estructura celular, la neurona presináptica, mientras que en el intestino delgado ambos sistemas (“ON” y “OFF”) están localizados en células diferentes (células enterocromafines y enterocitos respectivamente) (Figura 5).

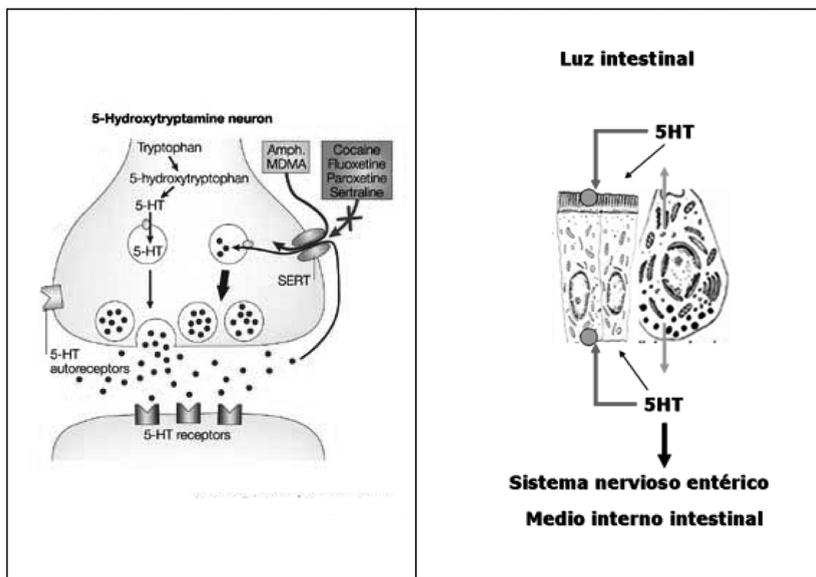


Figura 5. Estructura del sistema ON y OFF del serotoninérgico en el SNC y en el tracto intestinal.

El hecho de que los sistemas “ON” y “OFF” del sistema serotoninérgico se encuentren en células separadas en el tracto intestinal, hace del intestino un interesante modelo para el estudio y caracterización de los distintos componentes del sistema serotoninérgico. De hecho, resultados obtenidos en nuestro laboratorio y por otros

autores [54, 69] han demostrado que los enterocitos, que expresan el transportador de serotonina, constituyen un modelo excelente para el estudio del mismo. Debemos indicar al respecto, que el transportador de serotonina es una de las dianas farmacológicas más empleadas en las patologías que llevan asociadas alteraciones del sistema serotoninérgico, de ahí la gran trascendencia de esta posibilidad.

2.1. La serotonina

El sistema serotoninérgico que acabamos de describir, se ha generado entorno a una molécula moduladora, la serotonina, a la cual le vamos dedicar unos minutos para describir sus características.

La serotonina es una amina aromática, perteneciente a la familia de las indolaminas compuesta de un anillo indol hidroxilado en la posición 5, y una cadena lateral etilamínica (Figura 6). La amida nitrogenada primaria actúa como aceptor de un protón a pH fisiológico, lo que hace que esta sustancia sea hidrofílica y como tal, no pueda atravesar la barrera hematoencefálica.

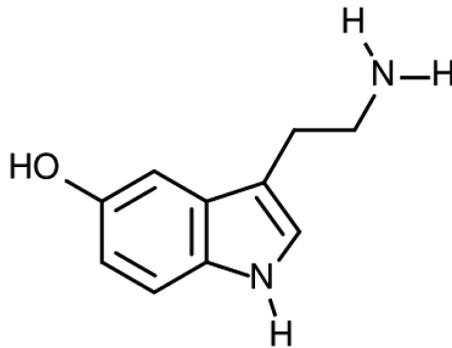


Figura 6. Estructura química de la serotonina.

A principios del siglo XX, se creía que la única fuente de esta sustancia en los mamíferos eran las plaquetas. En 1930 el Dr. Vittorio Erspamer, buscando sustancias capaces de causar la contracción del músculo liso, identificó en la mucosa gástrica de conejo una sustan-

cia que la denominó *enteramina*. En 1948, el laboratorio de Dr. Irving Page, aisló una sustancia vasoconstrictora en el suero y la llamó *serotonina*. La estructura de la serotonina fue identificada en 1949, como 5-hidroxitriptamina y en 1952 se confirmó que la enteramina y la serotonina eran la misma sustancia [27].

Los avances obtenidos hasta los años 1960 fueron realizados empleando métodos bioquímicos y fue en 1962 cuando Hillarp y su equipo de trabajo, valiéndose de la técnica de visualización microscópica fluorescente, hicieron posible por primera vez la localización anatómica exacta de este neuromodulador.

Actualmente se conoce que esta amina está presente en el organismo de animales y vegetales y recibe el nombre, como se mencionó anteriormente, de serotonina o 5-hidroxitriptamina.

Su síntesis ocurre a partir del triptófano, aminoácido esencial proveniente de alimentos como el maíz, el plátano, las leguminosas, las carnes, la leche y sus derivados. El 2% del triptófano presente en la dieta es utilizado para la síntesis de serotonina. El triptófano una vez absorbido por el tracto gastrointestinal, es distribuido a todos los tejidos del organismo, y su paso por las distintas membranas, incluyendo la barrera hematoencefálica, se realiza por competencia de transporte con los aminoácidos neutros tirosina, fenilalanina, leucina, isoleucina y valina [76].

La concentración final de triptófano en el sistema nervioso central depende de un estricto balance dietético, generándose un ritmo circadiano propio, el cual también se encuentra bajo la influencia del ciclo de luz-oscuridad, producto de la actividad de la glándula pineal, la cuál es responsable de la N-metilación de la 5-HT para producir melatonina [61, 70].

Se conoce que la serotonina de los mamíferos se sintetiza básicamente en dos zonas: a nivel central en los núcleos localizados en el tallo cerebral, y a nivel periférico en el sistema gastrointestinal [36, 70].

A nivel central, [23] se identificaron 9 grupos de neuronas que contenían serotonina, y que han sido clasificadas desde el B₁ hasta B₉. Estos grupos celulares están localizados en el núcleo del rafe, con

la excepción del B₉ que parte del tegmento ventrolateral del puente y del cerebro medio (Figura 7).

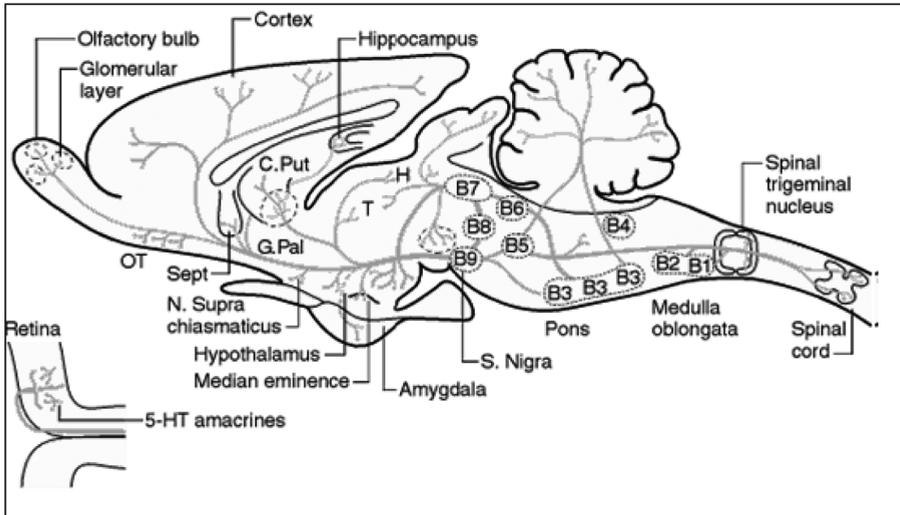


Figura 7. Representación de un corte sagital de cerebro de ratona mostrando la localización de los núcleos serotoninérgicos B₁-B₉ según la clasificación de Dahlström y Fuxe (1964), así como de las principales proyecciones de los mismos [32].

Actualmente, y gracias a los métodos inmunohistoquímicos se han identificado células serotoninérgicas fuera de los grupos B₁ a B₉ [105]. A pesar de la gran complejidad y la variedad de funciones conocidas que regula la serotonina a nivel central, la mayor síntesis de esta sustancia ocurre a nivel periférico, específicamente en el sistema gastrointestinal, el cual es encargado de producir el 95% de la serotonina total del organismo. Las células enterocromafines o células de Kulchitsky son las responsables de la mayor síntesis, almacenamiento y secreción de esta sustancia en el sistema gastrointestinal, mientras que, aproximadamente un 5% es realizado por las neuronas serotoninérgicas del sistema nervioso entérico [70], tal como se ha mencionado con anterioridad.

Las células enterocromafines son abundantes en la mucosa del duodeno humano, y representan una población especializada y compleja de células epiteliales intestinales. A diferencia de las fibras nerviosas,

estas células están en contacto con la luz intestinal por lo que actúan como transductores de señales sensoriales físicas y químicas [29].

De acuerdo con lo reportado por Racké y colaboradores (1996) [88], las células enterocromafines secretan serotonina en respuesta a estímulos mecánicos y químicos, como son el incremento de la presión intraluminal por la presencia del contenido de nutrientes, y los cambios en la osmolaridad y acidez luminal. Este proceso es controlado por complejos mecanismos mediados por receptores, los cuales pueden ser estimulantes como los β -adrenérgicos, muscarínicos, nicotínicos y el 5-HT₃, o inhibidores como los α_2 -adrenérgicos, el gamma-aminobutírico, histaminérgicos H₃, receptores del VIP, de la somatostatina y el 5-HT₄.

Las células enterocromafines acumulan serotonina almacenándola en gránulos densos en la porción basal de las células; sin embargo, una pequeña parte se encuentra en forma libre en el citosol cerca del borde luminal. Este patrón de distribución indica que se puede liberar tanto hacia el intersticio celular como hacía la luz intestinal [63, 88].

