SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Fisiología

Boletín Informativo de la SECF · Volumen 10 · nº 1 · Junio 2008

• TITULARES

• INVITACIÓN AL XXXV CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS.

VALENCIA, FEBRERO DE 2009.

José Viña.

• MODELOS TRANSGÉNICOS Y EPILEPSIA DEL LÓBULO TEMPORAL: ¿ES ORO TODO LO QUE RELUCE?

Liset Menéndez de la Prida.

• MECANISMOS MOLECULARES DE LA MECANOTRANSDUCCIÓN

Ana Gomis.

• REGULACIÓN DE LA PERMEABILIDAD DE LA MEMBRANA MITOCONDRIAL EN PROCESOS DE MUERTE CELULAR.

Joaquín Jordán.

• EL TIEMPO EN LA FISIOLOGÍA

Juan Antonio Madrid, M. Ángeles Rol.

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Presidente: Constancio González Martínez (constanc@ibgm.uva.es)
Presidente electo: Ginés Salido Ruiz (gsalido @unex.es)
Presidente Saliente: Rafael Alonso Solís (ralonso@ull.es)
Secretario: Antonio Alberola Aguilar (antonio.alberola@uv.es)
Tesorero: Lucía Núñez Llorente (nunez@ibgm.uva.es)
Vocal: Javier Cudeiro Mazaira (jcud@udc.es) /
Andrés Morales Calderón (andres.morales@ua.es)

Direcciones de contacto en **www.seccff.org** · D.L.:SE-321-2000

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES.

A. Remisión de originales.

La remisión de originales se hará exclusivamente por correo electrónico a la dirección del editor o de cualquiera de los miembros del comité editorial. Se puede utilizar cualquier procesador de texto, programa y formato gráfico, aunque es preferible remitir el manuscrito en formatos usuales. En todo caso deben indicarse en la carta de remisión los formatos empleados para texto, tablas, gráficos y fotografías. La utilización de formatos poco usuales retrasará la publicación. En caso de emplear algún sistema de compresión para fotografías o gráficos, debe comprobarse que la descompresión no deteriora la calidad de las imágenes. La carta de remisión debe incluirse en el cuerpo del mensaje electrónico y el original y las figuras en forma de archivos anexos. El texto del artículo debe adjuntarse como un único archivo, incluyendo la página con el título, el texto principal, bibliografía, etc. Cada tabla o figura debe remitirse en un anexo independiente, nombrando cada anexo con el nombre del primer autor y el número de tabla o figura que contenga (ejemplo: Cunqueiro-Fig.1).

B. COMPOSICIÓN DE LOS ORIGINALES.

1. Primera página.

Título, Autores, Filiación de los autores y Autor y dirección para correspondencia si procede (incluir números de teléfono y fax, y una dirección de correo electrónico).

2. Segunda página.

Sumario, si procede, en una extensión no superior a 200 palabras, en el mismo idioma que el resto del artículo.

· Editor ·
Ángel Nadal Navajas, Departamento de Fisiología e Instituto de Bioingeniería Universidad Miguel Hernández, Elx, Alicante 03202.
Teléfono: 965 222 002, Fax: 966 658 511, e-mail: nadal@umh.es

· Comité editorial ·
Fernando de Castro (Salamanca, fdecastro@usal.es), Mónica de la Fuente (Madrid, mondelaf@bio.ucm.es), Esther Fuentes (Elx, efuentes@umh.es), Cristina Ripoll (Elx, ripollcr@umh.es), José E. Sánchez-Criado (Córdoba, fi1sarcj@uco.es), Javier Salazar (Murcia, salazar@um.es), Carlos Villalobos (Valladolid, carlosv@ibgm.uva.es).

Diseño, Maquetación e Impresión: Limencop CEE · 966 658 487 · e-mail: d.grafico@limencop.com

3. Cuerpo del texto.

Los artículos no deberán sobrepasar las 2.500 palabras e irán en folios numerados. Deberán estar escritos en un estilo claro y con pretensión divulgativa, de forma que puedan ser entendidos por cualquier fisiólogo, independientemente de su área de especialización. El procedimiento más simple es tomar como ejemplo cualquier artículo publicado previamente en Fisiología. En caso de no disponer de ningún ejemplar, puede solicitarse a cualquiera de los miembros del comité editorial o a la Secretaría (andres.morales@ua.es) para ser incluido en la lista de distribución. Alternativamente, consultar los artículos de los números anteriores en *http://www.seccff.org.*

Los artículos podrán contener resultados ya publicados, siendo entonces responsabilidad exclusiva de los autores obtener los permisos correspondientes de las revistas o libros donde hayan sido publicados originalmente. Debido a la pretensión divulgativa, cada autor podrá organizar el texto en la forma que crea más oportuna, si bien se sugiere una división en secciones que facilite su lectura.

4. Otros.

a.Notas. (si las hubiere) y agradecimientos.

b.Bibliografía. Las referencias, muy seleccionadas, se insertarán en el cuerpo del texto entre paréntesis (ejemplo: Chacón y Mairena, 1999). La relación completa de referencias bibliográficas deberá incluirse al final del texto, por orden alfabético y cronológico, de acuerdo a los formatos más habituales. Ejemplo: Gómez J, Belmonte J (1910) Deciphering bullfighting. J Taurom 57: 200-235.

c.Pies de figuras. Deberán incluirse a continuación de la bibliografía y en páginas aparte.

d.Figuras. Su número no deberá ser superior a 2-3 por artículo, y el tamaño máximo aceptado será el de una hoja impresa (DIN-A4). En el caso de figuras previamente publicadas, si fuere necesario, deberá acompañarse autorización para su reproducción en Fisiología.

QUERIDOS AMIGOS:

Del 17 al 20 de febrero de 2009 se celebrará en Valencia el XXXV Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas. Esta nueva edición supone un reto para el Comité Organizador, que tratará de mantener el gran nivel científico y la participación de los últimos años.

El Congreso constituirá de nuevo una oportunidad extraordinaria para el abordaje de los diferentes aspectos básicos y aplicados de las Ciencias Fisiológicas, fomentando el conocimiento y la colaboración entre los grupos.

El programa abarcará diferentes aspectos de gran interés dentro de la Fisiología, pero el éxito del Congreso dependerá de vuestra presencia y participación activa en las sesiones, así como de la presentación de vuestras investigaciones más recientes y novedosas. El programa también incluirá simposia de la Red de Envejecimiento y fragilidad RETICEF específicos sobre envejecimiento y de COST B 35, grupo financiado por la Comunidad Europea especializado en peroxidación lipídica, con participación de destacados ponentes internacionales.

El XXXV Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas se desarrollará en el Palacio de Congresos de Valencia, y será una gran ocasión para conocer Valencia y sus cambios recientes.

Esperando veros en Valencia en febrero de 2009, recibid un cordial saludo.

Prof. José Viña
Presidente del Comité Organizador.

ORGANIZING COMMITTEE

President
José Viña
Vicepresident
Federico Pallardó
Chairman of the Congress
Juan Sastre
Secretary
Carmen Gómez-Cabrera
Treasurer
Consuelo Borrás
Vocals
Julián Carretero
Juan Gambini
Luis Such-Miquel

SCIENTIFIC COMMITTEE

President:
Antonio Alberola
Members:
Carlos Acuña
Guillermo Álvarez de Toledo
Manuel Castillo
Mónica de la Fuente
Javier Miranda
Ángel Nadal
Ana Obeso
Reinald Pamplona
Joana M. Planas
Javier Salazar
Jesús A.F. Tresguerres

La presencia de esclerosis de hipocampo es tomada generalmente como un marcador de epilepsia de origen temporal en diferentes modelos de ratones modificados genéticamente. Sin embargo, ¿es realmente éste un buen criterio para definir modelos transgénicos de epilepsia del lóbulo temporal?

Modelos transgénicos y epilepsia del lóbulo temporal: ¿es oro todo lo que reluce?

Liset Menéndez de la Prida

Actualización

La epilepsia del lóbulo temporal (ELT) constituye una de las formas más frecuentes de epilepsia farmacorresistente (Engel, 1996). En pacientes con ELT, el foco epiléptico se encuentra por lo general en estructuras temporales, como el hipocampo y la región para-hipocampal, que están afectados por la esclerosis mesial, el substrato histológico más común en la ELT (Babb y Brown, 1987). La esclerosis se caracteriza por una reducción del volumen del hipocampo, junto a la pérdida selectiva de neuronas en la corteza entorrinal, el hilus del giro dentado y las áreas CA1 y CA3 del hipocampo. Estas alteraciones van acompañadas de un proceso de proliferación de los axones de las fibras musgosas, conocido como 'sprouting' (Sutula y cols., 1989) (Fig.1).

A pesar de la intensa investigación sobre los mecanismos básicos de la ELT, aún no está claro cuál es el verdadero papel del hipocampo esclerótico en este tipo de epilepsia (Engel, 1996). Recientemente, se han comenzado a utilizar ratones transgénicos para estudiar fenotipos epilépticos que puedan ayudarnos a profundizar en las bases de la ELT. De hecho, una consecuencia de la producción masiva de transgénicos es el empleo de estos animales como modelos de ELT, una vez se confirma la presencia de crisis electrográficas y esclerosis de hipocampo. Pero ¿son realmente todos estos animales modelos potenciales de ELT? Esta revisión pretende hacer un repaso crítico por algunos de los modelos transgénicos que muestran crisis epilépticas espontáneas, con el objeto de identificar posibles mecanismos que pudieran ayudarnos a comprender el papel del hipocampo en esta enfermedad neurológica.

Canalopatías y ELT

La mayor parte de los trabajos realizados con animales transgénicos, se han centrado en estudiar el efecto de mutaciones puntuales identificadas en síndromes epilépticos de origen genético. Esta aproximación permite estudiar las bases celulares de diferentes tipos de epilepsia de origen idiopático (ver cuadro). Una segunda aproximación, más útil en el caso de la ELT, consiste en el estudio del efecto de mutaciones de genes específicos que afectan, entre otros, a la expresión de canales iónicos (canalopatías) y a la transmisión sináptica.

La mayoría de las mutaciones que afectan a canales iónicos se han relacionado con epilepsias idiopáticas generalizadas y no directamente con la ETL. Estudios de herencia genética en pacientes epilépticos han detectado una serie de familias de genes que están típicamente alteradas, como mutaciones en los genes KCNQ que codifican canales de potasio (Charlier y cols.,

1998; Biervert y cols., 1998), o alteraciones en la secuencia del gen CACNA1H que codifica un canal de calcio (Heron y cols., 2004), por mencionar algunos ejemplos. Sin embargo, los estudios clínicos no han establecido conexión directa entre todas estas mutaciones y la ELT (pero ver Yus-Nájera y cols. 2003).

Una de las pocas excepciones es el gen SCN1B, que codifica una subunidad del canal de sodio. El gen SCN1B fue uno de los primeros genes identificados en la epilepsia febril generalizada plus (en inglés GEFS+), un tipo de epilepsia caracterizado por un fenotipo heterogéneo, que incluye crisis febriles, epilepsias leves generalizadas y algunas formas de encefalopatías (Singh y cols., 1999). Recientement, sin embargo, se ha encontrado familias en las que esta mutación está vinculada estrechamente con la expresión de ELT farmacorresistente (Scheffer y cols., 2007). Los estudios funcionales de co-expresión de la subunidad mutante muestran un incremento en la fracción de canales de sodio y mayor rango de respuesta a altas frecuencias, comparado con el fenotipo salvaje (Wallace y cols., 1998; Meadows y cols., 2002). Esta ganancia de función se traduce, por tanto, en un incremento ubicuo de la excitabilidad celular. En general, los ratones con alteraciones en la expresión de esta subunidad del canal de sodio no muestran consistentemente crisis de origen temporal, sino que expresan diversos tipos de epilepsia generalizada (pero ver Yu y cols., 2006). Esto sugeriría que la ELT desarrollada en pacientes GEFS+ podría constituir una secuela de las crisis febriles, dada la potencial relación entre fiebres prolongadas y epilepsia temporal (Maher y McLachlan, 1995). Sin embargo, los ratones con mutaciones específicas en el gen SCN2A muestran epilepsia de origen focal en el hipocampo y esclerosis (El Bahh y cols., 1999; Keamey y cols., 2001), sugiriendo un proceso de epileptogénesis similar al inducido por status epilepticus. Esto apunta a que, ante un incremento ubicuo de la excitabilidad celular, el sistema límbico podría jugar un papel iniciador de crisis epilépticas. De hecho, en el hipocampo de ratones SCN2A pre-sintomáticos, se ha registrado aumentos en las corrientes de Na^+ persistente, lo que avalaría la idea de que la hiperexcitabilidad en esta región podría constituir un mecanismo iniciador del proceso de epileptogénesis (Keamey y cols., 2001).

