SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Fisiología

Boletín Informativo de la SECF · Volumen 11 · nº 1 · junio 2009

• TITULARES

- **INFORME DEL COMITÉ ORGANIZADOR DEL XXXV CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS. VALENCIA, 17 AL 20 DE FEBRERO DE 2009**
- **HOMEOSTASIS DEL CALCIO MITOCONDRIAL COMO FACTOR REGULADOR DE LA ACTIVACIÓN DE LAS CÉLULAS**

  T. Ariel Quintana
- **PREMIO GREGORIO MARAÑÓN A CARLOS BELMONTE**
- **PREMIO DE LA BIOPHYSICAL SOCIETY A TERESA GIRÁLDEZ**
- **OBITUARIO PROFESOR CARLOS EYZAGUIRRE**
- **LA OBESIDAD Y EL GENOTIPO AHORRADOR.**

  José Enrique Campillo Álvarez.

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Presidente: Ginés Salido Ruiz (gsalido @unex.es)
Presidente electo: Javier Cudeiro Mazaira (jcud@udc.es)
Presidente Saliente: Constancio González Martínez (constanc@ibgm.uva.es)
Secretario: Antonio Alberola Aguilar (antonio.alberola@uv.es)
Tesorero: Lucía Núñez Llorente (nunez@ibgm.uva.es)
Vocal: Beatriz Gal Iglesias (beatriz.gal@uem.es)
Angel Nadal Navajas (nadal@umh.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

GRUPO TAPER
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

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.

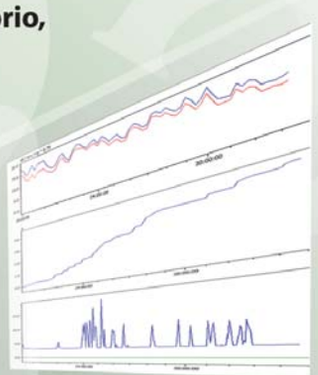
c.Pies de figuras. Deberán incluirse a continuación de la bibliografía y en páginas aparte.

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.

Sistema Oxylet

Panlab | HARVARD APPARATUS

Sistema modular para la medición del Metabolismo Respiratorio, Ingesta y Actividad en animales de laboratorio



Metabolismo

Ingesta

Actividad

¡Consulte nuestra amplia gama de equipos para fisiología experimental!

www.panlab.com

XXXV CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS. Valencia, 17 al 20 de febrero de 2009.

Informe del Comité Organizador

El pasado mes de febrero tuvo lugar en Valencia el XXXV Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas. Se celebró en el Palacio de Congresos de Valencia, inaugurado en 1998. El Congreso se inició el 17 de febrero por la tarde, y el programa se desarrolló hasta la tarde del día 20. Las sesiones matutinas abarcaban desde las 9 a las 13:30 aproximadamente, y las vespertinas se iniciaban a las 15:00, terminando hacia las 19:30.

En el congreso participaron 356 congresistas, con una destacada representación de diversos países europeos y de Estados Unidos. De hecho, 48 de los ponentes procedían de otros países europeos y 4 de EE.UU. La participación de estudiantes, la mayoría de ellos predoctorales, también fue elevada, alcanzando el 28 %. Las lenguas oficiales del Congreso fueron tanto el inglés como el español, desarrollándose la mayoría de las sesiones en inglés.

El Congreso constituyó de nuevo una oportunidad extraordinaria para el abordaje de los diferentes aspectos básicos y aplicados más recientes y novedosos de las Ciencias Fisiológicas, fomentando el conocimiento y la colaboración entre los grupos. El programa científico del Congreso estuvo compuesto por 2 conferencias plenarias, 21 simposios, 1 seminario metodológico, 11 sesiones de comunicaciones orales y 3 sesiones de pósters. Junto con las 2 conferencias plenarias y el seminario metodológico, se presentaron 66 ponencias en los diferentes simposios, 35 comunicaciones orales y 206 comunicaciones en forma de póster, sumando un total de 310 presentaciones. El programa incluyó dos simposios conjuntos con la American Physiological Society, así como simposios 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 la participación de destacados ponentes internacionales.