En el tracto intestinal la serotonina sintetizada por las células enterocromafines actúa como una molécula de señalización paracrina, que inicia reflejos peristálticos y secretorios, y modula la absorción intestinal de nutrientes; mientras que la sintetizada por las neuronas serotoninérgicas actúa como un neurotransmisor entérico que permite la participación de la serotonina en la propagación de estos reflejos [24, 70].

No todas las células que contienen serotonina la sintetizan. Tal es el caso de las plaquetas, las cuales acumulan el 8% del total, captándola del plasma a través del transportador de serotonina (SERT), proceso en el cual el calcio intracelular parece jugar un papel regulador.

La serotonina se secreta en respuesta a diferentes estímulos, y tras su liberación puede activar una gran variedad de receptores específicos que provocan la respuesta biológica. Dicha respuesta finaliza cuando esta monoamina es recaptada por el transportador específico de serotonina para posteriormente ser metabolizada [38].

La metabolización de la serotonina ocurre a nivel intracelular, principalmente por la actividad de la enzima monoamino oxidasa (MAO) que produce una desaminación oxidativa, dando lugar a la formación de un producto intermediario, el 5-hidroxi-indolacetaldehído, el cual posteriormente es oxidado por un aldehído deshidrogenasa para formar el ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA). Cuando este sistema se satura, el producto intermedio se reduce en el hígado, produciendo 5-hidroxitriptofol. Asimismo, en el sistema digestivo la serotonina también puede ser catabolizada por la glucoronil transferasa y otras enzimas intracelulares, al igual que la MAO y la aldehído-deshidrogenasa [35, 41].

La serotonina libre una vez que se une a sus receptores participa en una gran variedad de funciones y estados patológicos, gracias a su amplia distribución en el organismo. Sus efectos fisiológicos los podemos dividir en: funciones centrales y funciones periféricas, que a continuación pasamos a detallar.

Funciones Centrales

En el sistema nervioso central la serotonina influye sobre casi todas las funciones cerebrales, porque como se mencionó anteriormente, las neuronas serotoninérgicas forman una compleja red neurohistológica responsable del procesamiento de toda la información que llega y es emitida por el sistema nervioso central. En líneas generales, en la mayoría de las áreas del sistema nervioso central, la serotonina tiene una acción inhibitoria fuerte, inhibiendo directamente o por estimulación del GABA. Sin embargo, también hay una serie de situaciones en las que la serotonina, en lugar de inhibir, excita.

Debido a sus eferencias ascendentes la serotonina regula procesos tan importantes como los ciclos sueño-vigilia, las funciones neuroendocrinas, el apetito y la saciedad, la manifestación de náusea, la actividad sexual, el ritmo circadiano, la temperatura corporal, la memoria y aprendizaje, la ansiedad, las emociones, los estados depresivos y de agresividad, y además contribuye a coordinar la síntesis de hormonas, como la melatonina y la hormona del crecimiento [45, 58]. En las eferencias descendentes hacia las astas dorsales de

la médula espinal, la serotonina está involucrada en la percepción del dolor, vasoconstricción del músculo liso, agregación plaquetaria, peristaltismo intestinal, contracción urinaria y broncoconstricción [66, 92].

Aparte de la implicación del sistema serotoninérgico en la depresión y esquizofrenia, se conoce la participación de la serotonina en otras enfermedades psiquiátricas como el pánico y la ansiedad, el trastorno obsesivo-compulsivo, la anorexia y la bulimia [19]. Por otra parte, parece que también está relacionada con la sintomatología de algunas enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson [17], el Alzheimer [100], o el Corea de Huntington [22] y parece estar implicada en algunos trastornos neurológicos como la migraña [53, 62].

Funciones periféricas

A nivel periférico participa en procesos fisiológicos entre los que se incluyen: hemostasia, regulación del sistema cardiovascular, control de la motilidad, secreción y absorción epitelial intestinal [66].

La serotonina en el sistema cardiovascular causa la contracción del músculo liso vascular, por lo que es un potente vasoconstrictor, con la excepción de los vasos sanguíneos del corazón y del músculo estriado esquelético, en donde en condiciones normales produce vasodilatación y en condiciones patológicas la respuesta es una vasoconstricción. Asimismo, estimula la agregación plaquetaria por lo que contribuye en el proceso de la hemostasia [31].

Adicionalmente, el efecto de la serotonina en el sistema cardiovascular es muy complejo, pudiendo producir bradicardia o taquicardia, hipotensión o hipertensión, y vasodilatación o vasoconstricción, dependiendo de su unión a 4 diferentes tipos de receptores.

Dado que el sistema gastrointestinal es el objeto de interés en la presente disertación, realizaré una descripción más detallada de las funciones de la 5-HT en este sistema.

Como se mencionó anteriormente en el tracto gastrointestinal (GI) se sintetiza más del 95% de la 5-HT total del organismo. Esta

amina una vez sintetizada se puede almacenar o secretar en respuesta a varios estímulos fisiológicos o patológicos.

Dentro de los estímulos fisiológicos se encuentran los mecánicos, producto de la distensión de la pared intestinal cuando ingresa el bolo alimenticio, y los químicos dados por los cambios de pH y osmolaridad como consecuencia de la presencia de carbohidratos, por ejemplo la glucosa, en la luz intestinal [98].

Por otro lado, los estímulos desestabilizadores pueden ser agudos y crónicos. Los agudos son producto de la presencia de enterotoxinas bacterianas (toxinas del *Vibrio Cholera*, *Escherichia coli* y *Salmonella*), estrés agudo con liberación de hormonas, como la hormona liberadora de la corticotropina, y péptidos relacionados con la hormona liberadora de la corticotropina [106] y alergias alimenticias ([33]. En condiciones crónicas las células enterocromafines pueden ser estimuladas en enfermedades como la diabetes *mellitus*, trastornos alimenticios, tumores neuroendocrinos, en pacientes colectomizados, y por el efecto de algunos fármacos [48].

La secreción de serotonina ocurre tanto en dirección a las porciones más internas de la pared del tracto intestinal (la lámina propia), como hacia la luz intestinal [48]. Si la secreción de serotonina es en dirección a la lámina propia, se puede unir a receptores en los axones de las neuronas aferentes primarias intrínsecas submucosales que inervan el epitelio secretorio y son las encargadas de iniciar los reflejos secretorios y peristálticos, y/o puede unirse a sus receptores en las neuronas aferentes primarias intrínsecas mientéricas y participar en la regulación de la peristalsis a través del inicio de las contracciones migratorias [10, 39, 48]. Además, también se ha demostrado que la serotonina regula la actividad de las células intersticiales de Cajal, con la correspondiente regulación de la actividad eléctrica del músculo liso [109].

Por otra parte, las neuronas aferentes extrínsecas son activadas directamente por la serotonina liberada de las células enterocromafines e indirectamente por las neuronas aferentes primarias intrínsecas, llevando la información del tracto intestinal al sistema nervioso central a través del nervio vago. Esta información está relacionada con la sensibilidad luminal a la glucosa a través de una vía similar

a la de los lípidos y posiblemente de los aminoácidos. Igualmente media la inhibición del vaciamiento gástrico y las respuestas motoras duodenales, por lo que se relaciona con la náusea y el vómito, así como también con la conducción de señales que conllevan a las percepciones de incomodidad y dolor en el tracto gastrointestinal, proceso llevado a cabo por vía aferente espinal [20, 46]. Este último proceso está poco definido, aunque puede ser ésta la vía que utilizan algunos fármacos ligados a la serotonina para disminuir los síntomas de patologías como el síndrome del colon irritable.

En el tracto intestinal la administración exógena de serotonina además de regular la motilidad, produce un potente efecto secretagogo de electrolitos y fluidos en todo el intestino de todas las especies estudiadas, incluyendo a la humana. La respuesta electrolítica a nivel del yeyuno e íleon es generalmente un incremento en la secreción de Cl^- y una disminución en la absorción de Na^+ . En colon, su efecto es principalmente secreción de Cl^- [48] y en este sentido, existen evidencias que indican que inhibe la actividad del intercambiador Na^+/H^+ y Cl^-/OH^- [44, 91].

Además, en el intestino se ha visto que la serotonina regula la proliferación de las células epiteliales y, tal como hemos podido demostrar en nuestro laboratorio, inhibe la absorción intestinal de monosacáridos y aminoácidos [5, 94].

La aplicación de serotonina exógena en el tracto gastrointestinal provoca respuestas fisiológicas relevantes por la presencia de varios subtipos de receptores, en diversas clases de neuronas mientéricas, células musculares lisas y células epiteliales [24, 55].

Los subtipos de receptores de serotonina 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, y 5-HT₇ son conocidos por afectar la función motora intestinal. El receptor 5-HT_{1A} está expresado en neuronas de los plexos mientérico, submucoso y células enterocromafines [60]. Produce una rápida disminución de la amplitud de los potenciales postsinápticos excitatorios [10]. Por otro lado, para los 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D} y 5-HT_{2A} se ha demostrado que estimulan o inhiben la contracción del músculo liso dependiendo de la porción del tubo digestivo y de la especie en referencia [10, 13, 97].

Los receptores 5-HT_{2B}, [28], regulan el sistema nervioso entérico. Sin embargo, este tipo de receptor puede cumplir con otras funciones en humanos como es la de mediar la contracción del músculo liso longitudinal. Asimismo, los receptores 5-HT₂ parecen estar involucrados en la regulación de la absorción intestinal de nutrientes [93].

Los receptores 5-HT₃ y 5-HT₄, al ser estimulados tanto central como periféricamente, promueven el vómito, el vaciamiento gástrico, secreción de electrolitos, secreción de serotonina en células enterocromafines, contracción y/o relajación de la musculatura lisa y modulan la absorción de aminoácidos a nivel intestinal [47, 81, 94].

Con respecto al receptor 5-HT₇, su activación produce relajación en íleon y colon [86] y también se ha postulado que su sobrestimulación puede llevar a la acomodación exagerada del músculo liso circular del colon con aumento del volumen, síntoma común en muchos trastornos funcionales intestinales [101].

Resultados recientes, obtenidos en nuestro laboratorio han mostrado que tanto 5-HT_{1A} como 5-HT₇ se expresan en células epiteliales intestinales y modulan la actividad del transportador de serotonina [55].