En esta misma dirección, en ratones deficientes del gen KCNA1 que codifica para la subunidad Kv1.1 del canal de potasio, se registran crisis espontáneas de fenotipo límbico en las primeras dos semanas postnatales (Smart y cols., 1998; Wenzel y cols., 2007). Esta pérdida de función de un tipo de canal de potasio resulta en hiperexcitabilidad de las neuronas de CA3 y en una reducción de la inhibición en las regiones para-hipocampales debido a mecanismos pre-sinápticos (Lopantsev y cols., 2003; van Brederode y cols., 2001). Sin embargo, la muerte neuronal en hipocampo y el sprouting de las fibras musgosas sólo ocurren después de que los animales han sufrido crisis severas muy prolongadas (Wenzel y cols., 2007). El hecho de que en los ratones Kv1.1-/- no sólo esté afectado funcionalmente el hipocampo, sino otras áreas, como la vía auditiva en el tronco del encéfalo (núcleo trapezoide; Brew y cols., 2003) y la corteza parietal (van Brederode y cols., 2001), podría sugerir una activación hipocampal refleja similar a la descrita en modelos de kindling audiogénico (García-Cairasco, 2002). Por lo tanto, es posible que en los diferentes modelos de canalopatías estudiados, el fenotipo ELT esté vinculado a un proceso de epileptogénesis iniciado por la progresiva participación del hipocampo y la región para-hipocampal en las crisis epilépticas.

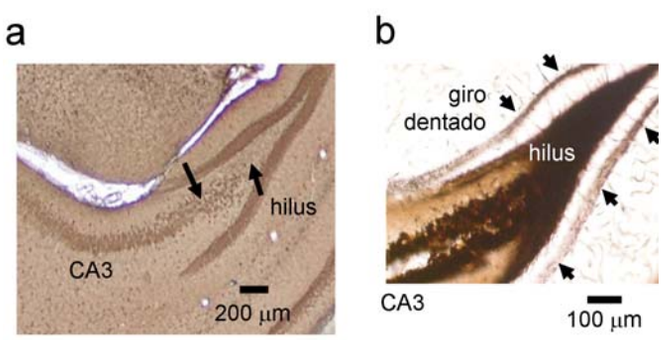


Figura 1.
La esclerosis de hipocampo constituye la patología más común en la epilepsia del lóbulo temporal. La esclerosis se caracteriza por la muerte celular en el hilus y en la región CA3 y se detecta con inmunohistoquímica contra la proteína neuronal NeuN (a). En animales experimentales, la esclerosis también va asociada con la proliferación de colaterales axónicos de las fibras musgosas que re-inervan a las propias células granulares. Este fenómeno se detecta con la tinción de metales pesados (tinción de Timm) y aparece como una doble banda oscura que rodea la capa granular del giro dentado (b). Las imágenes se corresponden con material obtenido de ratones epilépticos inducidos por el modelo de status.

Una manera de aclarar este supuesto es utilizar abordajes genéticos con un buen control espacial y temporal de la expresión los genes bajo estudio. Así, se ha utilizado el sistema tet-off para generar ratones en los que se controla temporalmente la co-expresión de una subunidad KCNQ2 mutante con otras subunidades nativas, para suprimir la actividad de los canales de K^+ tipo M (Peters y cols., 2005). En estos animales se observaron crisis parciales tónico-clónicas similares a las descritas en el modelo de status si el sistema de expresión era activado a las dos semanas post-natales. Sin embargo, los animales permanecían asintomáticos si el sistema de expresión se activaba a edades adultas, aunque los estudios electrofisiológicos confirmaban la presencia de anormalidades en el EEG hipocampal. La supresión de la corriente M provoca incrementos en la excitabilidad a través de una reducción de la adaptación del disparo y una menor post-hiperpolarización (Peters y cols. 2005). Por tanto, la epilepsia en estos animales parece ser el resultado de defectos en el desarrollo causados por la supresión perinatal de la corriente M y no estaría directamente relacionada con el incremento de la excitabilidad. Lo interesante en este modelo, es que ninguno de los animales mostró las alteraciones estructurales típicas de la ELT (muerte neuronal y sprouting). Esto refuerza la idea de que las alteraciones morfológicas asociadas con la esclerosis, son una consecuencia de las crisis prolongadas y no constituyen una condición necesaria para las crisis de origen límbico.

Por lo tanto, aunque clínicamente no se ha establecido una relación clara entre diversos tipos de canalopatías y la ELT, los estudios con ratones portadores de mutaciones en genes que controlan la expresión de canales iónicos parecen sugerir que, ante un aumento generalizado de la excitabilidad el sistema límbico, podría participar en las crisis iniciales y en el posterior proceso de epileptogénesis que subyace al establecimiento de un fenotipo epiléptico. Nótese, sin embargo, que los resultados de una aproximación de expresión condicional sugieren que tales efectos pro-epileptógenos estarían más relacionados con defectos a lo largo del desarrollo que con la propia hiperexcitabilidad asociada a la canalopatía.

Esclerosis y ELT

Una cuestión que se plantea en los estudios actuales sobre la ELT es hasta qué punto el hipocampo esclerótico constituye la región responsable de las crisis epilépticas. Los resultados quirúrgicos, con cerca de un 60% de casos libres de crisis, parecen avalar la hipótesis de una participación clave del hipocampo (Lüders, 1992). Sin embargo, las investigaciones en pacientes de ELT cada vez apoyan más la idea de la multifocalidad de las crisis, afectando a regiones relativamente extensas del lóbulo temporal, la amígdala y la zona para-hipocampal, estructuras típicamente resecadas durante la cirugía (Zumsteg y cols., 2006; Pastor y cols., 2006) ¿Es, por tanto, el hipocampo esclerótico el circuito iniciador de las crisis en la ELT?

El ratón stargazer es un mutante deficiente en la expresión de la proteína transmembrana stargazina, reguladora del receptor AMPA (Noebels y cols., 1990). Estos animales, que también expresan formas alteradas de los canales de Ca^{2+} (Letts y cols., 1998), experimentan crisis de ausencia que involucran el circuito tálamo-cortical (Noebels y cols., 1990). Curiosamente, se ha visto que la actividad epiléptica asociada con estas crisis invade el hipocampo provocando la activación prolongada de las células granulares del giro dentado, que desarrollan sprouting de las fibras musgosas (Qiao y Noebels, 1996). Estudios in vitro en rodajas de hipocampo revelan la presencia de alteraciones en la excitabilidad, consistentes en la prolongación de las respuestas postsinápticas (Helekar y Noebels, 1991). Resultados similares han sido descritos para el tottering, un ratón que exhibe una mutación espontánea en el gen que codifica una subunidad del canal de calcio dependiente de voltaje P/Q (Kostopoulos y Psarropoulou, 1990; Helekar y Noebels, 1994). Sin embargo, en ninguno de estos animales se ha probado consistentemente la existencia de crisis focales de origen hipocampal. Esto apunta, una vez más, a que tanto el sprouting como las alteraciones reflejas en la excitabilidad del hipocampo, resultan insuficientes para originar crisis epilépticas en esta región, a pesar de que el hipocampo participe de los circuitos de propagación.

Los ratones deficientes en sinapsina I generados por recombinación homóloga muestran una mayor repuesta a kindling de amígdala, pero no crisis espontáneas (Li y cols., 1995). Este fenotipo resulta interesante desde el punto de vista clínico, puesto que se ha identificado una mutación en el gen que codifica para esta proteína en una familia con epilepsia (Garcia y cols., 2004). En el hipocampo de estos animales se ha registrado un incremento en la facilitación por pares de pulsos, una forma de plasticidad a corto plazo controlada por mecanismos pre- (Ca^{2+}) y post-sinápticos (inhibición; Terada y cols., 1999). Estudios electrofisiológicos han mostrado que la liberación cuantal de neurotransmisor está reducida específicamente en las sinapsis GABAérgicas procedentes de las interneuronas del stratus oriens (Terada y cols., 1999). Es, por tanto, esta disminución de la inhibición, la responsable del incremento de las respuestas post-sinápticas que subyacen al menor umbral de kindling en estos animales. Sin embargo, parece ser que, por sí mismo, este mecanismo no resulta suficiente para iniciar crisis espontáneas en estos mutantes.

Consecuentemente, toda la evidencia sugiere que la participación aguda del hipocampo en las crisis epilépticas podría constituir un epifenómeno relacionado con su mayor tendencia a la hiperexcitabilidad refleja. De hecho, los estudios electrofisiológicos en modelos de kindling sugieren que son otras las estructuras claves en la iniciación de crisis parciales de tipo tónico-clónico, antes de que aparezcan las manifestaciones de esclerosis (Piredda y Gale., 1985). En este sentido está resultando muy útil la caracterización del ratón EL/Suz, un modelo de crisis parciales idiopáticas ampliamente estudiado (Leussis y Heinrichs, 2007). Esta línea transgénica resulta de la presencia de mutaciones en diferentes loci genéticos y constituye un modelo de epilepsia multifactorial. Los ratones EL/Suz muestran un alta susceptibilidad a las crisis inducidas por manipulación experimental a partir de los 90 días postnatales y en ellos se detecta una intensa gliosis hipocampal en ausencia de muerte celular (Leussis y Heinrichs, 2007). El estudio de genes de expresión temprana ha demostrado que las primeras regiones en activarse son, en este orden: la corteza motora primaria, el septum, el locus ceruleus y las cortezas pre-frontal y piriforme hacia los días 20 y 35 pre-convulsiones, seguidos por el hipocampo y la amígdala hacia los 70 días.

Datos similares se obtienen del estudio de ratones deficientes en la expresión de las isoformas GAD65 y GAD67 de la decarboxilasa del ácido glutámico (Kash y cols., 1997). A diferencia de los GAD67-/-, los ratones GAD65-/- son viables y no muestran cambios morfológicos claros en el adulto, aunque sí un déficit significativo en la función GABAérgica en amígdala y corteza parietal (Stork y cols., 2000). Estos animales exhiben una alta susceptibilidad a crisis de origen límbico provocadas por picrotoxina o pentilenetetrazol y desarrollan crisis espontáneas o inducidas por estrés moderado. La participación de los circuitos del sistema límbico se confirma por estudios de expresión de c-fos que muestran incrementos significativos en estructuras para-hipocampales, como la corteza entorrinal y piriforme, dos horas después del registro de las primeras crisis espontáneas (Kash y cols., 1997).

Todos estos datos dan soporte a la idea de que algunas crisis de fenotipo límbico pueden ser iniciadas por descargas originadas en la corteza piriforme y perirrinal, así como en otras estructuras de la región temporal, antes de invadir el hipocampo (Piredda y Gale, 1985). Estos niveles patológicos de actividad se traducirían, posteriormente, en mecanismos moleculares y celulares desencadenantes de un proceso de epileptogénesis en el propio hipocampo y toda la región para-hipocampal. Esta idea se refuerza con los datos obtenidos de knockouts condicionales de TrkB que, a pesar de ser capaces de expresar crisis tónico-clónicas en respuesta a la estimulación eléctrica, no desarrollan ELT (Kotloski y cols., 2004), demostrando que los mecanismos subyacentes a las crisis y la epileptogénesis constituyen procesos independientes.

No es oro todo lo que reluce

Este breve repaso por algunos de los modelos transgénicos con fenotipos epilépticos sugiere que no todos estos animales pueden ser considerados modelos reales de ELT, a pesar de que se demuestre la participación del hipocampo en las crisis. Por otro lado, cada vez hay más evidencias que demuestran que el fenotipo asociado a una mutación específica puede estar modulado por el fondo genético utilizado (Schauwecker, 2002). Este aspecto parece relevante a la luz de nuevos datos que sugieren el enmascaramiento de fenotipos epilépticos a través de la combinación de mutaciones. Por ejemplo, se ha demostrado que el incremento de la excitabilidad provocado por la deleción del canal de potasio codificado por el gen KCNA1 enmascara el fenotipo epiléptico causado por una mutación en el gen CACNA1A (Glasscock y cols., 2007).

Sin embargo, a pesar de estos comentarios, el estudio de estos

Definiciones y términos

Epilepsia idiopática. Epilepsia generalmente convulsiva en la que no se identifican lesiones estructurales en el cerebro ni anormalidades neurológicas. Se presume generalmente un origen genético

Crisis generalizadas Crisis que involucran simultáneamente a ambos hemisferios cerebrales sin poder identificarse un origen focal. Están asociadas con pérdida de conciencia

Crisis tónico-clónicas Es un tipo muy común de crisis generalizadas en las que se registra rigidez en las extremidades (fase tónica) seguidas por sacudidas (fase clónica)

Crisis parciales Crisis que se originan generalmente en sitios localizados del cerebro. Las crisis parciales simples son aquellas en las que no hay pérdida de conciencia. Las crisis parciales complejas sí presentan alteraciones de la conciencia.