La primera conferencia plenaria fue impartida por el Prof. José Jalife, de la Universidad de Michigan, quien realizó una magistral exposición sobre la influencia de la fibrosis en la propagación de las ondas eléctricas y en los fenómenos de reentrada en relación con la fibrilación auricular. El Prof. Jalife presentó extraordinarios modelos experimentales en los que se realiza un exhaustivo seguimiento dinámico por ordenador de la propagación de las ondas eléctricas en el corazón. La segunda conferencia plenaria fue impartida por el Prof. Salvador Moncada, del Wolfson Institute for Biomedical Research de Londres, y actualmente uno de los investigadores más prestigiosos en Biomedicina. El Prof. Moncada realizó una brillante exposición sobre el papel del óxido nítrico modulando la respiración mitocondrial, la generación mitocondrial de superóxido y la señalización vía factor nuclear κB y HIF-α. El Prof. Moncada destacó la importancia del óxido nítrico en la regulación de la adaptación celular a la hipoxia. También estaba prevista inicialmente en el programa la participación del Prof. Ricardo Miledi, Premio Juan Negrín de la SECF en 2009, pero finalmente no pudo asistir por motivos personales. El Dr. Andrés Morales, discípulo del Prof. Miledi, realizó un entrañable esbozo de la extraordinaria trayectoria científica del Prof.

Los profesores, Ana Obeso, José Viña, Constancio González, Ginés Salido y Juan Sastre, a las puertas del Palacio de Congresos de Valencia

Miledi, figura clave en el desarrollo de la Neurofisiología, resaltando su gran calidad humana.
El programa abarcó diferentes aspectos de gran interés dentro de la Fisiología, desde la señalización intracelular hasta los procesos fisiopatológicos más relevantes en el área de la salud. Las sesiones que integraban ponencias y comunicaciones orales fueron los siguientes:

- Canales iónicos.
- Señalización celular.
- Terapia celular.
- Neurofisiología.
- Circulación.
- Respiratorio
- Digestivo.
- Endocrino.
- Riñón e hipertensión.
- Ejercicio físico.
- Fisiología del envejecimiento.
- Enseñanza en Fisiología.

Deben destacarse los dos simposios sobre "Riñón e hipertensión" conjuntos con la American Physiological Society (APS), organizados por los Dres. Joey P. Granger y Javier Salazar, y que contaron con la destacada participación del Presidente de la APS Prof. Irving Zucker. El simposio sobre circulación estuvo orientado hacia la circulación cerebral y fue organizado por el Prof. Enrique Alborch dentro de la red de investigación neurovascular RENEVAS. El simposio sobre terapia celular fue organizado por el Dr. Emilio Fernández-Espejo dentro de la red de Terapia Celular Tercel. En la organización del resto de simposios participó el Comité Científico en estrecha colaboración con el Comité Organizador.

Además, se celebraron diversos simposios organizados por la red de envejecimiento y fragilidad RETICEF sobre factores de riesgo cardiovascular, enfermedades neurodegenerativas, osteoporosis y sarcopenia, así como varios simposios sobre peroxidación lipídica organizados por el Dr. Manel Portero y el Prof. José Viña, dentro del grupo europeo COST B35. Por último, cabe resaltar el seminario metodológico impartido por el Dr. José Mª Benlloch, Premio Jaime I 2008 en Nuevas Tecnologías, sobre las aplicaciones de las técnicas de imagen molecular de tomografía de emisión de positrones (PET) en investigación biomédica. Las tres sesiones de pósters estuvieron distribuidas abarcando las diferentes áreas de los simposios.

Todas las sesiones tuvieron un gran nivel científico e interés, suscitando numerosas preguntas por parte de la audiencia. Muchas de las sesiones tuvieron una gran afluencia de público y prácticamente todas tuvieron éxito de audiencia.

Tal y como viene siendo habitual en los congresos de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas, también se celebró la reunión de la SECF. En ella, el Presidente saliente, Prof. Constancio González, y el Secretario, Prof. Antonio Alberola, informaron de las actividades de la Sociedad en los últimos dos años, se aceptaron altas y bajas de socios, se renovó la Junta, y se agradeció a los miembros salientes por su gran entrega y dedicación, especialmente al Prof. Constancio González. El Director del Congreso, Prof. Juan Sastre, expuso un breve resumen de las actividades del Congreso. La Junta Directiva agradeció al Comité Organizador la labor realizada. El nuevo Presidente, Prof. Ginés Salido, esbozó los rasgos generales de sus líneas programáticas, destacando el nombramiento de socios honoríficos y la difusión pública y mediática de los fisiólogos. Asimismo, se entregaron 43 becas a jóvenes socios por su currículo y participación en el Congreso. Por último, se anunció la celebración del próximo Congreso de la SECF en Galicia, donde os esperamos a todos.