Además de los efectos fisiológicos de la serotonina, numerosos trabajos de investigación indican que la alteración del sistema serotoninérgico juega un papel importante en el desarrollo de trastornos funcionales del tracto gastrointestinal [10, 18] y en procesos inflamatorios [9, 104, 110]. Tal es el caso del síndrome carcinoide (enfermedad producto de la tumoración de las células enterocromafines), que cursa con incremento en la liberación de 5-HT, contribuyendo a la diarrea grave y al dolor abdominal relacionado con la enfermedad.

También es bien conocida la relación que existe entre la alteración del sistema serotoninérgico intestinal y la disfunción gastrointestinal en patologías como el síndrome del colon irritable (Irritable Bowel Syndrome, IBS) y la enfermedad intestinal inflamatoria crónica (Inflammatory Bowel Diseases, IBD) y [10]. Resultados recientes [110] sugieren que el síndrome del colon irritable con predominancia de diarrea, cursa con aumento en la concentración de serotonina, posiblemente por alteración en la funcionalidad del transportador de serotonina.

Por otro lado, numerosas evidencias indican que la serotonina juega un papel clave en la inflamación intestinal crónica de pacientes con enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o con historial de diverticulitis. Así se han asociado estos procesos con un incremento en el número de células enterocromafines [11, 18] y la disminución en la transcripción del gen del transportador de serotonina [18, 21], provocando ambas alteraciones un aumento en la disponibilidad de 5-HT.

La disponibilidad de serotonina es clave en la regulación de la respuesta serotoninérgica en cualquier órgano. Esta respuesta culmina cuando la 5-HT es extraída del espacio intersticial gracias a su recaptación por el transportador selectivo expresado en neuronas, enterocitos o en las plaquetas [20].

Precisamente el papel fundamental que juega el transportador de serotonina en la actividad serotoninérgica ha provocado que sea una molécula muy estudiada tanto en su caracterización molecular como en su regulación. Gran parte de estos estudios han ido encaminados a mejorar el rendimiento de su uso como diana farmacológica en patologías en las que se encuentra implicado el sistema serotoninérgico, por lo que haremos una breve mención especial a dicho transportador.

2.2. El transportador de serotonina (SERT)

Molecularmente el transportador de serotonina es una proteína integral de membrana con doce dominios transmembrana cuyos grupos amino y carboxi terminal se encuentran en el lado citoplasmático (Figura 8) y que pertenece a la familia de transportadores dependientes de $\text{Na}^+:\text{Cl}^-$ (SLC6), al igual que los transportadores de dopamina (SLC6A3) y noradrenalina (SCL6A2).

El gen que codifica el transportador de serotonina humano (SLC6A4 5HTT) fue inicialmente clonado en rata en 1991 por Blakely y Hoffman [12, 51] y posteriormente lo fue en la especie humana [87], ratón y oveja, entre otras especies, presentando una homología que puede ir desde el 98 al 21% [70]. En la especie humana, se encuentra ubicado en el cromosoma 17q11.2 con un

tamaño de 37.8 Kb y 14 exones, que codifican una proteína de 630 aminoácidos [82, 103].

Gen SLC6A4
(solute carrier family member 4)

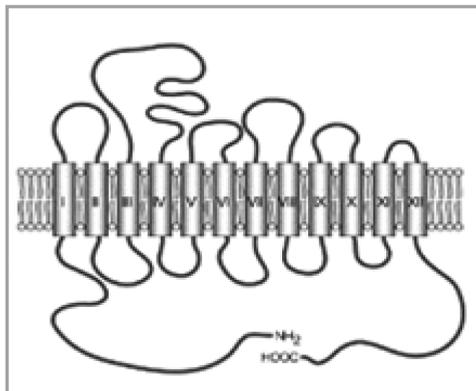


Figura 8. Estructura molecular transmembrana del transportador de serotonina (SERT). [102].

Existen varios polimorfismos como consecuencia de empalmes alternativos debido a la combinación entre los exones 1A, B y C en tejidos específicos y el uso de sitios de poliadenilización alternos (Figura 9). Ello da como resultado múltiples ARNm que son la clave en la regulación de la expresión del transportador de serotonina humano (hSERT) [84]. Además varios dominios de regulación controlan la expresión selectiva del transportador en neuronas serotoninérgicas. La actividad transcripcional del transportador de serotonina humano es modulada por un elemento repetitivo de una longitud variable en la región 5' localizada a ~1.4 kb por encima del sitio de inicio de la transcripción, llamado región polimorfa ligada al gen 5HTT (5HTT gene-linked polymorphic region o 5HTTLPR). Según Linden y cols. (2009) [67], el sitio de inicio de la transcripción de SERT en el tracto GI es diferente al encontrado a nivel central, lo que podría explicar la causa por la cual el polimorfismo implicado en trastornos afectivos, no está asociado a disfunción intestinal.

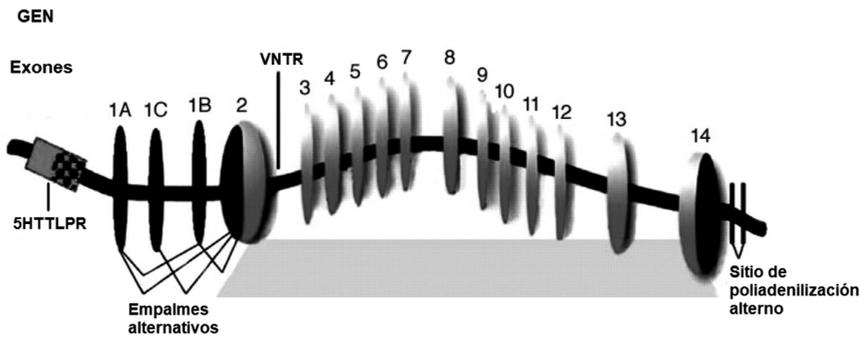


Figura 9. Organización exónica de SERT y localización de polimorfismo [82].

Adicionalmente, se han descrito tres variantes transcripcionales en regiones no codificantes: I. Delección a -380bp entre la región polimórfica ligada al gen 5HTT y el sitio de inicio de la transcripción, la cual puede ser inestable in vivo. II. Un número variable de tandem repetido (VNTR) en el intrón 2. III. Modificación de la base nitrogenada G por T en el sitio de adenilización en la región 3' UTR [8, 65].

En lo que se refiere a su actividad, el funcionamiento del transportador de serotonina no está completamente claro. Esta proteína transportadora es dependiente de $\text{Na}^+:\text{Cl}^-$ y opera principalmente por un mecanismo de acceso alterno, en donde un sitio de unión a nivel extracelular es ocupado por Na^+ , Cl^- y 5-HT al mismo tiempo. Cuando el sitio de unión está completamente ocupado, se produce un cambio conformacional que transloca este sitio desde el exterior celular hacia la superficie citoplasmática de la membrana celular. Después de la disociación de 5-HT, Na^+ y Cl^- , el K^+ se une al mismo sitio de unión, que se encuentra en este momento en el interior celular, y provoca otro cambio conformacional que transloca este sitio de unión de regreso al exterior celular, accesible a otra unión 5-HT, Na^+ y Cl^- . En este proceso un solo sitio de unión multifuncional es responsable de la circulación de 5-HT, Na^+ , Cl^- y del K^+ .

Es importante tener en cuenta que este transportador ha mostrado actividad de canal, función que al igual que la de transporte de sustrato, no está clara si la realiza formando un complejo de oligomerización o a través de subunidades individuales [103].

La localización del transportador de serotonina se ha demostrado tanto a nivel central como periférico. A nivel central lo podemos encontrar en cuerpos celulares, dendritas y a lo largo de los axones neuronales, concentrado en las varicosidades y botones terminales del núcleo dorsal y medio del rafe, tálamo, hipocampo y corteza cerebral [102, 114]. Además de la expresión neural, a nivel periférico éste se encuentra en plaquetas, placenta, endotelio pulmonar, tracto gastrointestinal, glándula adrenal, mastocitos y linfocitos, [6, 50]. Estudios realizados por nuestro grupo de investigación han demostrado que las células de tipo epitelial intestinal humano Caco-2 expresan este transportador, el cual además es funcional [54].

En el tracto intestinal las células epiteliales de la mucosa y las neuronas serotoninérgicas entéricas expresan el transportador en su membrana celular. Un dato muy importante es que esta proteína transportadora es idéntica a la expresada por las neuronas serotoninérgicas [54, 107].

El transportador de serotonina tiene como función transportar o recaptar serotonina desde el espacio extracelular de regreso al interior celular, por lo cual es responsable de la intensidad y duración de la respuesta serotoninérgica [70]. El organismo necesita recaptar la 5-HT porque las enzimas capaces de degradarla se encuentran en el interior celular (monoaminoxidasa y glucoroniltransferasa). Si este proceso no se llevara a cabo, y debido a que la difusión pasiva es muy lenta, se produciría un incremento en la concentración de serotonina que está en contacto con el receptor, situación que potenciaría sus efectos fisiológicos y provocaría la desensibilización de sus receptores. Por otra parte, la recaptación permite que cierta cantidad de 5-HT se recicle, lo que representa un importante ahorro de energía celular.

El transportador de serotonina desempeña un papel fisiológico importante en el mantenimiento de la comunicación química mediada por serotonina, tanto central como periférica, y es blanco de varias fármacos antidepressivos, tales como los tricíclicos, los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRIs), así como de sustancias de abuso como la cocaína y las anfetaminas [80, 103]. Además, el bloqueo más o menos selectivo de la recaptación de 5-HT

produce importantes consecuencias conductuales por modificación de la acción del neurotransmisor en sus receptores.

La alteración de la estructura primaria del transportador de serotonina no ha sido asociada directamente con cuadros clínicos, sin embargo el polimorfismo del gen que lo codifica ha sido correlacionada con varias enfermedades neuropsiquiátricas, como la enfermedad de Parkinson, la depresión, la conducta suicida, la esquizofrenia, los desórdenes alimenticios y la adicción a drogas [75]. Asimismo, investigaciones diversas han relacionado varios factores, como las interleucinas [78], glucocorticoides ([79] y factores de crecimiento [77] como responsables de afectar la recaptación de serotonina.