Status epilepticus Se define como aquella condición caracterizada por crisis continuas parciales o generalizadas, convulsivas o no convulsivas durante un tiempo mínimo de 30 minutos de crisis intermitentes sin una recuperación completa de la conciencia

Kindling Es un proceso experimental de inducción de crisis epilépticas por medio de estimulación eléctrica suave y repetida

Kindling audiogénico Se utiliza un sonido repetido para inducir crisis epilépticas experimentalmente

Knockout Ratón modificado por ingeniería genética para que uno o más de sus genes estén inactivados.

fenotipos resulta de gran utilidad para comprender cuál es la relación entre esclerosis y ELT. Está claro que el desarrollo de fenotipos epilépticos en ratones transgénicos no está sólo determinado por el efecto de la mutación bajo estudio, sino que es importante ponderar el papel de toda una serie de mecanismos compensatorios que modulan sustancialmente el desarrollo de la epilepsia en estos animales. Habría que separar, en cada caso, los efectos agudos de una participación del hipocampo en las crisis electrográficas de procesos genuinamente epileptógenos que involucran mecanismos de plasticidad en los circuitos del sistema límbico y el establecimiento de la ELT. Esto no tiene por qué ser necesariamente un handicap de los abordajes genéticos, sino que deberíamos convertirlo en una herramienta más que nos permita comprender mejor las bases de esta enfermedad neurológica.

Referencias

-Asada H, Kawamura Y, Maruyama K, Kume H, Ding R, Ji FY, Kanbara N, Kuzume H, Sanbo M, Yagi T, Obata K. (1996). Mice lacking the 65 kDa isoform of glutamic acid decarboxylase (GAD65) maintain normal levels of GAD67 and GABA in their brains but are susceptible to seizures. Biochem Biophys Res Commun 229, 891-895.

-Babb TL, WJ Brown. (1987). Pathological findings in epilepsy. En: Engel J Jr, ed. Surgical Treatment of the Epilepsies. New York: Raven Press 511–540

-Biervert C, Schroeder BC, Kubisch C, Berkovic SF, Propping SP, Jentsch TJ, Steinlein OK. (1998). A potassium channel mutation in neonatal human epilepsy. Science 279, 403–406

-Brew HM, Hallows JL, Tempel BL. (2003). Hyperexcitability and reduced low threshold potassium currents in auditory neurons of mice lacking the channel subunit Kv1.1. J Physiol, 548, 1-20.

-Charlier C, Singh NA, Ryan SG, Lewis TB, Reus BE, Leach RG, Leppert M. (1998). A pore mutation in a novel KQT-like potassium channel gene in an idiopathic epilepsy family. Nat Genet 18, 53–55

-El Bahh B, Lespinet V, Lurton D, Coussemacq M, Le Gal La Salle G, Rougier A. (1999). Correlation between granule cell dispersion, mossy fiber sprouting and hippocam pal cell loss in temporal lobe epilepsy. Epilepsia 40, 1393-1401

-Engel J Jr.(1996). Introduction to temporal lobe epilepsy. Epilepsy Res. 26, 141-50

-Garcia CC, Blair HJ, Seager M, Coulthard A, Tennant S, Buddles M, Curtis A, Goodship JA. (2004). Identification of a mutation in synapsin I, a synaptic vesicle protein, in a family with epilepsy. J Med Genet 41, 183-186

-Garcia-Cairasco N. (2002). A critical review on the participation of inferior colliculus in acoustic-motor and acoustic-limbic networks involved in the expression of acute and kindled audiogenic seizures. Hear Res 168, 208-222

-Glasscock E, Qian J, Yoo JW, Noebels JL. (2007). Masking epilepsy by combining two epilepsy genes. Nat Neurosci, 10, 1554-1558.

-He XP, Kotloski R, Nef S, Luikart BW, Parada LF, McNamara JO. (2004). Conditional deletion of TrkB but not BDNF prevents epileptogenesis in the kindling model. Neuron 43, 31-42

-Helekar SA, Noebels JL. (1991). Synchronous hippocampal bursting reveals network excitability defects in an epilepsy gene mutation. PNAS 88, 4736-4740.

-Helekar SA, Noebels JL. (1994). Analysis of voltage-gated and synaptic conductances contributing to network excitability defects in the mutant mouse tottering. J Neurophysiol 71, 1-10.

-Heron SE, Phillips HA, Mulley JC, Mazarib A, Neufeld MY, Berkovic SF, Scheffer IE. (2004). Genetic variation of CACNA1H in idiopathic generalized epilepsy. Ann Neurol 55, 595-596

-Kash SF, Johnson RS, Tecott LH, Noebels JL, Mayfield RD, Hanahan D, Baekkeskov S. (1997). Epilepsy in mice deficient in the 65-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase. PNAS 94, 14060-14065

-Keamey JA, Plummer NW, Smith MR, Kapur J, Cummins TR, Waxman SG, Goldin AL, Meisler MH. (2001). A gain-of-function mutation in the sodium chanels gene Scn2a results in seizures and behavioural anormalities. Neuroscience 102, 307-317

-Kostopoulos G, Psarropoulou C. (1990). Increased postsynaptic excitability in hippocampal slices from the tottering epileptic mutant mouse. Epilepsy Res 6, 49-55.

-Letts VA, Felix R, Biddlecome GH, Arikkath J, Mahaffey CL, Valenzuela A, Bartlett II FS, Mori Y, Kampbell KP, Frankel WN. (1998). The mouse stargazer gene encodes a neuronal Ca2+-channel gamma subunit. Nat Genet 19, 340-347.

-Leussis MP, Heinrichs SC. (2007). Temporal ontogeny of circuit activation prior to the onset of seizure susceptibility in EL/Suz mice. Neuroscience 145, 33-41

-Li L, Chin LS, Shupliakov O, Brodin L, Sihra TS, Hvalby O, Jensen V, Zheng D, McNamara JO, Greengard P, et al. (1995). Impairment of synaptic vesicle clustering and of synaptic transmission, and increased seizure propensity, in synapsin I-deficient mice. PNAS 92, 9235-9239.

-Lopantsev V, Tempel BL, Schwartzkroin PA. (2003). Hyperexcitability of CA3 pyramidal cells in mice lacking the potassium channel subunit Kv1.1. Epilepsia 44,1506-1512

-Lüders, HO (1992) Epilepsy Surgery. 1rst Edition. New York: Raven Press.

-Meadows LS, Malhotra J, Loukas A, Thyagarajan V, Kazen-Gillespie KA, Koopman MC, Kriegler S, Isom L, Ragsdale DS. (2002). Functional and biochemical analysis of a sodium channel beta1 subunit mutation responsible for generalized epilepsy with febrile seizures plus type 1. J Neurosci 22:10699–709

-Noebels JL, Qiao X, Bronson RT, Spencer C, Davisson MT. (1990). Stargazer: a new neurological mutant on chromosome 15 in the mouse with prolonged cortical seizures. Epilepsy Res 7, 129-135

-Pastor J, Menendez de la Prida L, Hernando V, Sola RG. (2006). Voltage sources in mesial temporal lobe epilepsy recorded with foramen ovale electrodes. Clin Neurophysiol 117, 2604-2614

-Peters HC, Hu H, Pongs O, Storm JF, Isbrandt D. (2005). Conditional transgenic suppression of M channels in mouse brain reveals functions in neuronal excitability, resonance and behavior.

-Piredda S, Gale K. (1985). A crucial epileptogenic site in the deep prepiriform cortex. Nature. 317, 623-625.

-Qiao X, Noebels JL. (1993). Developmental analysis of hippocampal mossy fiber outgrowth in a mutant mouse with inherited spike-wave seizures.J Neurosci 13, 4622-4635.

-Schauwecker PE. (2002). Complications associated with genetic background effects in models of experimental epilepsy. Prog Brain Res 135,139-148

-Scheffer IE, Harkin LA, Grinton BE, Dibbens LM, Turner SJ, Zielinski MA, Xu R, Jackson G, Adams J, Connellan M, Petrou S, Wellard RM, Briellmann RS, Wallace RH, Mulley JC, Berkovic SF. (2007). Temporal lobe epilepsy and GEFS+ phenotypes associated with SCN1B mutations. Brain 130, 100-109.

-Scheuer P,. Shrager W, Catterall A, Isom LL. (2004). Mice lacking sodium channel beta1 subunits display defects in neuronal excitability, sodium channel expression, and nodal architecture, J Neurosci. 24, 4030–4042.

-Singh R, Scheffer IE, Crossland K, Berkovic SF. (1999). Generalized epilepsy with febrile seizures plus: a common, childhood onset, genetic epilepsy syndrome. Ann Neurol 45, 75–81

-Smart SL, Lopantsev V, Zhang CL, Robbins CA, Wang H, Chiu SY, Schwartzkroin PA, Messing A, Tempel BL (1998) Deletion of the K(V)1.1 potassium channel causes epilepsy in mice. Neuron 20, 809-819

-Stork O, Ji FY, Kaneko K, Stork S, Yoshinobu Y, Moriya T, Shibata S, Obata K. (2000). Postnatal development of a GABA deficit and disturbance of neural functions in mice lacking GAD65. Brain Res 865, 45-58.

-Sutula TG, Cascino J, Cavazos I, Parada L, Ramirez L. (1989). Mossy fiber synaptic reorganization in the epileptic human temporal lobe. Ann. Neurol. 26, 321–330.

-Terada S, Tsujimoto T, Takei Y, Takahashi T, Hirokawa N. (1999). Impairment of inhibitory synaptic transmission in mice lacking synapsin I. J Cell Biol 145, 1039-1048.

-van Brederode JF, Rho JM, Cerne R, Tempel BL, Spain WJ. (2001). Evidence of altered inhibition in layer V pyramidal neurons from neocortex of Kcna1-null mice. Neuroscience 103, 921-929.

-Wallace RH, Wang DW, Singh R, Scheffer IE, George AL Jr, Phillips HA, et al. (1998). Febrile seizures and generalized epilepsy associated with a mutation in the Na+channel beta1 subunit gene SCN1B. Nat Genet 19, 366–370

-Wenzel HJ, Vacher H, Clark E, Trimmer JS, Lee AL, Sapolsky RM, Tempel BL, Schwartzkroin PA. (2007). Structural consequences of Kcna1 gene deletion and transfer in the mouse hippocampus. Epilepsia. 48, 2023-46.

-Yu FH, Mantegazza M, Westenbroek RE, Robbins CA, Kalume F, Burton KA, Spain WJ, McKnight GS, Scheuer T, Catterall WA. (2006). Reduced sodium current in GABAergic interneurons in a mouse model of severe myoclonic epilepsy in infancy. Nat Neurosci 9, 1142-1149

-Yus-Nájera E, Muñoz A, Salvador N, Jensen BS, Rasmussen HB, Defelipe J, Villarroel A. (2003). Localization of KCNQ5 in the normal and epileptic human temporal neocortex and hippocampal formation. Neuroscience 120, 353-364.

-Zumsteg D, Friedman A, Wieser HG, Wennberg RA. (2006). Propagation of interictal discharges in temporal lobe epilepsy: correlation of spatiotemporal mapping with intracranial foramen ovale electrode recordings. Clin Neurophysiol 117, 2615-2626

Liset Menéndez de la Prida
Instituto Cajal-CSIC. Ave. Doctor Arce, 37. Madrid 28002. España.
Instituto Cajal – CSIC
Ave. Doctor Arce, 37
Madrid 28002

Tel: 91 585 4359 · Fax: 91 585 4754
lmprida@cajal.csic.es

Dada la ubicuidad de los estímulos mecánicos, su detección podría representar uno de los procesos de transducción más antiguos desarrollado en los organismos vivos. Se podría pensar en un mecanismo universal de transducción mecánica y suponer que el elemento que primero detecta el estímulo es esencialmente el mismo, siendo lo único diferente el entorno. Otra posibilidad sería que existieran diferentes tipos de mecanorreceptores, que utilizan principios biofísicos similares, pero diferentes mecanismos moleculares que han ido apareciendo independientemente a lo largo de la evolución.