La Dra. Carmen Negrín, durante la entrega del premio Juan Nagrín, acompañada por los profesores Andrés Morales, Constancio González y Juan Sastre.

Homeostasis del calcio mitocondrial como factor regulador de la activación de las células T.

Ariel Quintana.

Más allá de su conocida función como generador de energía celular, las mitocondrias pueden captar y liberar gran cantidad de calcio (Ca^{2+}), lo que les permite no sólo proteger a las células contra la sobrecarga de Ca^{2+} en el citosol bajo condiciones fisiopatológicas, sino también moldear y prolongar las señales fisiológicas de Ca^{2+}. La entrada sostenida de Ca^{2+} a través de los canales dependientes de la liberación de Ca^{2+} de los depósitos intracelulares es esencial para la activación de las células T. Debido a que dichos canales se inactivan por la acumulación de los iones de Ca^{2+} en la boca intracelular del canal, la activación de las células T es sólo posible, por tanto, si se previene dicha inactivación. Recientemente, hemos hallado que la formación de la sinapsis inmunológica (SI) induce una redistribución específica de las mitocondrias hacia la vecindad de la SI, llegando a localizarse en un radio de menos de 200 nm de la membrana plasmática. Como consecuencia, las mitocondrias localizadas en la vecindad de la SI capturan muchos más iones Ca^{2+} que aquellas localizadas más lejos. Esta relocalización preferencial de las mitocondrias es necesaria para mantener la entrada de Ca^{2+} a través de dichos canales y para la activación dependiente de Ca^{2+} de las células T. En esta revisión, me propongo hacer un compendio de los resultados que nos han conducido a concluir que la estratégica localización de las mitocondrias garantiza la eficiente activación de las células T y la consiguiente respuesta inmunológica.

La virtud de las mitocondrias para capturar Ca^{2+} del medio y de acumularlo en su matriz de un modo dependiente de su estado energético fue descrita hace más de 40 años (Vasington and Murphy, 1962). Posteriormente, en los años 1970, Peter Mitchell (Premio Nobel 1978) demostró que el estado energético de las mitocondrias se debía a la oxidación de sustratos o la hidrólisis de ATP, lo cual generaba un gradiente de H^+ a través de la membrana interna de las mitocondrias (Mitchell and Moyle, 1968; Mitchell and Moyle, 1970). Así, quedó bien establecido el concepto de que la captura de Ca^{2+} en mitocondrias energizadas era debida al elevado potencial negativo de la membrana interna (~ 180 mV). Sin embargo, un cuestionamiento inevitable fue que, con un potencial de membrana tan negativo, los iones de Ca^{2+} deberían acumularse dentro de la matriz mitocondrial hasta alcanzar una concentración de 1 millón de veces más que en el citosol, de acuerdo con la ecuación de Nernst que define el equilibrio electroquímico de un ión a través de una membrana biológica. Por tanto, en condiciones fisiológicas, en células no estimuladas, la concentración de Ca^{2+} en el citosol es de 100 nM, por lo que se esperaría una concentración de Ca^{2+} en la matriz mitocondrial de 0.1 M, algo totalmente incompatible con la fisiología celular (Giacomello et al., 2007; Pozzan and Rizzuto, 2000; Rizzuto and Pozzan, 2006). Esta gran contradicción fue resuelta cuando se demostró que la acumulación de Ca^{2+} en la matriz mitocondrial dependía no sólo de la existencia de un importador electrogénico (conocido como "uniporter"), que tiende a capturar Ca^{2+} para restablecer el equilibrio electroquímico, sino también de unos "intercambiadores" (Na^+/Ca^{2+} o H^+/Ca^{2+}) que, utilizando el gradiente de Na^+ o H^+ dentro de la matriz mitocondrial, exportan el ión Ca^{2+} de regreso al citosol (Pozzan et al., 1977). Así, cuando la entrada de Ca^{2+} a través del importador se iguala con la salida de Ca^{2+} por vía de los intercambiadores, tenemos un estado de equilibrio, el cual se aleja bastante del equilibrio electroquímico. Mantener este estado de equilibrio cuesta un consumo energético, el cual es reducido al mínimo por la baja afinidad del importador por Ca^{2+} (K_M 20 μM).