En lo que al intestino hace referencia, se conocen las consecuencias fisiopatológicas de la excesiva liberación de 5-HT, incluyendo la diarrea inducida por la toxina del cólera [9, 104], las náuseas y los vómitos [96]. De hecho, también se ha relacionado la concentración elevada de serotonina en el síndrome del colon irritable con predominancia de diarrea. Una de las causas de tal incremento en la concentración de serotonina es la alteración en la funcionalidad del transportador [110]. Por ello, el papel de la serotonina y del sistema serotoninérgico en el origen o persistencia de las patologías intestinales, está siendo objeto de numerosos estudios.

Ya hemos comentado con anterioridad que el sistema serotoninérgico y en concreto el transportador de serotonina se encuentran implicados en la fisiología intestinal. Asimismo, numerosos estudios evidencian que diversas patologías intestinales crónicas implican alteraciones del sistema serotoninérgico intestinal.

Por otro lado, existe una función inmunológica desarrollada por el intestino que contribuye enormemente a la situación homeostática y fisiológica intestinal y cuya alteración conduce a las enfermedades inflamatorias crónicas.

Vamos a desarrollar este aspecto de la fisiopatología intestinal para poder asociar el papel del sistema serotoninérgico con la actividad modulada por el sistema inmunológico intestinal. Para ello primeramente detallaremos algunos aspectos del intestino como órgano inmunológico.

3. EL INTESTINO COMO ÓRGANO INMUNOLÓGICO

La luz del intestino se encuentra colonizada por una población de microorganismos que el intestino adquiere en el nacimiento y que en los individuos adultos permanece bastante estable a lo largo del tiempo. Es el denominado microbioma intestinal. Esta microflora intraluminal afecta el desarrollo del sistema inmune intestinal, proporciona nutrientes clave y modula la energía metabólica intestinal, existiendo por tanto interacciones hospedador-microflora que pueden ser mutuamente beneficiosas.

El epitelio intestinal, además de desarrollar actividad digestiva y absorbiva, constituye una barrera anatómica e inmunológica entre la luz y el compartimento interno intestinal. Este epitelio está en íntimo contacto con una gran variedad de microorganismos comensales y con los productos de la digestión de la ingesta. Ambos suponen una amenaza para la estabilidad inmunológica del intestino.

Precisamente el complejo sistema inmunológico desarrollado en el intestino delgado permite realizar actuaciones continuas de barrera para mantener la fisiología intestinal frente a posibles agresiones originadas por el contenido luminal. Por ello, el epitelio intestinal, además de ser muy importante en la fisiología intestinal, desarrolla mecanismos de información y protección que permiten al organismo mantenerse libre del ataque de agentes microbianos. Tres son los mecanismos implicados en la estabilidad del epitelio en su papel de barrera intestinal (Figura 10):

- 1) El sistema inmune innato, que es la primera línea de defensa frente a la microflora residente intestinal o a patógenos invasores lumbinales.
- 2) La barrera transepitelial en el que el epitelio de la mucosa es la primera línea de defensa física contra las agresiones lumbinales. La integridad de esta barrera epitelial es mantenida mediante moléculas de adhesión y de unión intercelular que permiten establecer la polaridad epitelial.
- 3) El sistema inmune intestinal adaptativo que se pone en marcha cuando se rompe el equilibrio entre la estimulación de origen antigénico o de tipo patógeno y la actividad inmune innata intestinal.

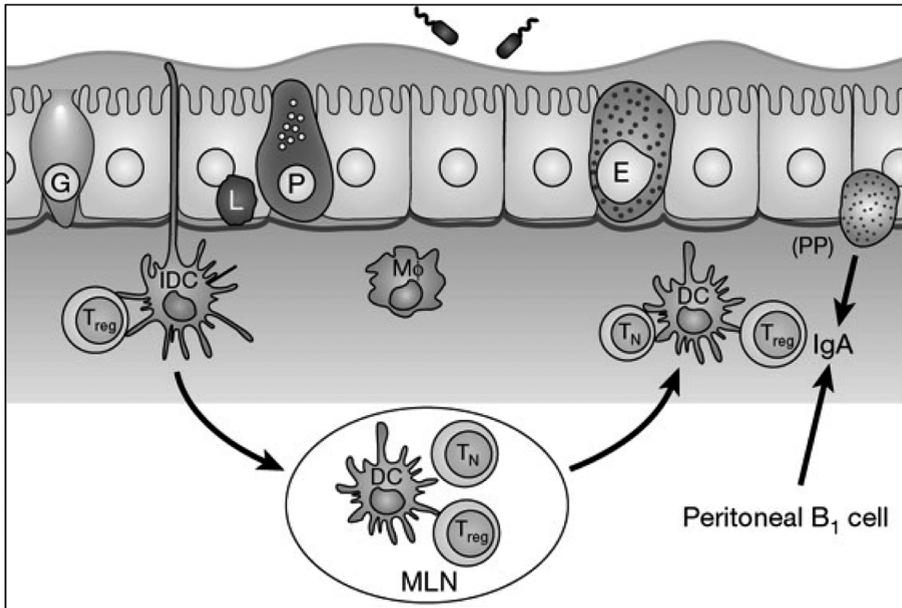


Figura 10. Sistemas implicados en la de barrera intestinal.

La alteración de cualquiera de estos tres sistemas, es decir, una inapropiada regulación del sistema inmune innato, un aumento de la permeabilidad epitelial o una regulación defectuosa del sistema inmune adaptativo, supone un riesgo para desarrollar una patología inflamatoria en la mucosa intestinal (Figura 11). En consecuencia el

epitelio intestinal juega un papel fundamental, no sólo en la fisiología del intestino y como transductor de la información luminal, sino también como primer sistema de mantenimiento de la estabilidad intestinal por su acción de barrera, de cuya eficacia depende la aparición de patologías inflamatorias.

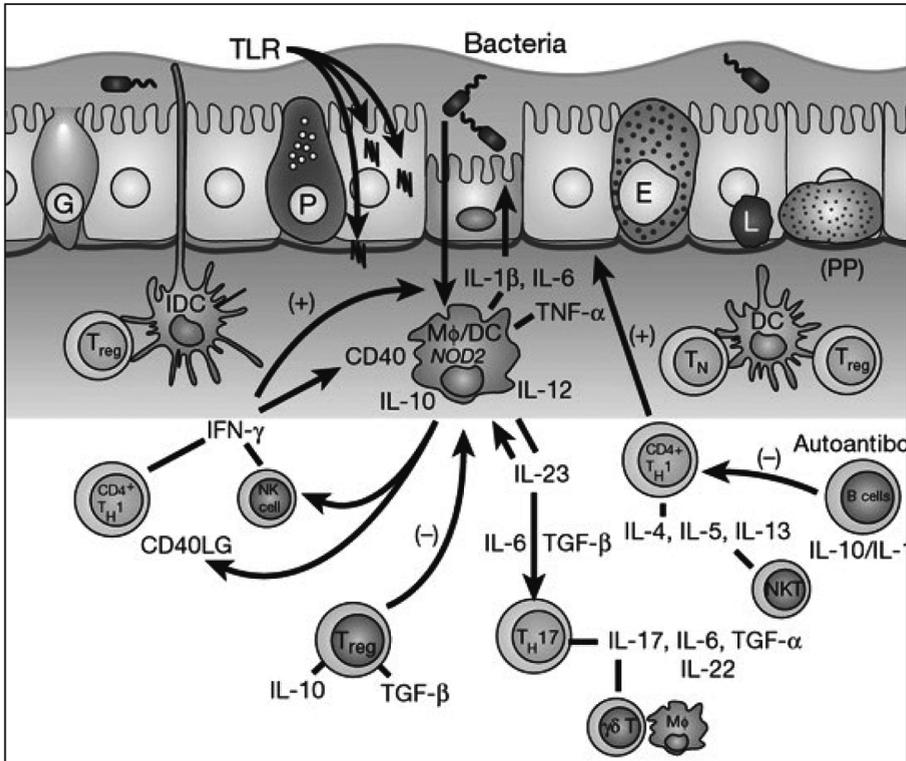


Figura 11. Alteración de la barrera intestinal. Respuesta inflamatoria. Efecto global intestinal con detalle del epitelio.

3.1. El Sistema Inmune innato intestinal. Receptores tipo Toll (TLRs)

Uno de los sistemas que actúan para establecer el mecanismo de barrera del epitelio es el sistema inmune innato. Este sistema presenta una gran complejidad por ser multifactorial, sin embargo dado el interés que presenta para el desarrollo de la presente dis-

tación, vamos a realizar una descripción más detallada de un sistema implicado en la inmunidad innata intestinal: los receptores tipo Toll (TLRs).

La mucosa intestinal produce beneficio mutuo para el hospedador y la microflora, de tal modo que los microorganismos comensales y patógenos generan señales en el sistema inmune innato dirigidas a proteger las funciones epiteliales que ayudan a mantener la integridad de la barrera mucosal. Los mecanismos de la inmunidad innata reconocen lo que se denominan patrones moleculares propios de los microorganismos (Pathogen Associated Molecular Pattern, PAMP), que están constituidos por moléculas propias de la estructura microbiana. Precisamente para esta función de reconocimiento, el hospedador posee diversas familias de receptores que reconocen al microorganismo (Pattern Recognition Receptor, PRR). Dentro de estas familias se encuentran los receptores tipo Toll.

Estos receptores se encuentran localizados en células mononucleares, dendríticas, macrófagos, así como en diferentes células epiteliales [2], y suponen un mecanismo importante en la inmunidad innata del epitelio intestinal [64]. Se ha descrito que en la mayoría de los mamíferos se expresan entre 10 y 15 tipos de TLRs [57]. En la especie humana se han identificado sólo 11 tipos distintos (TLR 1-11) (Figura 12).

Cada TLR reconoce patrones moleculares de microorganismos específicos, activando una vía de señalización intracelular compleja [4, 99], generando un patrón de síntesis y liberación de citocinas diferentes para alcanzar diversas respuestas fisiológicas. Así por ejemplo, la activación de determinados TLRs hace que la expresión de otros se eleve, lo que se refleja en la modificación del patrón de citocinas cambiando el tipo de respuesta inmune dependiendo del patrón molecular involucrado [7].