Mecanismos moleculares de la mecanotransducción

Ana Gomis

Para muchos animales, incluidos los humanos, alguno de los procesos fisiológicos más importantes, ocurren a través de los estímulos mecánicos. No sólo el cortejo y la reproducción, sino también el movimiento, dependen de la transformación de energía mecánica en corrientes iónicas para dar lugar a las sensaciones de tacto, sonido y control de la tensión muscular. Los insectos oyen; al tocar a un gusano éste responde con un espasmo y al rozar a las anémonas se contraen. Además del oído y la piel, los animales tienen muchos otros mecanosensores, por ejemplo el órgano circumventricular (que controla la osmolaridad sistémica), los barorreceptores (que detectan la presión sanguínea), receptores de los husos musculares (que controlan el estiramiento del músculo), los propioceptores (que detectan la posición del cuerpo), etc. (Hamill y Martinac, 2001). Ya que los estímulos mecánicos son ubicuos, su detección puede representar uno de los procesos de transducción más antiguos que se han desarrollado en los organismos vivos y el conocimiento de sus mecanismos moleculares ha sido más lento que en otros sentidos. En cuanto a los mecanismos implicados en la olfacción, visión y algunos tipos de gusto, las moléculas responsables de estos procesos son segundos mensajeros activados por receptores acoplados a proteínas G (Arshavsky y cols., 2002), y parecen estar conservadas a nivel evolutivo. Según esto, se podría pensar en un mecanismo universal de transducción mecánica y suponer que el elemento que primero detecta el estímulo es esencialmente el mismo, siendo lo único diferente el entorno. Otra posibilidad sería que existieran diferentes tipos de mecanorreceptores que utilizan principios biofísicos similares, pero diferentes mecanismos moleculares que han ido apareciendo independientemente a lo largo de la evolución. Los datos moleculares disponibles sugieren una multiplicidad en la estructura y en los mecanismos de los mecanorreceptores no sólo a nivel filogenético, sino también a nivel de organismos individuales, por lo que la segunda hipótesis parece ser la más probable (Sukharev y Corey, 2004).

Mecanismos generales de mecanotransducción

Actualmente se sabe poco acerca de las moléculas que detectan los cambios osmóticos, el tacto, la vibración o la textura. La idea de canales iónicos activados mecánicamente aparece originalmente de los estudios realizados en neuronas mecanosensoras por Katz, (1950). Los canales iónicos convierten la fuerza mecánica ejercida sobre la membrana celular en señales eléctricas o bioquímicas que participan en procesos fisiológicos tales como el control de la turgencia celular en bacterias y el tacto y audición en mamíferos (Hamill y Martinac, 2001; Garcia-Añoveros y Corey, 1997). Desde que los canales mecanosensibles se descubrieron en el músculo esquelético embrionario de pollo y en el músculo de rana, los canales mecanosensibles se han encontrado en muchos tipos celulares (Martinac, 2001). De hecho, las células que traducen estímulos mecánicos en señales eléctricas son los receptores sensoriales más comunes en los vertebrados.

A pesar de los pequeños avances en la identificación de las moléculas que inician la sensación mecánica, los mecanismos de transducción siguen sin conocerse. Se han propuesto varios mecanismos para explicar cómo las proteínas de membrana detectan las fuerzas mecánicas y/o los cambios en osmolaridad. En primer lugar, un cambio en las fuerzas que actúan sobre la membrana lipídica provoca, a su vez, cambios conformacionales en el canal. De esta manera, las fuerzas que actúan en la interfase lípido-proteína pueden activar el canal por estiramiento de la membrana (Kung, 2005; Pedersen y Nilius, 2007; Fig. 1A). Estos canales se encuentran en un gran número de bacterias y células eucariotas y engloban a diferentes familias de canales iónicos estructuralmente diferentes (Kung, 2005). Un modelo alternativo de activación directa propone que los canales están unidos al citoesqueleto o a la matriz extracelular y que la tensión entre esas uniones controlan la apertura del canal (Fig. 1B). Sin embargo, no está claro si las uniones están acopladas directamente a los dominios del canal o si están modulando las fuerzas que lo rodean. Este modelo surge de los estudios biofísicos realizados en células pilosas de los sistemas auditivos y vestibular (LeMasurier y Gillespie, 2005). Además, estudios genéticos en mutantes mecanosensores en Drosophila y Caenorhabditis elegans han permitido identificar una gran cantidad de candidatos moleculares que encajan en este modelo (Syntichaki y Tavernarakis, 2004).

Una tercera posibilidad es que cambios en el contenido de los lípidos específicos en la membrana, como fosfatidilcolinas, lisofosfatidilcolinas o ácido araquidónico y sus metabolitos, puedan alterar la estructura de la membrana que rodea al canal, induciendo un desajuste energético y la activación del mismo (Pedersen y Nilius, 2007; Fig. 1C). Una cuarta posibilidad se basa en que el estímulo mecánico o el estrés osmótico puedan disparar cascadas de señalización intracelular en las que intervendrían por ejemplo, el metabolismo de los lípidos, lo cual podría afectar a la activación del canal o a la inserción o separación del canal de la membrana. La estimulación mecánica o el estrés osmótico también provoca numerosos cambios en los procesos de fosforilación y defosforilación de proteínas, y se ha demostrado que algunos de ellos tienen un papel muy importante en la regulación osmótica y mecánica a través del trasporte de proteínas (Fig. 1D). Sin embargo, en ocasiones parece difícil diferenciar entre alguno de estos mecanismos. La distensión de la membrana celular que provoca un choque osmó-

Identidad molecular	Familia	Organismo	Estímulo
TREK TRAAK	Canales de K^+ 2p	Mamíferos	Mecánico
ASCI	DEG/ENaC	Mamíferos	Mecánico (tacto)
MEC-4/MEC 10	DEG/ENaC	C. elegans	Mecánico (tacto)
TRPC1	TRPC	Mamíferos/Xenopus	Mecánico
TRPC6	TRPC	Mamíferos	Mecánico y osmótico
TRPV1	TRPV	Mamíferos	Osmótico
TRPV2	TRPV	Mamíferos	Mecánico y osmótico
TRPV4	TRPV	Mamíferos	Osmótico (5',6'-EET)
TRPM3	TRPM	Mamíferos	Osmótico
TRPM4	TRPM	Mamíferos	Mecánico
TRPM7	TRPM	Mamíferos	Mecánico
TRPA1	TRPA	Mamíferos	Mecánico y osmótico
TRPN1 (NOMPC)	TRPN	Drosophila/peces y anfibios	Mecánico (tacto)
TRPP2	TRPP	Mamíferos	Mecánico

tico se puede asociar a la estimulación mecánica (mecanismo 1) o a interacciones con el citoesqueleto (Pedersen y cols., 2001; mecanismo 2). Cambios en el volumen celular también pueden iniciar mecanismos de señalización que implican el metabolismo de componentes de la membrana, los cuales pueden regular proteínas de membrana y alterar la curvatura de la membrana (Pedersen y Nilius, 2007).
Por otro lado, existe cierta controversia entre autores para establecer los criterios de activación mecánica, diferenciando entre canales activados mecánicamente y que actúan como sensores, y canales sensibles a la estimulación mecánica que se activan por segundos mensajeros. Para que un canal sea considerado un sensor mecánico, la latencia de la corriente evocada por el estímulo debería ser más rápida que la que se produce en los procesos activados por segundos mensajeros, normalmente menos de 5 ms. La cinética de la activación del canal debe depender de la amplitud del estímulo, es decir, a mayor intensidad del estímulo, menor latencia. Y como tercer requisito, debería existir una correlación mecánica entre el canal y el estímulo, es decir, que alguna parte del canal o de alguna subunidad asociada acoplada al sitio de activación del canal se tiene que mover en respuesta al estímulo y este movimiento debe ser detectable (Christensen y Corey, 2007).
Finalmente, y a pesar de los diferentes criterios de evaluación de los estímulos mecánicos y los modos de activación, parece claro que la sensibilidad de las moléculas a los estímulos mecánicos o cambios osmóticos o de volumen están relacionados de una forma compleja a pesar de ser entidades moleculares diferentes desde el punto de vista biofísico.

Transductores moleculares de estímulos mecánicos

En los últimos años se ha conseguido avanzar hacia la identificación de las moléculas implicadas en la detección de los estímulos mecánicos. Esto ha sido posible por la utilización de técnicas genéticas, genómicas y electrofisiológicas tanto en vertebrados como en invertebrados (Tabla 1).

Canales de potasio
En la década de los noventa se identificaron y se caracterizaron electrofisiológicamente como canales mecanosensibles varios miembros de la familia de los canales de potasio de doble poro. Estos canales fundamentalmente dan lugar a corrientes de fuga y su función principal es mantener el potencial de membrana en reposo. TREK-1 y TRAAK pertenecen a una subfamilia de estos canales que se activan de forma reversible en respuesta al estiramiento de la membrana (Patel y cols., 1998). Los canales TREK son polimodales y se activan por diferentes estímulos tanto físicos, como el estiramiento, los cambios osmóticos, la acidosis intracelular, el calor y el voltaje (Maingret y cols., 2002), como por estímulos químicos, como ácidos grasos poliinsaturados, lisofosfolipidos, lípidos cargados negativamente como PIP2 o el ácido fosfatídico, sustancias que modifican la curvatura de la membrana y anestésicos volátiles (Patel y cols., 1998; Chemin y cols., 2005). Este canal se expresa en varios tejidos, pero es particularmente abundante en cerebro y corazón. La polimodalidad de este canal indica que a nivel del sistema nervioso puede tener un papel importante desde el punto de vista fisiológico (electrogénesis), patofisiológico (isquemia) y farmacológico (anestesia) (Martinac, 2004).
TRAAK es similar a TREK en que se activa por ácido araquidónico, por la aplicación de sustancias anfipáticas que modifican la curvatura de la membrana y por cambios en la tensión de la membrana plasmática. Este canal se expresa en cerebro, médula espinal y retina, lo cual sugiere que su función puede ir más allá de la mecanotransducción (Martinac, 2004).

Canales DEG/ENaC
Posiblemente, el primer grupo de canales iónicos que se ha implicado en la sensación mecánica en eucariotas sea la superfamilia de los canales DEG/ENAC, que engloba a los canales de sodio implicados en el transporte epitelial y sensibles a amiloride (ENaCs), a las degenerinas (DEGs), a los canales sensibles a ácidos que se expresan en neuronas de vertebrados (ASICs) y a los PPKs en Drosophila. Las evidencias de que algunos de estos canales iónicos se pudieran activar por estimulación mecánica, se obtuvieron de un cribado de mutaciones en C. elegans insensibles a la detección del tacto de muy bajo umbral (Chalfie y Sulston, 1981; Syntichaki y Tavernarakis, 2004; Goodman, 2006). La utilización de técnicas electrofisiológicas y de imagen mostraron que el canal transductor del tacto en C. elegans es un complejo formado por las subunidades MEC-4 y MEC-10 y de dos subunidades accesorias MEC-2 y MEC-6 de los canales de Na^+ DEG/ENaC (Sukharev y Corey, 2004; Martinac, 2004; Goodman, 2006).
Los estudios realizados con algunas moléculas relacionadas con las proteínas MEC (SLP3 y ASIC3) indican que éstas también estarían implicadas en la detección del tacto en mamíferos (Wetzel y cols., 2007), aunque los resultados con los dobles mutantes para ASIC2 y ASIC3 en ratón indican que estos canales no contribuyen a la mecanotransducción (Drew y cols., 2004).

Canales TRPS
Los canales TRP (Transient Receptor Potential) son los únicos sensores celulares que responden a una gran variedad de señales, tanto extra como intracelulares, incluyendo la estimulación mecánica y el estrés osmótico. Los más de 20 canales de la familia de canales TRP se engloban en 7 subfamilias basándose en la homología de su secuencia: TRPC (canónica), TRPV (vaniloide), TRPM (melastatina), TRPA (ankirina), TRPN (NOMPC), TRPP (policisteína) y TRPML (mucolipina). La mayoría de los canales TRPs se activan por estímulos físicos y químicos a través de diferentes mecanismos moleculares (Venkatachalam y Montell, 2007). La primera evidencia que implica a un canal TRP en la transducción sensorial mecánica proviene de la mutación del gen osm-9 en C. elegans, el cual codifica para canales de la familia TRPV. Los gusanos con mutaciones en este canal no reaccionaban ni a valores altos de osmolaridad ni al tacto (Colbert y cols., 1997).
De entre todos los canales TRP, se han encontrado varias subfamilias que responden a diferentes formas de estrés mecánico, incluyendo el estrés provocado por el cambio físico del medio en el que se encuentra la célula (viscosidad y flujo) y el aumento de la tensión de la membrana provocado por estiramiento.
Entre la subfamilia de los canales TRPC, TRPC1 y TRPC6 se activan por el estiramiento de la membrana inducido de forma mecánica u osmótica (Maroto y cols., 2005; Spassova y cols., 2006). Ambos canales de expresan en células de músculo liso, por lo que podrían ser importantes en el control del tono vascular. Sin embargo, un trabajo reciente cuestiona la funcionalidad de estos canales como mecanosensores por varias razones. La primera es que, la amplitud de las corrientes en respuesta el estímulo no aumenta con la sobre-expresión de la proteína. Por otro lado, los ratones knock-out de estos canales no presentan un fenotipo diferente, y por último, existen respuestas basales a el estímulo mecánico en las líneas celulares utilizadas, por lo que será necesario realizar otros estudios para determinar la mecanosensibilidad de estos canales en células del músculo liso.
Varios canales TRPV son sensibles al estímulo mecánico o a volumen/cambio osmótico. TRPV1 es necesario para la respuesta de las neuronas osmosensoras del órgano vasculoso de la lámina terminal (OVLT), el primer osmosensor en el cerebro (Ciura y Bourque, 2006) y para el control del reflejo de la micción en la vejiga (Birder y cols., 2002).
TRPV2 se activa por estiramiento de la membrana, funcionando como un mecanosensor en las células del músculo liso vas-

cular y por estimulación hipoosmótica (Beech y cols., 2004). Se ha sugerido que la activación mecánica de este canal está relacionada con la degeneración del músculo cardíaco causada por la disrupción del complejo distrofina-glicoproteína (Iwata y cols., 2003); sin embargo, el mecanismo de activación no se ha establecido.