A principios de los años 1990, estudios con acuorinas recombinantes revelaron por primera vez la homeostasis del Ca^{2+} en mitocondrias en células vivas (Rizzuto et al., 1993). El aumento en la concentración de Ca^{2+} dentro de las mitocondrias ocurrió en paralelo con los cambios, aún pequeños, de las concentraciones de Ca^{2+} en el citosol. Estos hallazgos estaban, en cierta medida, en contradicción con la muy baja afinidad del importador mitocondrial de Ca^{2+}. Sin embargo, esta paradoja fue muy elegantemente resuelta por vía de la hipótesis de la existencia de microdominios de Ca^{2+}. Así, la rápida toma de Ca^{2+} depende de la creación de un microdominio altamente concentrado de Ca^{2+} cerca de la mitocondria (Pozzan and Rizzuto, 2000; Rizzuto and Pozzan, 2006). Por tanto, la captura eficiente de iones Ca^{2+} por las mitocondrias en condiciones fisiológicas depende en grado extremo de su localización dentro de la célula, especialmente de su proximidad respecto a los canales de Ca^{2+} celulares.

La activación de las células T es un paso crítico en la respuesta inmunológica adaptativa, la cual ocurre mediante la interacción de los receptores de las células T (RCT) con antígenos específicos presentados por las moléculas del complejo de histocompatibilidad, ubicadas en la membrana de las células presentadoras de antígenos (Friedl et al., 2005; Jacobelli et al., 2004). Esta interacción celular específica, la cual se conoce como sinapsis inmunológica (SI), conlleva la reorganización de muchas proteínas y moléculas localizadas tanto en la membrana plasmática como en el citosol de las células T en dirección a la SI, un proceso conocido como polarización celular (Dustin, 2005; Dustin and Cooper, 2000). La formación de la SI induce la activación de muchas cascadas de señales que conllevan la secreción de interleuquinas y citoquinas, con el fin de garantizar la expansión y diferenciación celular clonal (Dustin, 2005; Feske, 2007; Lewis, 2001; Quintana et al., 2005). Una fase esencial para la activación de las células T es la elevación sostenida de los niveles de Ca^{2+} en el citosol a través de la entrada de Ca^{2+} desde el medio extracelular por vía de los canales de Ca^{2+} dependientes de la liberación de Ca^{2+} (CRAC, por sus siglas en inglés), los cuales constituyen la única vía de entrada de Ca^{2+} en este tipo de células (Feske et al., 2005; Lewis, 2001). Mediante el uso de la novedosa tecnología del RNA de interferencia se ha podido finalmente, después de muchos años de esfuerzo, identificar la proteína ORAI1 como parte fundamental del poro de los canales que median la corriente CRAC (Feske et al., 2006) así como la proteína stromal interaction molecule 1 (STIM1) como sensor de los niveles de Ca^{2+} en el lumen del retículum endoplasmático (RE) y activador de los canales ORAI1/CRAC (Roos et al., 2005). En el modelo actual, cuando el RE está repleto de Ca^{2+}, la asociación de las moléculas STIM1 mediante oligomerización no puede ocurrir debido a que los iones Ca^{2+} lo impiden mediante su unión al dominio molecular EF. Sin embargo, cuando los iones de Ca^{2+} se disocian del dominio EF debido a la liberación del Ca^{2+} del lumen del RE, entonces las proteínas STIM1 comienzan a asociarse y empiezan rápidamente a migrar a lo largo de la membrana del RE hacia regiones localizadas a ~20 nm debajo de la membrana plasmática llamadas "puncta", donde interaccionan directa o indirectamente con las proteínas ORAI1, lo cual concluye con la activación de la entrada de Ca^{2+} al citosol desde el medio