Los TLRs se expresan en el tracto gastrointestinal, en concreto y de modo endógeno, en las células epiteliales, donde recientes resultados han demostrado su contribución a la homeostasis intestinal [89].

La actividad de los TLRs en el tracto gastrointestinal debe estar controlada para generar mecanismos de tolerancia y evitar respuestas ante la microflora comensal que podrían conducir a alteraciones intestinales no deseadas. Parte de este control se lleva a cabo por la internalización o alteración del tráfico intracelular de estos receptores [42]. También se ha propuesto que en condiciones normales las células de las criptas, que no tienen contacto directo con las bacterias comensales, expresarían TLR2 y TLR4, mientras que las células epiteliales intestinales maduras expresarían TLR3, que sólo reconoce ARN de doble hebra (dsARN) vírico y que no se encuentra normalmente entre la microflora intestinal [37].

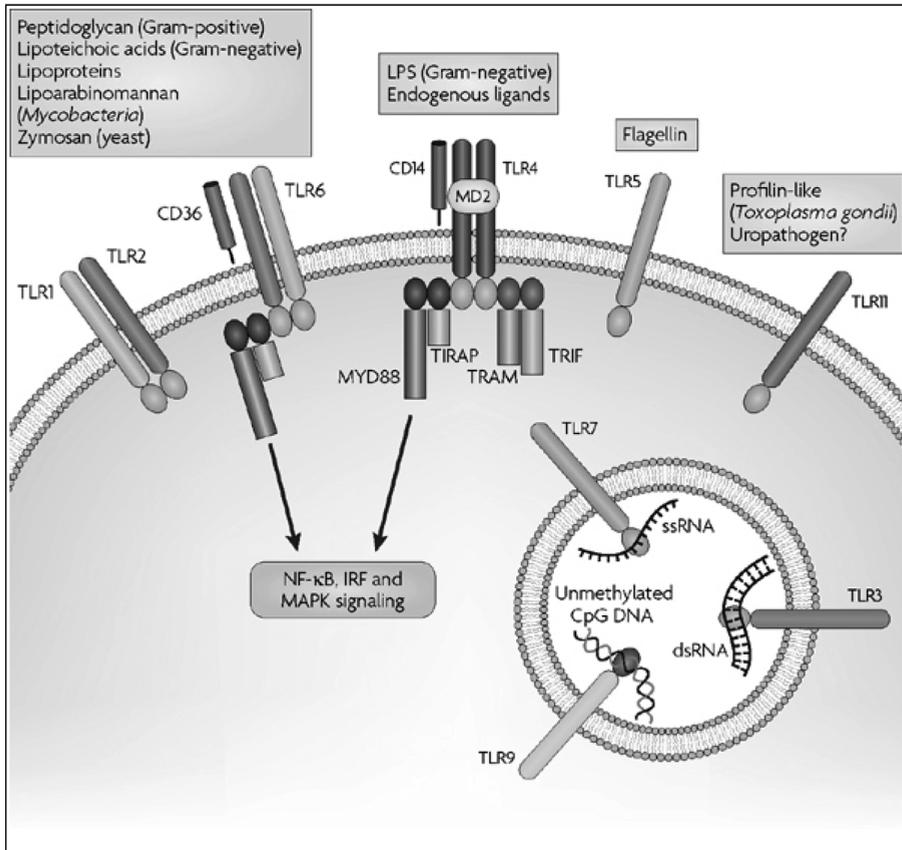


Figura 12. Descripción de los distintos tipos de TLRs en la célula y su ubicación [90].

Otros autores, sin embargo, concluyen que los TLR2 y 4 se expresan fundamentalmente en la membrana apical de las células epiteliales intestinales, controlando de esta manera la composición bacteriana de la luz intestinal. Otros estudios recientes demuestran que TLR2 y 4 enterocitarios contribuyen a la integridad de la barrera epitelial a través de la síntesis de poliaminas [16]. En individuos sanos la mucosa intestinal expresa niveles bajos de proteína TLR2 y 4. Sin embargo, el nivel de expresión de TLR2 aumenta significativamente en células epiteliales intestinales y mononucleares en las enfermedades inflamatorias intestinales [34].

En consecuencia, el epitelio intestinal desarrolla sistemas de reconocimiento del contenido luminal microbiano (PAMPs) que generan respuestas para mantener la homeostasis de la barrera epitelial cuya acción más estudiada es la generación de factores relacionados con la respuesta inflamatoria (citocinas y quimiocinas) en el propio epitelio o en el sistema inmune adquirido.

La alteración del equilibrio entre la información y la respuesta generada por estos sistemas, tal como hemos mencionado anteriormente, es una de las múltiples causas descritas en el origen de las enfermedades inflamatorias intestinales. Por tanto y tal como concluyen algunos autores [14], el sistema inmune innato intestinal supone un complejo sistema de señalización que paradójicamente puede mediar tanto respuestas de protección como de destrucción de la mucosa intestinal. El estudio de los efectos de los receptores tipo Toll en la respuesta inflamatoria intestinal está siendo amplísimo por la gran trascendencia que presenta en la aparición y persistencia de las enfermedades inflamatorias intestinales crónicas.

Aunque la actividad desarrollada por la mucosa en relación a la actividad inmune intestinal es multifactorial, existen numerosos resultados que evidencian que también la serotonina mucosal modula la respuesta inmune, y por tanto es capaz de influir en los procesos inflamatorios intestinales [108]. Más concretamente, se ha descrito que la serotonina promueve la activación de linfocitos y la secreción de citocinas proinflamatorias [112] y además, tanto las células dendríticas como los linfocitos, macrófagos, células endoteliales y células epiteliales entéricas expresan receptores de serotonina [40, 56, 73, 111]. Estos es-

tudios evidencian, por tanto, que la serotonina juega un papel importante en la homeostasis de la mucosa intestinal.

No sólo hay que tener en cuenta que la serotonina parece mediar en la respuesta inflamatoria intestinal, sino que también se ha descrito que los efectos biológicos de los mediadores de la inflamación pueden conducir a una progresión en el daño tisular y a una alteración de la actividad serotoninérgica intestinal, como se ha demostrado en animales con ileitis inducida [83]. En este mismo sentido, se conoce el efecto de ciertas citocinas [59, 78], del TNF α y de diversos factores proinflamatorios sobre la actividad del transportador de serotonina [30]. Asimismo, recientes resultados obtenidos en nuestro laboratorio demuestran que la adenosina, factor incrementado en situación inflamatoria, inhibe la actividad de SERT [72].

Estudios realizados en pacientes con enfermedades inflamatorias intestinales crónicas indican que la serotonina mucosal podría jugar un papel importante en la inflamación intestinal, ya que se ha observado en pacientes con colitis ulcerosa y con enfermedad de Crohn un aumento de los niveles de serotonina y del número de células enterocromafines [11, 18, 26]. Además, se ha descrito que en pacientes con colitis ulcerosa y con historia reciente de diverticulitis, el nivel de transcripción del transportador de serotonina está disminuido [18, 21]. Asimismo, un reciente trabajo de Ghia y cols. (2009) [43] muestra como la serotonina mucosal juega un papel clave en la patogénesis de la colitis experimental actuando en el origen de la inflamación intestinal a través de la activación de las células inmunológicas mucosales.

Otros autores han descrito la implicación del sistema serotoninérgico intestinal en las alteraciones sensitivas y motoras que se producen en las enfermedades inflamatorias intestinales [25]. Todos estos estudios realizados en pacientes informan de la modulación del sistema serotoninérgico una vez instaurada la patología inflamatoria (Figura 13).

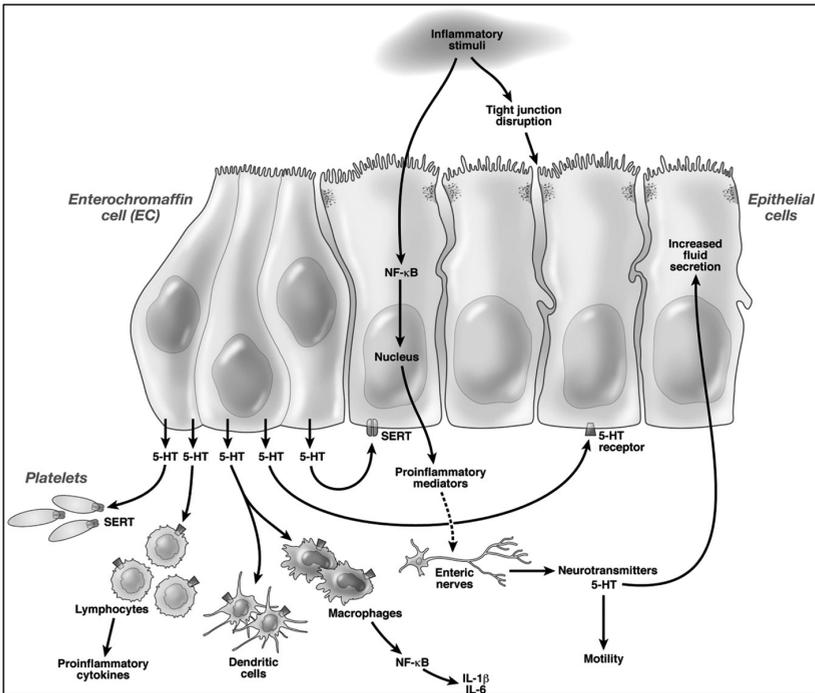


Figura 13. Respuesta serotoninérgica a estímulos inflamatorios en el intestino [68].

El papel de la serotonina como neuromodulador de la actividad intestinal, tal como hemos mencionado anteriormente, es bien conocido. También ha sido descrita la implicación de la serotonina en la respuesta inflamatoria mucosal, y la afectación del sistema serotoninérgico en las patologías inflamatorias instauradas. Por otra parte se ha evidenciado el importante papel de los receptores tipo Toll en la homeostasis intestinal. Sin embargo, el estudio de la participación de estos receptores en la modulación del sistema serotoninérgico intestinal permanece inexplorado.