TRPV4 fue el primer canal descrito como un canal catiónico permeable a calcio y activado por volumen (Strotmann y cols., 2000). Posteriormente se ha demostrado que la activación de este canal por hinchamiento celular está mediada por el metabolito del ácido araquidónico (5',6'-EET) (Vriens y cols., 2004). Se ha demostrado la participación del canal TRPV4 en la regulación del volumen celular. La activación de TRPV4 inducida por hinchamiento celular no se produce en las células epiteliales de las vías respiratorias afectadas con fibrosis quística, por lo que se sugiere que este canal pudiera ser útil como diana farmacológica en el tratamiento de esta enfermedad (Arniges y cols., 2004). Además, el canal TRPV4 contribuye a la activación de los mecanorrceptores cutáneos de alto umbral (Alessandri-Haber y cols., 2004) y a la regulación hipotalámica (Liedtke, 2007).

En la subfamilia de canales TRPM, existen algunas variantes del canal TRPM3 que se estimulan por hinchamiento celular provocado por hipotonicidad (Grimm y cols., 2003) y el canal TRPM4 se ha descrito como un canal sensible a estiramiento mecánico implicado en el control de la despolarización inducida por presión en células del músculo liso, y en la vasoconstricción miogénica en las arterias cerebrales y en las células del músculo liso vascular (Dietrich y cols., 2006). Sin embargo, los mecanismos de activación para estos dos canales se desconocen, de momento.

El canal TRPM7 se ha considerado un candidato a ser mecanotrasductor en varios tipos celulares, ya que se activa directamente por estiramiento de la membrana (Numata y cols., 2007).

El canal TRPA1 ha estado considerado como un canal mecanosensible necesario para la audición en mamíferos (Corey y cols., 2004). Sin embargo, en ratones knock-out para este canal no se observó ninguna deficiencia en el sistema auditivo (Kwan y cols., 2006). A pesar de ello, el canal TRPA1 podría estar implicado en otras funciones fisiológicas (Corey, 2006; Zhang y cols., 2008).

TRPN1 (originalmente llamado NOMPC) es necesario para la sensibilidad al tacto de las cerdas en Drosophila (Walker y cols., 2000) y en las células pilosas del sistema auditivo en peces y anfibios (Sidi y cols., 2003) aunque no se encuentra en el genoma de reptiles, pájaros y mamíferos.

Finalmente, el canal TRPP2 (proteína relacionada con el síndrome de riñón poliquístico) está implicado en la mecanotransducción en las células ciliadas en el riñón (Palmer y cols., 2001).

Mecanotransducción y dolor

Las terminales nerviosas sensoriales responden a los estímulos mecánicos y parecen ser esenciales para el tacto, la propiocepción y la sensación dolorosa. Las neuronas sensoriales se activan en función de la intensidad del estímulo aplicado sobre sus terminales. Las terminales sensibles al tacto o al desplazamiento se corresponden con los mecanorreceptores de bajo umbral. El estímulo mecánico que causa dolor puede ser un estímulo intenso, como un pinchazo en la piel, una lesión traumática o incluso una ligera presión en situaciones de neuropatías. En el primer caso, son las neuronas nociceptivas las que detectan el estímulo mecánico intenso y su activación da lugar al dolor mecánico agudo. En el caso del dolor neuropático, parece ser que se produce una reorganización de las conexiones sinápticas en la médula espinal y, en ese caso, una activación de los mecanorreceptores de bajo umbral daría lugar a la sensación dolorosa. Una cuestión sin resolver es saber qué

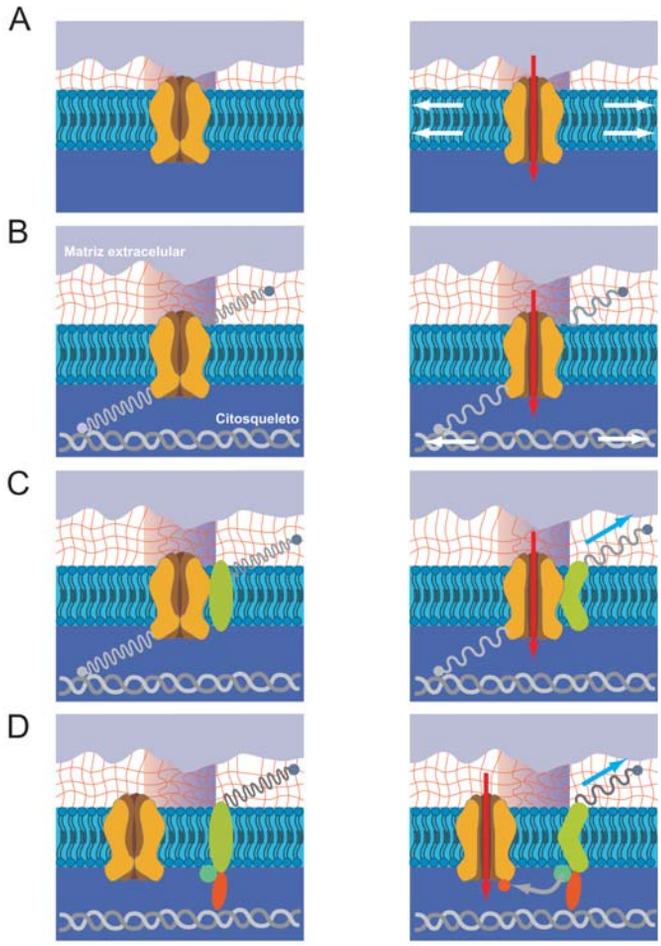


Figura 1.
Posibles mecanismos de activación mecánica. A. Cualquier canal de la membrana plasmática está expuesto a fuerzas laterales o tensión, producidas por modificaciones en la bicapa lipídica (indicadas por las flechas) que puede causar la activación del canal. B. Activación del canal a través de la interacción con elementos intracelulares del citoesqueleto o estructuras de la matriz extracelular. Esta interacción puede ser directa (B) o a través de proteínas asociadas al canal (C). D. Activación del canal a través de una señal secundaria producida por la activación de otra proteína que actúa de sensor.(Para más detalles ver texto; Figura modificada de Christensen and Corey, 2007).

es lo que determina el umbral de los mecanorreceptores, es decir, que unos respondan a estímulos inocuos y otros a estímulos nocivos. Se plantean varias hipótesis: puede ser que los cambios en el umbral de los mecanorreceptores reflejen la activación de diferentes sensores, que se produzca una modulación diferente del mismo sensor o que existan diferencias en su densidad o entre las interacciones entre el sensor y las estructuras que rodean a los receptores.

El tamaño de la terminal nerviosa es demasiado pequeño (y existen problemas técnicos para poder caracterizar sus propiedades biofísicas). Sin embargo, los registros en fibras nerviosas han permitido establecer una clasificación de los mecanorreceptores en función de su velocidad de conducción. Además, el registro electrofisiológico realizado en el soma de las neuronas sensoriales se extrapola a lo que ocurriría en la terminal nerviosa, permitiendo así el estudio de los posibles canales iónicos implicados. Así, el tacto está mediado principalmente por fibras nerviosas Aβ, que son fibras mecánicas de bajo umbral cuya respuesta al estímulo puede ser de adaptación rápida (RA) o adaptación lenta (SA). La percepción dolorosa se inicia por la activación de fibras C de alto umbral y fibras Aδ que pueden ser polimodales o sólo mecánicas (Lewin y Moshourab, 2004).

La sensación mecánica se atribuye principalmente a las neuronas de los ganglios raquídeos y trigéminos, y muchos laboratorios han dedicado su trabajo a identificar las moléculas o

canales iónicos responsables de la sensación del tacto y dolor en mamíferos. El canal TRPA1 era un candidato muy prometedor; sin embargo, en los estudios realizados en ratones knockout no se observó ninguna deficiencia en la sensibilidad al estímulo doloroso, aunque sí parece ser importante para la hipersensibilidad al tacto y al calor en situaciones de inflamación (Bautista y cols., 2006). TRPV1 podría estar implicado en hipersensibilidad mecánica, aunque los datos son muy controvertidos (Cortright y cols., 2007) y como ya se ha mencionado, TRPV4 parece tener una función en dolor inflamatorio (Alessandri-Haber y cols., 2004).

Conclusiones

La identificación, estructura y función de los canales mecánicos se ha desarrollado en los últimos años; sin embargo este conocimiento es limitado si lo comparamos con lo que sabemos sobre los canales activados por ligando o voltaje. Para todos los canales candidatos a ser mecanosensores es importante diferenciar entre los que se activan directamente por las fuerzas mecánicas de los que se activan posteriormente a la activación de otro sensor y más interesante sería saber cómo la fuerza mecánica abre el canal iónico. La clonación y el análisis genético de los genes mec en C. elegans, así como los estudios genéticos y funcionales de los canales TRP han contribuido a un mayor entendimiento del papel de los canales mecánicos en la fisiología de la transducción mecánica y en algunas patologías sensoriales humanas. Por otro lado, el hecho de que en la detección de los estímulos mecánicos parece estar implicado un complejo mecanotransductor, hace que estos estudios sean especialmente difíciles, por lo que todavía será necesario mucho trabajo para entender la mecanotransducción.

Agradecimientos

Quisiera agradecer a Stuart Ingham su colaboración en la realización de la figura 1.