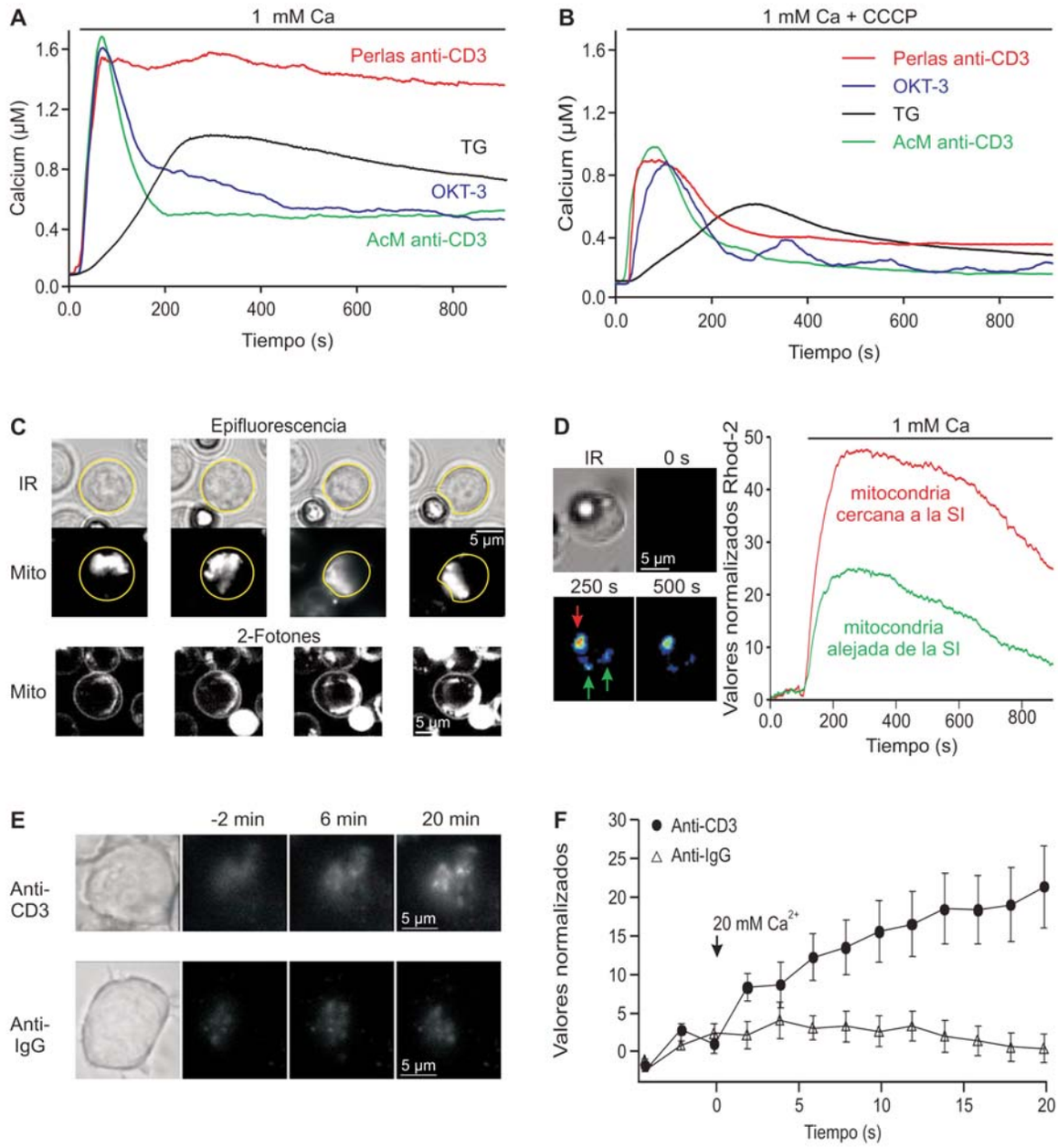


Figura 1: ***El transporte mitocondrial hacia la sinapsis inmunológica es indispensable para una eficiente activación de las células T (los paneles fueron, con permiso de PNAS, tomados y modificados a partir de (Quintana et al., 2007)).***

(A) Promedio de las señales de Ca^{2+} pertenecientes a células T Jurkat, en respuesta a la estimulación con anticuerpos monoclonales anti-CD3 (verde), anticuerpos anti-CD3 (OKT3, azul), tapsigargina (TG, negro) y perlas recubiertas con anti-CD3 (rojo), con el fin de inducir una sinapsis inmunológica (SI) experimental.

(B) Incrementos promedio de la $[Ca^{2+}]i$ en células Jurkat en respuesta a los diferentes estímulos explicados en (A) en presencia del bloqueador de la captación mitocondrial de Ca^{2+} CCCP. Nótese la reducción de la señales de Ca^{2+} comparadas con las obtenidas en los experimentos controles (panel (A)). Nótese también que la diferencia significativa observada en (A) entre los diferentes estímulos desaparece completamente.