Precisamente el estudio de la interacción entre el sistema serotoninérgico y la actividad de los receptores tipo Toll en el epitelio intestinal está siendo motivo de estudio en nuestro laboratorio en estos últimos años, por ello me van a permitir que brevemente haga indicación de los logros obtenidos por el grupo de investigación que dirijo en relación a la interacción entre el sistema inmune innato y el transportador de serotonina.

4. MODULACIÓN DE LA ACTIVIDAD Y EXPRESIÓN MOLECULAR DEL TRANSPORTADOR DE SEROTONINA MEDIADA POR LOS RECEPTORES TLR3, 4 Y 5

Tal como hemos indicado anteriormente hemos podido recientemente demostrar en nuestro laboratorio que el aumento extracelular de factores liberados en la inflamación inhibe la actividad del transportador de serotonina [71, 72]. Dado que el transportador internaliza la serotonina, los resultados parecen indicarnos que estos mismos factores inflamatorios incrementan la disponibilidad extracelular de serotonina, la cual podría intentar paliar o contribuir a la situación inflamatoria.

Con el fin de dirigir nuestro estudio hacia el origen de la respuesta inflamatoria mediada por la inmunidad innata, nos pareció interesante determinar si la activación de diversos receptores tipo Toll podría modular también la actividad del transportador de serotonina. Para ello estudiamos el TLR3 que es activado por ARN de doble hebra de origen vírico, el TLR4, que es activado por el lipopolisacárido de bacterias Gram negativas y el TLR5 que es activado por la proteína flagelina de microorganismos flagelados presentes en el intestino como la *Salmonella* y la *Escherichia Coli*.

Nuestros resultados indican que la activación de los TLR3, 4 ó 5 reduce la actividad del transportador de serotonina. Este efecto, siendo similar en el resultado final, se produjo en cada caso por la activación de vías de señalización intracelular distintas; así el TLR3 parece mediar su efecto por la activación de la vía de la cinasa MAPK p38, el TLR4 por la activación de la PKC y el TLR5 a través del cinasa MEK1/2.

Este hecho parece sugerir que la activación de los distintos receptores tipo Toll estudiados, pueden sumar sus efectos cuando son activados por los microorganismos que los reconocen, y finalmente producir un aumento de la disponibilidad de 5-HT en el medio extracelular, tanto en el borde luminal, como subepitelial.

Este aumento de serotonina libre extracelular podría actuar como señal para regular la actividad del intestino y generar una respuesta fisiológica intestinal de reconocimiento a los microorganismos, o bien, en caso de desregulación de la activación de los TLRs, contribuir a la respuesta inflamatoria.

En consecuencia, y de forma escueta, podríamos afirmar que la activación de los receptores tipo Toll, no sólo conduce a la producción de citocinas y factores proinflamatorios, sino que también son capaces de modular la actividad del sistema serotoninérgico intestinal regulando la disponibilidad de serotonina libre a través de la inhibición de su transportador.

5. CONCLUSIONES

El intestino es un órgano de una gran complejidad que desarrolla multitud de funciones conducentes al aprovechamiento nutritivo del alimento. Para ello cuenta, además, con una extensa población de microorganismos que colonizan la luz intestinal, y que obligan al intestino a desarrollar una potente actividad inmunológica, que defiende de ataques extraños sin comprometer su función, siendo muy notorio el papel que ejerce el sistema inmune innato para mantener esta homeostasis.

Todas estas funciones se hallan reguladas por mecanismos nerviosos y endocrinos, destacando entre todos ellos el papel del sistema serotoninérgico.

Este sistema serotoninérgico intestinal presenta la mayor parte de sus componentes en el epitelio de la mucosa y contribuye a la respuesta fisiológica del intestino y su regulación. Ambos sistemas, serotoninérgico e inmune innato se encuentran implicados en el origen y/o persistencia de las enfermedades inflamatorias intestinales.

La producción científica generada en relación a la actividad inmunológica de la mucosa intestinal y a las alteraciones de la misma en las patologías inflamatorias intestinales, está siendo enorme en estos últimos años. He intentado por ello, desarrollar en esta disertación una pequeña parte del conocimiento vertido hasta el momento en relación a este tema, tratando asimismo de dar a conocer en su justa medida al sistema serotoninérgico, un importante componente implicado en la fisiopatología intestinal.

No obstante no debemos pasar por alto, el papel primordial que desarrolla el sistema serotoninérgico en el sistema nervioso central, y cómo los resultados obtenidos en relación a la respuesta inflamatoria intestinal podrían suponer una interesante aportación a la hora de estudiar la respuesta inflamatoria en este sistema nervioso debida a las enfermedades neurodegenerativas.

He dicho

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Abreu MT. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat Rev Immunol.* 10(2): 131-44. 2010.
2. Akira S, Takeda D. Toll-Like receptor signalling. *Nat Rev Immunol.* 4: 499-511. 2004.
3. Alcalde AI et al. Study of the serotonin interactions with brush border membrana of rabbit jejunum. *Eur J Pharmacol.* 403: 9-15. 2000.
4. Arancibia SA et al. Toll-like receptors are key participants in innate immune responses. *Biol Res.* 40: 97-112. 2007.
5. Arruebo P et al. Effect of serotonin on D-galactose transport across the rabbit jejunum. *Reprod Nutr Dev.* 29: 441-448. 1989.
6. Balkovetz DF et al. Evidence for an imipramine-sensitive serotonin transporter in human placental brushborder membranes. *J Biol Chem.* 264: 2195-2198. 1989.
7. Barton GM., Medzhitov R. Control of adaptive immune responses by Toll-like receptors. *Curr Opin Immunol.* 14: 380-383. 2002.
8. Battersby S et al. Presence of multiple functional polyadenylation signals and a single nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of the human serotonin transporter gene. *J Neurochem.* 72: 1384-1388. 1999.
9. Bearcroft CP et al. In vivo effects of the 5-HT₃ antagonist alosetron on basal and cholera toxin-induced secretion in the human jejunum: a segmental perfusion study. *Aliment Pharmacol Ther.* 11: 1109-1114. 1997.

10. Beattie DT, Smith JA. Serotonin pharmacology in the gastrointestinal tract: a review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 377: 181-203. 2008.
11. Belai A et al. Neurochemical coding in the small intestine of patients with Crohn's disease. *Gut* 40: 767-774. 1997.
12. Blakely RD et al. Cloning and expression of a functional serotonin transporter from rat brain. *Nature* 354: 66-70. 1991.
13. Calvert EL et al. Inter-digestive and post-prandial antro-pyloro-duodenal motor activity in humans: effect of 5-hydroxytryptamine agonism. *Aliment Pharmacol Ther.* 19: 805-815. 2004.
14. Cario E. Innate immune signalling at intestinal mucosa surfaces: a fine line between host protection and destruction. *Curr Opin Gastroenterol.* 24: 725-732. 2008.
15. Chen JX et al. Guinea pig 5-HT transporter: cloning, expression, distribution, and function in intestinal sensory reception. *Am J Physiol.* 275: G433-G448. 1998.
16. Chen J. et al. Polyamines are required for expression of Toll-like receptor 2 modulating intestinal epithelial barrier integrity. *Am J Physiol.* 293: G568-G576. 2007.
17. Chinaglia G et al. Serotonergic terminal transporters are differentially affected in Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy: an autoradiographic study with [³H]citalopram. *Neuroscience* 54: 691-699. 1993.
18. Coates MD et al. Molecular defects in mucosal serotonin content and decreased serotonin reuptake transporter in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 126: 1657-1664. 2004.
19. Coccaro EF et al. Aggression, suicidality, and intermittent explosive disorder: serotonergic correlates in personality disorder and healthy control subjects. *Neuropsychopharmacology* 35: 435-444. 2010.
20. Costedio M et al. Serotonin and its role in colonic function and in gastrointestinal disorders. *Dis Colon Rectum* 50: 376-388. 2007.
21. Costedio MM et al. Serotonin signaling in diverticular disease. *J Gastrointest Surg.* 12: 1439-1445. 2008.
22. Cross AJ. Serotonin in Alzheimer-type dementia and other dementing illnesses. *Ann NY Acad Sci.* 600: 405-415. 1990.

23. Dahlström A, Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine. Containing neurons in the central nervous system i. monoamines in the cell bodies of brainstem neurons. *Acta Physiol Scand.* 232: 1-55. 1964.
24. De Ponti F. Pharmacology of serotonin: what a clinician should know. *Gut* 53: 1520-1535. 2004.
25. De Schepper HU et al. Gastrointestinal sensory and motor disturbances in inflammatory bowel disease- clinical relevance and pathophysiological mechanisms. *Aliment Pharmacol Ther.* 27: 621-637. 2008.
26. El-Salhy M et al. Colonic endocrine cells in inflammatory bowel disease. *J Intern Med.* 242: 413-419. 1997.
27. Erspamer V, Asero B. Identification of enteramine, specific hormone of enterochromaffin cells, as 5-hydroxytryptamine. *Nature* 169: 800-801. 1952.
28. Fiorica-Howells E et al. Serotonin and the 5-HT_{2B} receptor in the development of enteric neurons. *J Neurosci.* 20: 294-305. 2000.
29. Flemstrom G, Sjoblom M. Epithelial cells and their neighbors. II. New perspectives on efferent signaling between brain, neuroendocrine cells, and gut epithelial cells. *Am J Physiol.* 289: G377-G380. 2005.
30. Foley KF et al. IFN γ and TNF α decrease serotonin transporter function and expression in Caco2 cells. *Am J Physiol.* 292: G779-G784. 2007.
31. Fozard JR, Gray JA. 5-HT_{1C} receptor activation: a key step in the initiation of migraine? *Trends Pharmacol Sci.* 10: 307-309. 1989.
32. Hensler JG, Ferry RC, Labow DM, Kovachich GB, Frazer A. Quantitative autoradiography of the serotonin transporter to assess the distribution of serotonergic projections from the dorsal raphe nucleus. *Synapse* 17(1): 1-15. 1994.
33. Frieling T et al. Inflammatory mediators influencing submucosal secretory reflexes. *Ann NY Acad Sci.* 915: 98-101. 2000.
34. Frolova L et al. Expression of Toll-like receptor 2 (TLR2), TLR4, and CD14 in biopsy samples of patients with inflammatory bowel diseases: upregulated expression of TLR2 in terminal ileum of patients with ulcerative colitis. *J Histochem Cytochem.* 56: 267-74. 2008.
35. Fuller RW, Wong DT. Serotonin uptake and serotonin inhibition. *Ann NY Acad Sci.* 600: 68-78. 1990.