Referencias

-Alessandri-Haber N, Dina OA, Yeh JJ, Parada CA, Reichling DB, y Levine JD (2004). Transient receptor potential vanilloid 4 is essential in chemotherapy-induced neuropathic pain in the rat. J Neurosci 24, 4444-4452.
-Arniges M, Vazquez E, Fernandez-Fernandez JM, y Valverde MA (2004). Swelling-activated Ca2+ entry via TRPV4 channel is defective in cystic fibrosis airway epithelia. J Biol Chem 279, 54062-54068.
-Arshavsky VY, Lamb TD, y Pugh EN, Jr. (2002). G proteins and phototransduction. Annu Rev Physiol 64, 153-187.
-Bautista DM, Jordt SE, Nikai T, Tsuruda PR, Read AJ, Poblete J, Yamoah EN, Basbaum AI, y Julius D (2006). TRPA1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents. Cell 124, 1269-1282.
-Beech DJ, Muraki K, y Flemming R (2004). Non-selective cationic channels of smooth muscle and the mammalian homologues of Drosophila TRP. J Physiol 559, 685-706.
-Birder LA, Nakamura Y, Kiss S, Nealen ML, Barrick S, Kanai AJ, Wang E, Ruiz G, de Groat WC, Apodaca G, Watkins S, y Caterina MJ (2002). Altered urinary bladder function in mice lacking the vanilloid receptor TRPV1. Nat Neurosci 5, 856-860.
-Chalfie M y Sulston J (1981). Developmental genetics of the mechanosensory neurons of Caenorhabditis elegans. Dev Biol 82, 358-370.
-Chemin J, Patel A, Duprat F, Zanzouri M, Lazdunski M, y Honore E (2005). Lysophosphatidic acid-operated K+ channels. J Biol Chem 280, 4415-4421.
-Christensen AP y Corey DP (2007). TRP channels in mechanosensation: direct or indirect activation? Nat Rev Neurosci 8, 510-521.
-Ciura S y Bourque CW (2006). Transient receptor potential vanilloid 1 is required for intrinsic osmoreception in organum vasculosum lamina terminalis neurons and for normal thirst responses to systemic hyperosmolality. J Neurosci 26, 9069-9075.
-Colbert HA, Smith TL, y Bargmann CI (1997). OSM-9, a novel protein with structural similarity to channels, is required for olfaction, mechanosensation, and olfactory adaptation in Caenorhabditis elegans. J Neurosci 17, 8259-8269.
-Corey DP (2006). What is the hair cell transduction channel? J Physiol 576, 23-28.
-Corey DP, Garcia-Anoveros J, Holt JR, Kwan KY, Lin SY, Vollrath MA, Amalfitano A, Cheung EL, Derfler BH, Duggan A, Geleoc GS, Gray PA, Hoffman MP, Rehm HL, Tamasauskas D, y Zhang DS (2004). TRPA1 is a candidate for the mechanosensitive transduction channel of vertebrate hair cells. Nature 432, 723-730.
-Cortright DN, Krause JE, y Broom DC (2007). TRP channels and pain. Biochim Biophys Acta 1772, 978-988.
-Dietrich A, Chubanov V, Kalwa H, Rost BR, y Gudermann T (2006). Cation channels of the transient receptor potential superfamily: their role in physiological and pathophysiological processes of smooth muscle cells. Pharmacol Ther 112, 744-760.
-Drew LJ, Rohrer DK, Price MP, Blaver KE, Cockayne DA, Cesare P, y Wood JN (2004). Acid-sensing ion channels ASIC2 and ASIC3 do not contribute to mechanically activated currents in mammalian sensory neurones. J Physiol 556, 691-710.
-Garcia-Añoveros J y Corey DP (1997). The molecules of mechanosensation. Annu Rev Neurosci 20, 567-594.
-Goodman MB (2006). Mechanosensation. WormBook 1-14.
-Grimm C, Kraft R, Sauerbruch S, Schultz G, y Harteneck C (2003). Molecular and functional characterization of the melastatin-related cation channel TRPM3. J Biol Chem 278, 21493-21501.
-Hamill OP y Martinac B (2001). Molecular basis of mechanotransduction in living cells. Physiol Rev 81, 685-740.
-Iwata Y, Katanosaka Y, Arai Y, Komamura K, Miyatake K, y Shigekawa M (2003). A novel mechanism of myocyte degeneration involving the Ca2+-permeable growth factor-regulated channel. J Cell Biol 161, 957-967.
-KATZ B (1950). Depolarization of sensory terminals and the initiation of impulses in the muscle spindle. J Physiol 111, 261-282.
-Kung C (2005). A possible unifying principle for mechanosensation. Nature 436, 647-654.
-Kwan KY, Allchorne AJ, Vollrath MA, Christensen AP, Zhang DS, Woolf CJ, y Corey DP (2006). TRPA1 contributes to cold, mechanical, and chemical nociception but is not essential for hair-cell transduction. Neuron 50, 277-289.
-LeMasurier M y Gillespie PG (2005). Hair-cell mechanotransduction and cochlear amplification. Neuron 48, 403-415.
-Lewin GR y Moshourab R (2004). Mechanosensation and pain. J Neurobiol 61, 30-44.
-Liedtke W (2007). Role of TRPV ion channels in sensory transduction of osmotic stimuli in mammals. Exp Physiol 92, 507-512.
-Maingret F, Honore E, Lazdunski M, y Patel AJ (2002). Molecular basis of the voltage-dependent gating of TREK-1, a mechano-sensitive K(+) channel. Biochem Biophys Res Commun 292, 339-346.
-Maroto R, Raso A, Wood TG, Kurosky A, Martinac B, y Hamill OP (2005). TRPC1 forms the stretch-activated cation channel in vertebrate cells. Nat Cell Biol 7, 179-185.
-Martinac B (2004). Mechanosensitive ion channels: molecules of mechanotransduction. J Cell Sci 117, 2449-2460.
-Martinac B (2001). Mechanosensitive channels in prokaryotes. Cell Physiol Biochem 11, 61-76.
-Numata T, Shimizu T, y Okada Y (2007). TRPM7 is a stretch- and swelling-activated cation channel involved in volume regulation in human epithelial cells. Am J Physiol Cell Physiol 292, C460-C467.
-Palmer CP, Zhou XL, Lin J, Loukin SH, Kung C, y Saimi Y (2001). A TRP homolog in Saccharomyces cerevisiae forms an intracellular Ca(2+)-permeable channel in the yeast vacuolar membrane. Proc Natl Acad Sci U S A 98, 7801-7805.
-Patel AJ, Honore E, Maingret F, Lesage F, Fink M, Duprat F, y Lazdunski M (1998). A mammalian two pore domain mechano-gated S-like K+ channel. EMBO J 17, 4283-4290.
-Pedersen SF, Hoffmann EK, y Mills JW (2001). The cytoskeleton and cell volume regulation. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 130, 385-399.
-Pedersen SF y Nilius B (2007). Transient receptor potential channels in mechanosensing and cell volume regulation. Methods Enzymol 428, 183-207.
-Sidi S, Friedrich RW, y Nicolson T (2003). NompC TRP channel required for vertebrate sensory hair cell mechanotransduction. Science 301, 96-99.
-Spassova MA, Hewavitharana T, Xu W, Soboloff J, y Gill DL (2006). A common mechanism underlies stretch activation and receptor activation of TRPC6 channels. Proc Natl Acad Sci U S A 103, 16586-16591.
-Strotmann R, Harteneck C, Nunnenmacher K, Schultz G, y Plant TD (2000). OTRPC4, a nonselective cation channel that confers sensitivity to extracellular osmolarity. Nat Cell Biol 2, 695-702.
-Sukharev S y Corey DP (2004). Mechanosensitive channels: multiplicity of families and gating paradigms. Sci STKE 2004, re4.
-Syntichaki P y Tavernarakis N (2004). Genetic models of mechanotransduction: the nematode Caenorhabditis elegans. Physiol Rev 84, 1097-1153.
V-enkatachalam K y Montell C (2007). TRP channels. Annu Rev Biochem 76, 387-417.
-Vriens J, Watanabe H, Janssens A, Droogmans G, Voets T, y Nilius B (2004). Cell swelling, heat, and chemical agonists use distinct pathways for the activation of the cation channel TRPV4. Proc Natl Acad Sci U S A 101, 396-401.
-Walker RG, Willingham AT, y Zuker CS (2000). A Drosophila mechanosensory transduction channel. Science 287, 2229-2234.
-Wetzel C, Hu J, Riethmacher D, Benckendorff A, Harder L, Eilers A, Moshourab R, Kozlenkov A, Labuz D, Caspani O, Erdmann B, Machelska H, Heppenstall PA, y Lewin GR (2007). A stomatin-domain protein essential for touch sensation in the mouse. Nature 445, 206-209.
-Zhang XF, Chen J, Faltynek CR, Moreland RB, y Neelands TR (2008). Transient receptor potential A1 mediates an osmotically activated ion channel. Eur J Neurosci 27, 605-611.

Ana Gomis
Unidad de Neurobiología Celular y de Sistemas
Instituto de Neurociencias de Alicante UMH-CSIC
Av. Santiago Ramón y Cajal, s/n
03550, Sant Joan d'Alacant · Alicante

Tel. 965919597. Fax. 965919549
e-mail: agomis@umh.es

Fue tan sólo hace una década cuando se observó que la mitocondria integra señales inductoras de muerte y/o supervivencia a nivel de sus membranas. El predominio de señales perjudiciales origina un incremento en la permeabilidad de sus membranas que permite la liberación de proteínas solubles. Este proceso parece ser el punto de no retorno en la cascada de señalización apoptótica, lo que convierte a este campo en centro de la búsqueda de nuevas moléculas capaces modular dichos procesos.

Regulación de la permeabilidad de la membrana mitocondrial en procesos de muerte celular.

Joaquín Jordán

Independientemente del tipo de muerte celular (apoptótica, necrótica, autofágica o mitótica), la permeabilización de las membranas mitocondriales resulta ser un proceso decisivo que delimita la frontera entre la supervivencia y el desenlace fatal de la célula (Chipuk y cols., 2006; Jordan y cols., 2003). La mitocondria, del griego mitos = hilo, hebra y chondros = cartílago, posee una estructura con dos compartimentos bien definidos (matriz y espacio intermembranal) delimitados por dos membranas, la interna y la externa, con características morfológicas y funcionales muy diferentes. Durante décadas se pensó que esta organela era tan sólo la fuente energética necesaria para el correcto funcionamiento celular. Más tarde, se observó que también desempeña otras actividades esenciales, entre las que destaca la regulación de los niveles de segundos mensajeros como el ión calcio (Ca^{2+}) y las especies reactivas del oxígeno (ERO). Pero fue tan sólo hace una década cuando se observó que la mitocondria integra señales inductoras de muerte y/o supervivencia a nivel de sus membranas. El predominio de señales perjudiciales origina un incremento en la permeabilidad de sus membranas que permite la liberación de proteínas solubles, más de 70, de peso molecular inferior a 15 kDa, entre las que se encuentran el citocromo c, la pro-caspasa-9, la endonucleasa G, SMAC/DIABLO y el factor inductor de apoptosis (AIF) (Patterson y cols., 2000). Este proceso parece ser el punto de no retorno en la cascada de señalización apoptótica ya que, una vez liberadas, estas proteínas reclutan y/o activan a otras rutas de señalización que conducirán de forma irreversible a la muerte de la célula. Así, mientras que el citocromo c entra a formar parte, como cofactor, de un complejo multiprotéico denominado apoptosoma, requerido para la activación de la caspasa-9, el AIF desencadena procesos de condensación de la cromatina y fragmentación del ADN de una forma independiente a la activación de miembros de la familia de caspasas.

Existe cierta controversia sobre los mecanismos implicados en los procesos que median en dicha permeabilización, debido, quizás, a que en muchos de los casos van a ser dependientes del tipo celular y de la naturaleza del estímulo apoptótico (Kroemer y cols., 2007). En esta breve revisión expondremos los dos modelos propuestos para justificar dicha alteración (Figura 1).

Modelo 1. Formación de un poro de permeabilidad transitoria mitocondrial.

El poro de permeabilidad transitoria mitocondrial (PPTM) es un complejo multiproteico en el que participan proteínas del citoplasma (la hexoquinasa), de la membrana externa mitocondrial (el canal aniónico dependiente de voltaje (VDAC)), de la membrana interna (el transportador de nucleótidos de adenina (ANT), y de la matriz mitocondrial (la ciclofilina D) (Figura 2) (Bernardi y cols., 1998; Johnson y cols., 1999). Por todo ello, este complejo sólo podrá formarse en las zonas de unión de las membranas mitocondriales interna y externa, denominadas "zonas densas". En condiciones fisiológicas, los diferentes componentes del PPTM se encuentran separados desempeñando cada proteína su función (Crompton, 2000). Cuando un estímulo apoptótico acontece, éstos se ensamblan dando lugar a un poro que comunica el citoplasma con la matriz mitocondrial. Este poro presenta un radio de 1.0 a 1.3 nm y su apertura supone la permeabilización de las membranas mitocondriales, lo que permite el paso de moléculas de un tamaño inferior a los 15 kDa de una forma no selectiva y que, debido a la diferencia osmótica entre la matriz mitocondrial y el citoplasma, genera la entrada masiva de agua que origina la hinchazón de la organela (Hunter y cols., 1976). Esta hinchazón da lugar a una distensión y distorsión de las crestas mitocondriales y, consiguientemente, a la ruptura de la membrana externa mitocondrial. Dicho proceso es irreversible y conduce a la liberación de proteínas del espacio intermembrana al citosol (Yang y cols., 1998; Petit y cols., 1998; Bernardi, 1999).

En la tabla I se resumen algunos de los factores que regulan la formación y apertura del PPTM; destacan el Ca^{2+}, las ERO y determinados miembros de la familia de proteínas de Bcl-2.

En condiciones donde las concentraciones de Ca^{2+} citoplasmático se encuentran elevadas de una forma sostenida, como ocurre en los procesos neurodegenerativos producidos por excitotoxicidad, la mitocondria mantiene activo el sistema de

Inductores:	Inhibidores:
Bax, Bid, Bad, Bak , Nur77, GD3, Pi, Ceramida Ácidos grasos ↑ $[Ca^{2+}]c$ ↑ EROS ↓ pHi ↓ $\Delta\phi m$ Proteínas virales	Bcl-2, Bcl-xL SOD, catalasa GSH, ATP, ADP ↑ $\Delta\phi m$ Mg^{2+} Fármacos: Ciclosporina A, Ac. Bongkrekico, Trifluoroperacina, Dibucaina, Tamoxifeno.

captación uniporte de Ca^{2+} debido a su baja afinidad, permitiendo su entrada a la mitocondria. Sin embargo, se saturan los sistemas responsables de la salida del catión, entre los que se encuentra el antiporte $2Na^{+}/Ca^{2+}$ y el antiporte $Ca^{2+}/2H^{+}$. En estas situaciones, la mitocondria no es capaz de incrementar su $[Ca^{2+}]$ indefinidamente y tiene lugar la formación del PPTM que permite la salida del Ca^{2+}. Se ha postulado que este proceso puede ser reversible y controlado en determinadas situaciones. Sin embargo, en condiciones donde concurren incrementos en estrés oxidativo y la presencia de sustratos como fosfato, acetoacetato y oxalacetato, tendría lugar la formación del PPTM de forma irreversible.

Las ERO son capaces de inducir la apertura del PPTM (Atlante y cols., 2000; Jordan y cols., 2002). La exposición de mitocondrias a ERO provoca una disminución de su contenido en residuos tiol de la membrana y el colapso del potencial eléctrico transmembranal mitocondrial ($\Delta\varphi m$) (Sakurai y cols., 2000), hecho que es prevenido por la presencia de fármacos antioxi-

dantes como la vitamina E o de glutation. Las ERO aumentan también la sensibilidad del ANT por Ca2+. Además, aumentos en los niveles de ERO son capaces de eliminar la especificidad de ANT y modular positivamente su unión a ciclofilina D para que ésta entre a formar parte del PPTM.

En los últimos años, el requerimiento de la formación del PPTM ha sido puesto en duda. Así, se ha descrito la liberación de citocromo c y la posterior activación de caspasas sin una caída detectable en el potencial de membrana mitocondrial y la ruptura mecánica de la membrana externa (Bossy-Wetzel y cols., 1998; Vander Heiden y cols., 1997). Es más, se ha puesto de manifiesto que alguno de sus componentes, como la ciclofilina D y VDAC, no son necesarios para que tenga lugar el hinchamiento de la matriz mitocondrial (Baines y cols., 2005 y 2007).

Modelo 2. Inserción de proteínas en la membrana externa mitocondrial

La familia del proto-oncogen Bcl-2 está constituida por unos veinticinco miembros reguladores clave del programa apoptótico (Adams y Cory, 2001; Rong y cols., 2008; Dlugosz y cols., 2006) que presentan hasta 4 regiones con una alta homología a Bcl-2 (regiones BH 1 a 4). Aquellos miembros que contienen sólo la región BH3 presentan la característica de ser proteínas con actividad pro-apoptótica y entre ellos, se encuentra la proteína BAX (Bcl-2-associated X protein), Bak (Bcl-2-antagonist/killer), BIM y BID.

La forma en la que estas proteínas modulan los cambios en la permeabilidad mitocondrial es todavía un enigma. Dejando a un lado sus efectos sobre la formación del PPTM, dichas proteínas presentan una estructura que remeda a las toxinas de algunas bacterias, como la difteria y las colicinas, con capacidad para insertarse en membranas y formar poros que permiten la salida de ciertas proteínas.

Una característica común de las proteínas de esta familia es que todas ellas poseen un dominio carboxilo terminal hidrófobo, el cual les permite insertarse en las membranas del retículo endoplásmico, la membrana externa mitocondrial y la membrana nuclear externa (Akao y cols., 1994; Krajewski y cols., 1993). La proteína BAX presenta este dominio ocupando su surco hidrofóbico, lo que hace que ésta resida inactiva en citosol o anclada laxamente a la cara citosólica de membranas de diversos orgánulos (Wolter y cols., 1997). Ante una señal de muerte celular, la proteína BAX se inserta en la membrana externa mitocondrial en forma de homooligómero. Para que

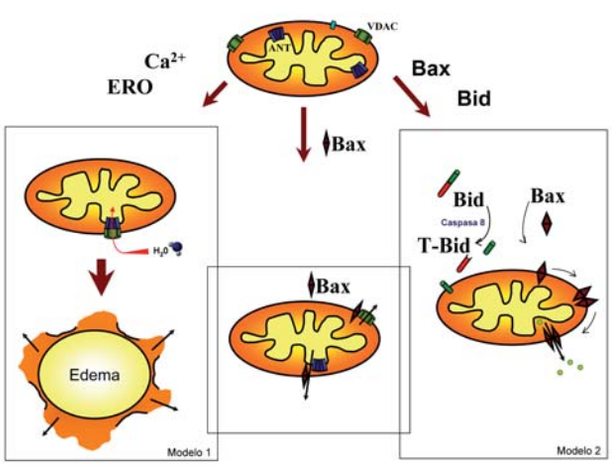


Figura 2. Estructura del poro de permeabilidad transitoria mitocondrial.

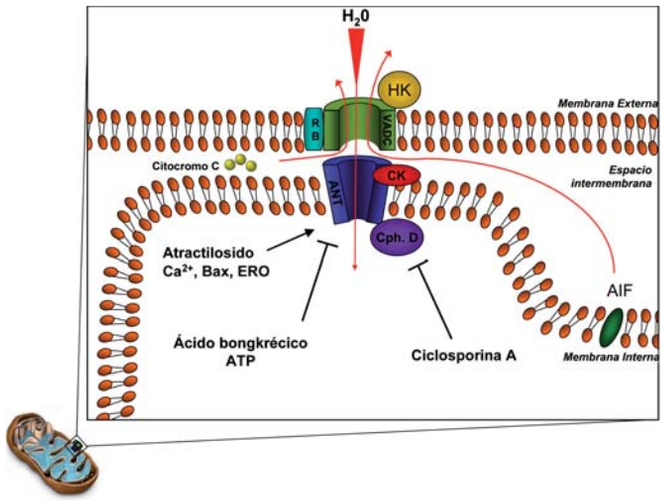


Figura 1. Modelos propuestos para la justificación de los cambios de permeabilidad de la membrana externa mitocondrial.

este proceso tenga lugar, deben ocurrir tres etapas: primera, la exposición de un epitopo de 20 amino ácidos del extremo NH_2-terminal que se encuentra ocluido e inactivo en BAX; segunda, la unión a una proteína de la familia de Bcl-2 que solo contiene la región BH3 que, tercera, causa la exposición del extremo C-terminal que contiene la secuencia de direccionamiento mitocondrial y la de inserción en la membrana (Cartron y cols., 2004). Este cambio conformacional ha sido relacionado con alteraciones en el pH de su entorno, con cambios en su estado red-ox y con su estado de fosforilación. Parece ser que esta última es crucial, y así se sabe que la cinasa p38 de la familia de las cinasas activadas por mitógenos (p38 MAPK) puede fosforilar a BAX en la serina 164. Por el contrario, la fosforilación en la ser184 de BAX por la fosfatidil-inositol-3 cinasa- y AKT/protein cinasa B, bloquea la traslocación de BAX hacia la mitocondria. Por último, la proteína HSP60 también participa en la regulación de translocación de BAX, al formar complejos con BAX e inhibe su traslación. En modelos de muerte celular se han descrito disminuciones de los niveles de esta chaperona que facilitaría el movimiento de BAX.

Otra proteína de la familia de Bcl-2 que migra a la mitocondria durante los procesos de muerte celular es BID. Esta proteína es activada por la caspasa-8 dando lugar a una forma trucada, t-bid, que es capaz de migrar hasta mitocondria, alterando su permeabilidad. Dicha migración es considerada como el nexo de unión entre las cascadas de señalización apoptóticas mediadas por la caspasa-8 activada por señales de receptores de muerte celular en superficie que participan en la vía extrínseca. La forma t- BID es capaz de producir alteraciones en la permeabilidad de los liposomas y permitir la salida de su interior del citocromo c.

Finalmente, algunos miembros de la familia de Bcl-2 han sido propuestos como moduladores de la formación de PPTM (modelo 1). Un ejemplo lo constituye el Bcl-2, que inhibe la formación del PPTM, produciendo la estabilización de la membrana mitocondrial, aumentado la capacidad amortiguadora de Ca^{2+} y protegiendo al $\Delta\varphi m$ frente a diversos estímulos. Dos son las teorías postuladas para justificar dichos efectos: La primera se basa en una interacción directa con un residuo tiol de la secuencia de ANT. Y la segunda en la capacidad de ocluir el VDAC a través de su dominio BH4. La proteína Bcl-xL estimula el cierre de VDAC, mientras que BAX y Bak promueven su apertura.

Conclusión.

El hecho de que alteraciones en la permeabilidad de las mem-

branas mitocondriales constituya el punto de "no retorno" dentro de las cascadas de señalización de muerte celular, convierte a este campo en centro de la búsqueda de nuevas moléculas capaces modular dichos procesos. Un ejemplo lo constituye el fármaco inmunosupresor ciclosporina A, que, al inhibir la actividad isomerasa de la ciclofilina D, y así, la formación del PPTM, es eficaz en la protección de las células frente a diferentes estímulos apoptóticos; o el diseño de nuevos fármacos anti-tumorales que son capaces de generar cambios en la permeabilidad de las membranas, precipitando la muerte celular.

Referencias:

-Adams JM, Cory S. (2001). Life-or-death decisions by the Bcl-2 protein family. Trends Biochem Sci.;26,61-6.

-Akao Y, Otsuki Y, Kataoka S, Ito Y, Tsujimoto Y. (1994). Multiple subcellular localization of bcl-2: detection in nuclear outer membrane, endoplasmic reticulum membrane, and mitochondrial membranes. Cancer Res. 54,2468-2471.

-Atlante A, Calissano P, Bobba A, Azzariti A, Marra E, Passarella S. (2000). Cytochrome c is released from mitochondria in a reactive oxygen species (ROS)-dependent fashion and can operate as a ROS scavenger and as a respiratory substrate in cerebellar neurons undergoing excitotoxic death. J Biol Chem; 275,37159-37166.

-Baines CP, Kaiser RA, Sheiko T, Craigen WJ, Molkentin JD (2007). Voltage-dependent anion channels are dispensable for mitochondrial-dependent cell death. Nat Cell Biol. 9,550-555.

-Baines CP, Kaiser RA, Purcell NH, Blair NS, Osinska H, Hambleton MA, Brunskill EW, Sayen MR, Gottlieb RA, Dorn GW, Robbins J, Molkentin JD. (2005). Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death. Nature; 434, 658-662.

-Bernardi P, Colonna R, Costantini P, Eriksson O, Fontaine E, Ichas F, Massari S, Nicolli A, Petronilli V, Scorrano L. (1998). The mitochondrial permeability transition. Biofactors 8, 273-81.

-Bernardi P. (1999). Mitochondrial transport of cations: channels, exchangers, and permeability transition. Physiol Rev. 79, 1127-55.

-Bossy-Wetzel E, Newmeyer DD, Green DR. (1998). Mitochondrial cytochrome c release in apoptosis occurs upstream of DEVD-specific caspase activation and independently of mitochondrial transmembrane depolarization. EMBO J. 17, 37-49.

-Cartron PF, Gallenne T, Bougras G, Gautier F, Manero F, Vusio P, Meflah K, Vallette FM, Juin P. (2004). The first alpha helix of Bax plays a necessary role in its ligand-induced activation by the BH3-only proteins Bid and PUMA. Mol Cell 16, 807-18.

-Chipuk JE, Bouchier-Hayes L, Green DR. (2006). Mitochondrial outer membrane permeabilization during apoptosis: the innocent bystander scenario. Cell Death Differ13,1396-402.

-Crompton M. (2000). Mitochondrial intermembrane junctional complexes and their role in cell death. J Physiol 529,11-21.

-Dlugosz PJ, Billen LP, Annis MG, Zhu W, Zhang Z, Lin J, Leber B, Andrews DW. (2006). Bcl-2 changes conformation to inhibit Bax oligomerization. EMBO J 25, 2287-96.

-Hunter DR, Haworth RA, Southard JH. (1976). Relationship between configuration, function, and permeability in calcium-treated mitochondria. J Biol Chem 251, 5069-5077.

-Johnson N, Khan A, Virji S, Ward JM, Crompton M. (1999). Import and processing of heart mitochondrial cyclophilin D. Eur J Biochem 263, 353-9.

-Jordán J, Galindo MF, Tornero D; Benavides A; González C, Agapito MT et al. (2002). Superoxide anions mediate veratridine-induced cytochrome c release and caspase activity in bovine chromaffin cells. Br J Pharmacol137, 993-1000.

-Jordán J, Ceña V, Prehn JH. (2003). Mitochondrial control of neuron death and its role in neurodegenerative disorders. J Physiol Biochem. 59, 129-41.

-Krajewski S, Tanaka S, Takayama S, Schibler MJ, Fenton W, Reed JC. (1993). Investigation of the subcellular distribution of the bcl-2 oncoprotein: residence in the nuclear envelope, endoplasmic reticulum, and outer mitochondrial membranes. Cancer Res 53, 4701-14.

-Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. (2007). Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. Physiol Rev. 87, 99-163.

-Patterson SD, Spahr CS, Daugas E, Susin SA, Irinopoulou T, Koehler C, Kroemer G. (2000). Mass spectrometric identification of proteins released from mitochondria undergoing permeability transition. Cell Death Differ 7, 137-44.

-Petit PX, Goubern M, Diolez P, Susin SA, Zamzami N, Kroemer G. (1998). Disruption of the outer mitochondrial membrane as a result of large amplitude swelling: the impact of irreversible permeability transition. FEBS Lett 426, 111-6.

-Rong Y, Distelhorst CW. (2008). Bcl-2 protein family members: versatile regulators of calcium signaling in cell survival and apoptosis. Annu Rev Physiol 70, 73-91.

-Sakurai K, Stoyanovsky DA, Fujimoto Y, Cederbaum AI. (2000). Mitochondrial permeability transition induced by 1-hydroxyethyl radical. Free Radic Biol Med 28, 273-80.

-Vander Heiden MG, Chandel NS, Williamson EK, Schumacker PT, Thompson CB. (1997). Bcl-xL regulates the membrane potential and volume homeostasis of mitochondria. Cell 91, 627-37

-Wolter KG, Hsu YT, Smith CL, Nechushtan A, Xi XG, Youle RJ. (1997). Movement of Bax from the cytosol to mitochondria during apoptosis. J Cell Biol 139, 1281-92.

-Yang JC, Cortopassi GA. (1998). Induction of the mitochondrial permeability transition causes release of the apoptogenic factor cytochrome c. Free Radic Biol Med. 24,624-631.

Joaquín Jordán, Grupo de Neurofarmacología.
Departamento de Ciencias Médicas.
Universidad Castilla-La Mancha- Centro Regional de Investigaciones Biomédicas, Avda. Almansa 14,
Albacete - 02006, España.

Tel.: +34-967-599200. Fax: +34-967599327.

El Tiempo en la Fisiología

Juan Antonio Madrid, M. Ángeles Rol

La Ventana del Fisiólogo

La Cronobiología es una ciencia que comienza a desarrollarse a partir de los años 60, cuyo objetivo se centra en el estudio de los ritmos biológicos, es decir, de los cambios periódicos, y por tanto previsibles, en una variable biológica. Entre otros temas, se ocupa de responder a las preguntas: ¿por qué dormimos por la noche?, ¿por qué el número de linfocitos en sangre venosa humana se duplica hacia las 2 de la madrugada?, ¿por qué una copa de vino produce mayores niveles de alcoholemia por la mañana que por la tarde?, o ¿qué es lo que desencadena la reproducción de muchos animales en un periodo concreto del año?

Debido a su importancia para la supervivencia de las especies, la selección natural ha favorecido que todos los organismos, desde procariotas hasta humanos, posean relojes capaces de generar oscilaciones con periodos de aproximadamente 24 horas (reloj circadiano). Aunque las bases moleculares del reloj circadiano de vertebrados se fundamentan en mecanismos básicos comunes, su organización anatómica y funcional difiere entre los grupos animales. En peces, anfibios, reptiles y aves, el órgano pineal, que posee fotorreceptores directos, desempeña funciones de marcapasos circadiano, con independencia de que otras estructuras hipotalámicas también la desempeñen. En mamíferos, el reloj o marcapasos circadiano principal se localiza en los núcleos supraquiasmáticos de hipotálamo (NSQ): dos pequeños núcleos de unos pocos miles de neuronas, localizados a cada lado del tercer ventrículo y en posición dorsal con respecto al quiasma óptico. La generación de oscilaciones de periodo circadiano en la actividad nerviosa y humoral de los NSQ parece ser el resultado de la actuación de relojes moleculares en cada una de las neuronas individuales

de los mismos, aunque parece más que probable la participación de células gliales. Con su actividad rítmica, los NSQ son los responsables de la coordinación de la mayoría de los ritmos circadianos de mamíferos. No obstante, para que estos ritmos continúen sincronizados con los ciclos ambientales es necesario que el marcapasos circadiano se ponga en hora periódicamente por la actuación de determinados factores ambientales (sincronizadores o zeitgebers) que oscilan rítmicamente, siendo el más importante el ciclo luz-oscuridad. La información fótica es recogida en la retina por unas células ganglionares especializadas o "cronoreceptores" y alcanza al NSQ a través del tracto retinohipotalámico.

Los NSQ difunden su señal rítmica mediante señales nerviosas o mediante intermediarios humorales como la melatonina, o la prokineticina 2. La melatonina es una hormona producida por la glándula pineal bajo el control directo de los NSQ, cuyas propiedades antioxidantes la sitúan en un primer plano de actualidad. Su secreción se eleva coincidiendo con el periodo de oscuridad en todas las especies, ya sean diurnas o nocturnas y, por tanto, permite medir la duración de la noche, es decir, funciona como reloj y calendario endocrino.

Además, el sistema circadiano se compone de numerosos osciladores secundarios (córtex cerebral, hígado, riñón…), capaces de producir oscilaciones circadianas, que, en condiciones normales se encuentran bajo el control de los NSQ.

¿Para qué necesita un animal disponer de un reloj de 24 horas? La respuesta, aunque pueda sorprender es simple: para anticiparse a los cambios periódicos, y por tanto previsibles, del ambiente. Los animales capaces de anticipar la llegada del invierno podrán iniciar la migración con tiempo suficiente para no morir helados, o podrán programar la reproducción para que las crías nazcan en el momento más adecuado, maximizando su supervivencia. La anticipación también permite optimizar los procesos fisiológicos; así, si un animal recibe la comida todos los días a la misma hora, al cabo de un tiempo, su apetito y su fisiología digestiva se sincronizarán a dicho horario y todo su sistema enzimático, hormonal y metabólico estará preparado para ingerir y asimilar los nutrientes de un modo altamente efectivo. Para un animal en libertad, la alteración de su sistema circadiano aumentaría su nivel de depredación como consecuencia de un horario de actividad-reposo inadecuado, disminuiría su eficiencia reproductiva por falta de sincronía entre la fertilidad de los sexos y por la mayor mortalidad de las crías.

Los sistemas biológicos sólo pueden ser funcionalmente eficaces si se mantiene el adecuado orden temporal entre las diferentes variables. Imaginemos, por ejemplo, las alteraciones que se generarían si las actividades de las enzimas lipolíticas y lipogénicas de los hepatocitos aumentaran simultáneamente y no de forma alterna, o que el ritmo en la generación de especies reactivas de oxígeno se encontrase en antifase con respecto al de los sistemas antioxidantes, con el consiguiente aumento del daño oxidativo. La alteración de este orden temporal interno puede constituir un factor desencadenante de diversas patologías, entre las que se encuentran ciertos tipos de cáncer, síndrome metabólico, hipertensión, etc.

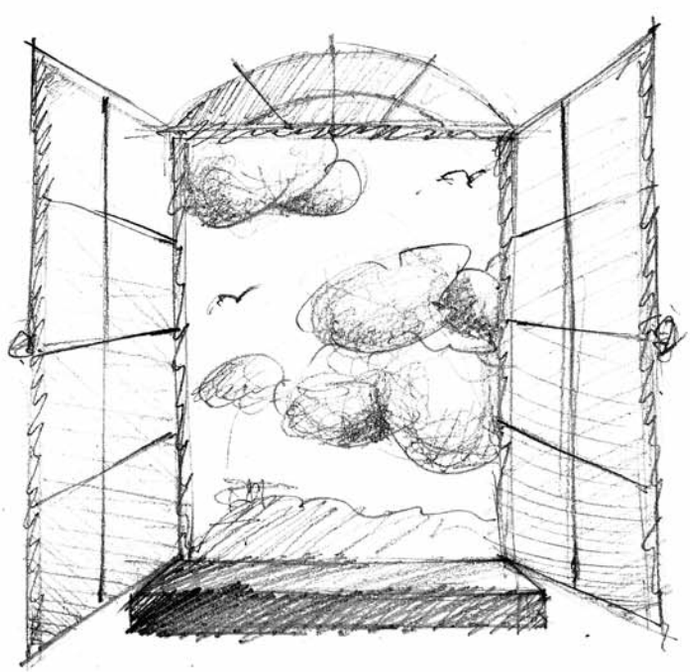
La Cronobiología introduce una nueva dimensión en la Biología y la Medicina: el tiempo. Cuando integramos el tiempo en la biología observamos que la fisiología, la bioquímica y la conducta de cada ser vivo es diferente en función de la hora del día y del día del año en el que se estudie. Además, las oscilaciones en las variables biológicas constituyen en sí mismas un sistema de señalización cuyo lenguaje estamos comenzando a comprender.

Desde el punto de vista de la investigación básica, los experimentos basados en la obtención de una medida única son de dudosa validez, ya que el valor en un momento dado no tiene por qué ser el que se obtendrá en otro momento del día o de la noche. La rata, probablemente el animal más utilizado en estudios experimentales en fisiología, es un animal nocturno, mientras que la mayoría de las pruebas y de los parámetros que cuantificamos se realizan durante el día, ¿se obtendrían los mismos resultados si el estudio se realizara durante la noche en la fase de actividad del animal?

Desde el punto de vista clínico, resulta sorprendente constatar que muchos médicos (encuestados por el Instituto Gallup por encargo de la American Medical Association) desconocían que algunas enfermedades comunes se agudizaban en determinados momentos del día, como ocurre con el asma durante la noche, o que un paciente normotenso en la mañana puede ser hipertenso por la noche, o que los efectos de los medicamentos no son los mismos dependiendo de la hora de administración. La utilización de pautas cronoterapéuticas, en las que los fármacos se administran según las horas en las que producen menos efectos tóxicos para el paciente, ha conseguido mejorar en gran medida la eficacia de los tratamientos y aumentar la dosis tolerada, lo que resulta especialmente interesante cuando se aplica a enfermedades como el cáncer, en las que la supervivencia del individuo puede depender de la dosis de fármaco que tolere.

En definitiva, la incorporación de la dimensión temporal en la fisiología ha de verse como una posibilidad de ampliar nuestro conocimiento del funcionamiento de los sistemas, lo que sin duda redundará en una mejora de las herramientas terapéuticas y, por ende, de nuestra calidad de vida.

Madrid, J.A. Rol de Lama, M.A..(Editores).
Cronobiología básica y clínica.
Editec@red. Madrid ISBN 84-934510-3-7.



GRUPOTAPER
TECNOLOGÍA SANITARIA Y CIENTÍFICA

GRUPO TAPER, S.A. se funda en junio de 1989 mediante la agregación de seis empresas que contaban con una experiencia de más de 25 años en la distribución de productos sanitarios y científicos.

Desde el año 2004, las actividades de las compañías que formaban el Grupo (Endoscopia Médica, Pacisa y Giralt, La Casa del Médico y Dissa) han sido absorbidas e integradas en un única empresa denominada Grupo Taper, S.A. Dentro de la estrategia de expansión del grupo, ha extendido sus actividades a Portugal, mediante la adquisición de tres empresas, lo que sitúa a GRUPO TAPER, S.A. entre las primeras compañías de distribución de productos sanitarios y científicos de la península ibérica, con un equipo de más de 140 profesionales y unos fondos propios de 24 millones de Euros.

Avda. Industria, 49 • Edificio Fresno. 2ª pl. - Pol. Ind. • 28108 **ALCOBENDAS** (**Madrid**)
Teléfono: **916 596 520** - Fax: **916 610 084** / e-mail: informacion@grupotaper.com

www.GRUPOTAPER.com

ORCA-R2

'Rapid Readout' Digital Camera

The world-leader in scientific cameras introduces the new ORCA-R2 'Rapid Readout' Digital Camera. Building on the success of the market-leading ORCA-AG, the **ORCA-R2** utilises the same exclusive ER-150 progressive scan interline 1344 x 1024 pixel CCD and offers superior performance and quality with twice the frame rate in the same compact camera head.

The ORCA-R2 is the camera of choice for a wide range of applications such as fluorescence microscopy where a balance of speed, sensitivity and resolution are essential.

Features

- Rapid readout – 16.2 frames/s at full resolution
- High performance IEEE1394b interface
- Fully synchronised operation of two cameras
- Selectable 16-bit digitisation

Applications

- Fluorescence microscopy
- DNA and ploidy analysis
- Histology, pathology and cytology
- Fluorescence in-situ hybridisation studies
- Ion imaging

HAMAMATSU

PHOTON IS OUR BUSINESS

www.sales.hamamatsu.com

Freephone: Europe 00 800 800 800 88, USA 1-800 524 0504