36. Furness JB, Costa M. Neurons with 5-hydroxytryptamine-like immunoreactivity in the enteric nervous system: their projections in the guinea-pig small intestine. *Neuroscience* 7: 341-349. 1982.
37. Furrie E et al. Toll-like receptors-2, -3 and -4 expression patterns in human colon and their regulation by mucosal associated bacteria. *Immunology* 115: 565-574. 2005.
38. Gershon M et al. Type-specific localization of monoamine oxidase in the enteric nervous system: relationship to 5-hydroxytryptamine, neuropeptides, and sympathetic nerves. *J Comp Neurol.* 301: 191-213. 1990.
39. Gershon MD. Plasticity in serotonin control mechanisms in the gut. *Curr Opin Pharmacol.* 3: 600-607. 2003.
40. Gershon MD. Review article: serotonin receptors and transporters-roles in normal and abnormal gastrointestinal motility. *Aliment Pharmacol Ther.* 20: 3-14. 2004.
41. Gershon M, Tack J. The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology* 132: 397-414. 2007.
42. Gewirtz AT et al. Salmonella typhimurium transcytoses flagellin across intestinal epithelia, inducing a proinflammatory response. *J Clin Invest.* 107: 99-109. 2001.
43. Ghia J-E et al. Serotonin has a key role in patogénesis of experimental colitis. *Gastroenterology* 137: 1649-1660. 2009.
44. Gill RK et al. Serotonin inhibits Na⁺/H⁺ Exchange activity via 5-HT₄ receptors and activation of PKC alpha in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 128: 962-974. 2005.
45. Griebel G. 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. *Pharmacol Ther.* 65: 319-95. 1995.
46. Grundy D. 5-HT system in the gut: roles in the regulation of visceral sensitivity and motor functions. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 12: 63-67. 2008.
47. Hansen MB, Skadhauge E. Signal transduction pathways for serotonin as an intestinal secretagogue. *Comp Biochem Physiol A Physiol.* 118: 283-290. 1997.

48. Hansen M, Witte AB. the role of serotonin in intestinal luminal sensing and secretion. *Acta Physiol.* 193: 311-23. 2008.
49. Hardcastle J, Hardcastle PT. Comparison of the intestinal secretory response to 5-hydroxytryptamine in the rat jejunum and ileum in-vitro. *J Pharm Pharmacol.* 49: 1126-31. 1997.
50. Hernández E et al. Serotonin, 5-hidroxiindoleacetic acid and serotonin transporter in blood peripheral lymphocytes of patients with generalized anxiety disorder. *Int Immunopharmacol.* 2: 893-900. 2002.
51. Hoffman BJ et al. Cloning of a serotonin transporter affected by antidepressants. *Science* 254: 279-280. 1991.
52. Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav.* 71(4): 533-54. 2002.
53. Humphrey PP et al. Serotonin and migraine. *Ann NY Acad Sci.* 600: 587-598. 1990.
54. Iceta R et al. Molecular characterization and intracellular regulation of the human serotonin transporter in Caco-2 cells. *J Physiol Pharmacol.* 57: 119-130. 2006.
55. Iceta R et al. Expression of 5-HT1A and 5-HT7 receptors in Caco-2 cells and their role in the regulation of serotonin transporter activity. *J Physiol Pharmacol.* 60: 157-164. 2009.
56. Idzko M et al. The serotonergic receptors of human dendritic cells; identification and coupling to cytokine release. *J Immunol.* 172: 6011-6019. 2004.
57. Iwasaki A., Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol.* 5: 987-995. 2004.
58. Jørgensen HS. Studies on the neuroendocrine role of serotonin. *Dan Med Bull.* 54: 266-88. 2007.
59. Kekuda R et al. Polarized distribution of interleukin-1 receptors and their role in regulation of serotonin transporter in placenta. *J Exp Pharm Exp Ther.* 292: 1032-1041. 2000.
60. Kirchgessner AL, Liu MT, Howard MJ, Gershon MD. Detection of the 5-HT1A receptor and 5-HT1A receptor mRNA in the rat bowel and pancreas: comparison with 5-HT1P receptors. *J Comp Neurol.* 327: 233-250. 1993.

61. Klein DC, Weller JL. Indole metabolism in the pineal gland: a circadian rhythm in N-acetyltransferase. *Science* 169: 1093-1095. 1970.
62. Lance JW. Current concepts of migraine pathogenesis. *Neurology* 43: S11-S15. 1993.
63. Larsson I et al. Transport of serotonin from the rat jejunal lumen into mesenteric veins in vivo. *Acta Physiol. Scand.* 138: 403-407. 1990.
64. Lee J et al. Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 signalling in intestinal epithelial cells. *Nat Cell Biol.* 8: 1327-1336. 2006.
65. Lesch KP et al. Mosaicism for a serotonin transporter gene promoter-associated deletion: Decreased recombination in depression. *J Neural Transm.* 106: 1223-1230. 1999.
66. Levin M et al. Of minds and embryos: left-right asymmetry and the serotonergic controls of pre-neural morphogenesis. *Dev Neurosci.* 28: 171-85. 2006.
67. Linden DR y cols. Novel promoter and alternate transcription start site of the human serotonin reuptake transporter in intestinal mucosa. *Neurogastroenterol Motil.* 21(5): 534-541. 2009.
68. Margolis KG, Pothoulakis C. Serotonin has a critical role in the pathogenesis of experimental colitis. *Gastroenterology* 137(5): 1562. 2009.
69. Martel F et al. Uptake of serotonin at the apical and basolateral membrane of human intestinal epithelial (caco-2) cells occurs through the neuronal serotonin transporter (sert). *J Pharmacol Exp Ther.* 306: 355-362. 2003.
70. Martel F. Recent advances on the importance of the serotonin transporter SERT in the rat intestine. *Pharmacol Res.* 54: 73-76. 2006.
71. Matheus N et al. Regulation of serotonin transporter activity by adenosine in intestinal epithelial cells. *Biochem Pharmacol.* 78: 1198-204. 2009.
72. Matheus N et al. Melatonin inhibits serotonin transporter activity in intestinal epithelial cells. *J Pineal Res.* 48: 332-339. 2010.
73. Mawe GM et al. Intestinal serotonin signalling in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther.* 23: 1067-1076. 2006.

74. McDuffie JE et al. 5-hydroxytryptamine stimulates phosphorylation of p44/p42 mitogen-activated protein kinase activation in bovine aortic endothelial cell cultures. *J Cardiovasc Pharmacol.* 35: 398-402. 2000.
75. Meltzer CC et al. Serotonin in aging, late-life depression, and Alzheimer's disease: the emerging role of functional imaging. *Neuropsychopharmacology* 18: 407-430. 1998.
76. Moller SE. Evaluation of the relative potency of individual competing amino acids to tryptophan transport in endogenously depressed patients. *Psychiatry Res.* 3: 141-150. 1980.
77. Mössner R et al. Serotonin transporter function is modulated by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) but not nerve growth factor (NGF). *Neurochem Int.* 36: 197-202. 2000.
78. Mössner R et al. Modulation of serotonin transporter function by interleukin-4. *Life Sci.* 68: 873-880. 2001.
79. Mössner R et al. Glucocorticoid-regulated human serotonin transporter (5-HTT) expression is modulated by the 5-HTT gene-promotor-linked polymorphic region. *J Neurochem.* 86: 1072-1078. 2003.
80. Müller HK et al. Subcellular redistribution of the serotonin transporter by secretory carrier membrane protein 2. *J Biol Chem.* 281: 28901-28909. 2006.
81. Muñoz H, Vargas A. Síndrome serotoninérgico. *MedUNAB.* 7: 144-150. 2004.
82. Murphy DL et al. Serotonin transporter: Gene, genetic disorders, and pharmacogenetics. *Mol Interv.* 4: 109-123. 2004.
83. O'Hara JR et al. Enteroendocrine cells and 5-HT availability are altered in mucosa of guinea pigs with TNBS ileitis. *Am J Physiol.* 287: G998-1007. 2004.
84. Ozsarac N et al. Alternative non-coding exons support serotonin transporter mRNA expression in the brain and gut. *J Neurochem.* 82: 336-344. 2002.
85. Plaza MA et al. Evidence for the involvement of 5-HT₄ receptors in 5-hydroxytryptamine-induced pattern of migrating myoelectric complex in sheep. *Br J Pharmacol.* 120: 1140-1150. 1997.

86. Prins NH et al. Evidence for 5-HT₇ receptors mediating relaxation of human colonic circular smooth muscle. *Br J Pharmacol.* 128: 849-852. 1999.
87. Ramamoorthy S, Bauman AL, Moore KR, Han H, Yang-Feng T, Chang AS, Ganapathy V, Blakely RD. Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: Molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proc Nat Acad Sci USA.* 90: 2542-2546. 1993.
88. Racké K et al. Regulation of 5-HT release from enterochromaffin cells. *Behav Brain Res.* 73: 83-87. 1996.
89. Rakoff-Nahoum S. et al. Recognition of commensal microflora by Toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 118: 229-241. 2004.
90. Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Toll-like receptors and cancer. *Nat Rev Cancer.* 9(1): 57-63. 2009.
91. Saksena S et al. Involvement of c-Src and protein kinase C delta in the inhibition of Cl⁻/OH⁻ exchange activity in Caco-2 cells by serotonin. *J Biol Chem.* 280: 11859-11868. 2005.
92. Salín PR. La serotonina y los estados anímicos. *Revista Ciencia y Desarrollo.* 34: 24-30. 2006.
93. Salvador MT et al. Serotonin-induced changes in L-leucine transport across rabbit jejunum. *Life Sci.* 59: 1269-1281. 1996.
94. Salvador MT et al. 5-HT receptor subtypes involved in the serotonin-induced inhibition of L-leucine absorption in rabbit jejunum. *Life Sci.* 61: 309-318. 1997.
95. Salvador MT et al. Effects of serotonin on the physiology of the rabbit small intestine. *Can J Physiol Pharmacol.* 78: 359-366. 2000.
96. Sanger GJ, Andrews PL. Treatment of nausea and vomiting: gaps in our knowledge. *Auton. Neurosci.* 129 (1-2): 3-16. 2006.
97. Sifrim D et al. Effect of sumatriptan, a 5-HT₁ agonist, on the frequency of transient lower esophageal sphincter relaxations and gastroesophageal reflux in healthy subjects. *Am J Gastroenterol.* 94: 3158-3164. 1999.

98. Smith AJ et al. 5-Hydroxytryptamine contributes significantly to a reflex pathway by which the duodenal mucosa protects itself from gastric acid injury. *FASEB J.* 20: 2486-2495. 2006.
99. Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol.* 17: 1-14. 2005.
100. Toghi H et al. Concentrations of serotonin and its related substances in the cerebrospinal fluid in patients with Alzheimer type dementia. *Neurosci Lett.* 141: 9-12. 1992.
101. Tonini M et al. 5-HT₇ receptors modulate peristalsis and accommodation in the guinea pig ileum. *Gastroenterology* 129: 1557-1566. 2005.
102. Torres GE et al. Plasma membrana monoamine transporters: structure, regulation and function. *Nat Rev Neurosci.* 4: 13-25. 2003.
103. Torres GE, Amara SG. Glutamate and monoamine transporters: new visions of form and function. *Curr Opin Neurobiol.* 17: 304-312. 2007.
104. Turvill JL, Farthing MJ. Effect of granisetron on cholera toxin-induced enteric secretion. *Lancet* 349: 1293. 1997.
105. Vertes RP, Crane AM. Distribution, quantification, and morphological characteristics of serotonin-immunoreactive cells of the suprallemniscal nucleus (b9) and pontomesencephalic reticular formation in the rat. *J Comp Neurol.* 378: 411-424. 1997.
106. Von Mentzer B et al. Functional CRF receptors in BON cells stimulate serotonin release. *Biochem Pharmacol.* 73: 805-813. 2007.
107. Wade PR et al. Localization and Function of a 5-HT Transporter in Crypt Epithelia of the Gastrointestinal Tract. *J Neurosci.* 76: 2352-2364. 1996.
108. Wheatcroft J et al. Enterochromaffin cell hyperplasia and decreased serotonin transporter in a mouse model of postinfectious bowel dysfunction. *Neurogastroenterol Motil.* 17: 863-870. 2005.
109. Wouters MM et al. 5-HT receptors on interstitial cells of Cajal, smooth muscle and enteric nerves. *Neurogastroenterol Motil.* 19: 5-12. 2007.
110. Yeo A et al. Association between a functional polymorphism in the serotonin transporter gene and diarrhoea predominant irritable bowel syndrome in women. *Gut* 3: 1452-1458. 2004.
111. Yin J et al. 5-HT_{1B} receptors play a prominent role in the proliferation of T-lymphocytes. *J Neuroimmunol.* 181: 68-81. 2006.

112. Young MR, Matthews JP. Serotonin regulation of T-cell subpopulations and of macrophage accessory function. *Immunology* 84: 148-152. 1995.
113. Zhang YW, Rudnick G. Serotonin transporter mutations associated with obsessive-compulsive disorder and phosphorylation alter binding affinity of inhibitors. *Neuropharmacology* 49: 791-797. 2005.
114. Zhou FC et al. Serotonin transporters are located on the axons beyond the synaptic junctions: anatomical and functional evidence. *Brain Res.* 805: 241-254. 1998.

Discurso de Contestación

Ilmo. Sr. Dr. D. Jesús de la Osada García

Contestación al discurso de entrada de la Dra. Ana Isabel Alcalde Herrero como académica de la Academia de Farmacia “Reino de Aragón”.

Pocos encargos podrían serme más gratos que el que hoy me han encomendado nuestro Presidente y la Junta de Gobierno, de adelantarme en nombre de la Academia de Farmacia para mostrar nuestra bienvenida a la Doctora Ana Isabel Alcalde Herrero, en su ingreso en esta Academia. Este momento tiene para mí unas características muy peculiares, la persona que ingresa, a la que me une amistad y respeto, viene avalada por un magnífico Currículum Vitae, es una entusiasta compañera y brillante profesora de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza. Quisiera aprovechar esta ocasión para presentarles algunos de los méritos profesionales y la trayectoria científica de la Doctora Alcalde, que le han hecho acreedora de aspirar al rango de Académica de Número y que va a poner al servicio de esta Corporación junto con la vitalidad, iniciativa y talento que la caracterizan.

Mi descubrimiento de la capacidad docente de la profesora Alcalde se remonta a los primeros años de la década de los noventa. Por aquel entonces, nuestro Vicedecano de Investigación, nuestro actual presidente de la Academia, organizaba una serie de seminarios por y para investigadores básicos. El que impartió Anabel estaba bien estructurado, con los apoyos documentales cuidadosamente seleccionados. Esto unido a su entusiasmo y maestría consiguieron volatilizar el tiempo. Desde entonces nuestra relación se ha ido estrechando con múltiples intercambios de opinión y de trabajos científicos, cons-

cientes cada uno de la actividad del otro. No quisiera que estos años de amistad y compañerismo me resten la objetividad necesaria para resaltar con lucidez los hechos más destacados que singularizan la carrera científica de Anabel para que los que me escuchan puedan juzgar la exactitud de mis afirmaciones.

La Dra. Alcalde realizó sus estudios universitarios en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Navarra. En 1981 defendió su tesina y obtuvo el grado de Licenciado con la calificación de Sobresaliente y premio extraordinario. En 1984 con la Tesis Doctoral titulada: “Estudio del transporte de D-galactosa a través del borde serosal del intestino delgado de mamífero” obtuvo el título de Doctor con la calificación de sobresaliente “cum laude”. Su trabajo constituyó un importante avance a lo que durante años ha sido una fructífera línea de investigación dirigida por el Dr. Larralde y la Dra. Ilundáin.

Su decidida vocación docente hizo que se incorporase como profesor ayudante ya durante su etapa de realización del doctorado. Faceta que ha continuado con singular éxito hasta la actualidad, ya como Catedrática de Fisiología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza. Destaca la doctora Alcalde, entre otras cualidades positivas, por su tesón, dedicación y su capacidad para transmitir ideas con extraordinaria eficacia. Su amplia actividad docente universitaria se ha reflejado en clases teóricas y prácticas de diversos cursos en varias Licenciaturas, ahora Grados, y monográficos de Doctorado.

La inquietud científica de Anabel y su laudable deseo de ampliar conocimientos en el transporte intestinal le llevaron a solicitar una beca postdoctoral de la Dirección General de Universidades e Investigación para formación de personal investigador en el Extranjero. Con ella se trasladó a Francia para trabajar con los profesores Alvarado y Brot-Laroche del Centre National de la Recherche Scientifique de Meudon (Paris). Durante esta estancia allí obtuvo abundantes resultados que fueron motivo de diversas publicaciones.

La Dra. Alcalde ha sido investigadora principal en diversos proyectos de investigación financiados por programas de la Dirección General de Investigación Científica y Técnica, del Gobierno de

Aragón, donde ha demostrado siempre su responsabilidad y capacidad investigadora. También ha recibido subvenciones de la Fundación ARAINF. Su trayectoria como investigadora y docente ha cristalizado en numerosos cursos impartidos, conferencias pronunciadas, además de artículos de investigación recogidos en bases de datos internacionales. Cabe citar entre ellos: Proceedings of the National Academy of Sciences USA, Biochemical Pharmacology, Journal of Pineal Research, American Journal of Physiology, Endocrinology... Sus participaciones en congresos dentro y fuera de España son numerosas y en ellos ha intervenido con ponencias, comunicaciones, y mesas redondas. Ejerce como revisora de diversas revistas, así como para diversos organismos nacionales de financiación de proyectos de investigación. En su haber también cuenta la dirección de siete tesis doctorales todas acreditadas con la máxima calificación.

Sería muy prolijo detallar aquí los muchos y diversos méritos por los que la Doctora Alcalde ha sido elegida y les ruego acepten ese somero bosquejo como muestra. Otra prueba evidente de la capacidad intelectual de la Doctora Alcalde es el discurso que acabamos de escuchar, trazado con la firmeza de una mente serena y con la frase oportuna de quien sabe ver con profundidad y perspectiva.

La doctora Alcalde ha hecho una revisión exhaustiva del sistema serotoninérgico en el intestino y su cada vez mayor relevancia en la fisiopatología de las enfermedades inflamatorias intestinales. Hoy gracias a este discurso, también conocemos mejor la complejidad de la respuesta defensiva del intestino a los agentes externos y la microbiota, en general. Esta recopilación se ha centrado en el metabolismo de la serotonina en intestino por ser el tema de investigación actual del grupo del Dr. Alcalde encaminado a determinar los diversos agentes que lo modulan.

Mi más sincera enhorabuena, por su discurso y por su trayectoria científica. Felicitación que quiero hacer extensiva a su familia. A Pedro, que ha sabido entender y apoyarla en todos los momentos y a sus hijas Beatriz y Mónica para que la cercanía y la juventud no les impidan nunca ver los logros y el compromiso de una mujer inteligente y perseverante.

Al darle la bienvenida en nombre de todos los académicos de esta Academia quiero desearle, junto con mi enhorabuena y sincera felicitación, el deseo de que su permanencia entre nosotros sea fructífera. Quienes le recibimos esperamos que su talento, su capacidad crítica y creadora, su laboriosidad y su entusiasmo encuentren entre nosotros el clima apropiado para el enriquecimiento de las tareas académicas y para un mayor prestigio de esta Corporación.

Profesora Alcalde, Anabel, amiga: ¡¡¡Muchas felicidades!!!

Muchas gracias