(C) Secuencia del transporte de la red mitocondrial hacia la sinapsis inmunológica (SI) tras la estimulación con perlas anti-CD3. Panel superior: imágenes de fluorescencia (Mitotracker) e infrarrojo de un ejemplo representativo en una célula Jurkat. La línea amarilla señala la posición de la membrana plasmática. Panel inferior: imágenes de fluorescencia (Mitotracker) de un ejemplo representativo en una célula Jurkat tomadas con el uso de la microscopia de 2 fotones. Ambos experimentos muestran claramente el transporte preferencial de mitocondrias hacia la SI en el tiempo. La barra representa 5 μm.

(D) Secuencia de la captura de Ca^{2+} por las mitocondrias tras la formación de la SI en una célula Jurkat individual. Panel izquierdo: la fluorescencia de Rhod-2 muestra el incremento de las señales de Ca^{2+} en el interior de las mitocondrias en el tiempo. La foto de infrarrojo muestra claramente el punto de contacto entre la perla anti-CD3 y la célula. Nótese que las mitocondrias localizadas en la cercanía de la SI (flecha roja) muestran un mayor incremento en la fluorescencia del indicador de Ca^{2+} Rhod-2 que aquellas mitocondrias más distanciadas (flechas verdes) de la SI. Panel derecho: Cuantificación de la fluorescencia de Rhod-2 que confirma que las mitocondria localizadas en la cercanía de la SI toman mucho más Ca^{2+} que aquellas más alejadas. La barra representa 5 μm.

(E) Secuencia del transporte mitocondrial hacia la vecindad (~200 nm) de la SI después de la entrada de Ca^{2+} a través de los canales CRAC. Imágenes de fluorescencia (Mitotracker) e infrarrojo de un ejemplo representativo de una célula Jurkat tomadas antes (~2 min) y después de añadir una solución conteniendo 20 mM Ca^{2+} (6 y 20 min). Panel superior: célula en contacto con AcMs anti-CD3. Panel inferior: célula en contacto con AcMs anti-IgG. La barra representa 5 μm.

(F) Análisis estadístico de la fluorescencia de Mitotracker antes y después de la aplicación de una solución conteniendo 20 mM Ca^{2+}. El gráfico muestra los valores normalizados de la fluorescencia en células estimuladas con AcMs anti-IgG (controles) o anti-CD3 (SI). Nótese la ausencia significativa del transporte mitocondrial cuando la SI no fue inducida (AcMs anti-IgG).

extracelular (Feske, 2007; Hogan and Rao, 2007). Los canales ORAI1/CRAC son exquisitamente selectivos para los iones Ca^{2+}, su conductancia es extremadamente pequeña (en el rango de fS) y son rápidamente inactivados por la acumulación de Ca^{2+} cerca de la boca del canal (Feske, 2007; Hogan and Rao, 2007; Lewis, 2007).

Hoy es ampliamente aceptado que la liberación completa de Ca^{2+} del RE conlleva la máxima activación de los canales ORAI1/CRAC, máxima entrada de Ca^{2+} , máxima producción de interleuquinas y máxima activación y proliferación de las células T (Feske, 2007; Lewis, 2007; Parekh and Putney, 2005; Quintana et al., 2005). Sin embargo, recientemente hemos descubierto que las señales de Ca^{2+} en células T son mantenidas por un periodo de tiempo mayor después de la formación de la SI que cuando las células son estimuladas con anticuerpos o el compuesto tapsigargina (TG) disueltos en solución (Figura 1A) (Quintana et al., 2007). Estos dos últimos tratamientos son los métodos de estimulación más ampliamente usados para el estudio de las señales de Ca^{2+} in vitro en células T debido a que inducen la máxima liberación de Ca^{2+} del RE y, por tanto, la máxima activación de los canales ORAI1/CRAC, aunque no sean los métodos más fisiológicos para estimular dichas células. Mediante el uso de perlas recubiertas con anticuerpos monoclonales anti-CD3 o la combinación de anti-CD3 y anti-CD28, hemos sido capaces de inducir *in vitro* la formación de una SI funcional. Dicho estimulo fue capaz de inducir la reorganización de las fibras de actina y la proteína citosólica ZAP-70 directamente hacia la zona donde las células T hicieron contacto con las perlas, lo cual es considerado como uno de los principales marcadores de la formación de una SI funcional, ya que, sin esta acumulación especifica de las fibras de actina o de las proteínas ZAP-70, ninguna de las cascadas de señales a partir de la activación del complejo CD3/RCT tiene lugar (Dustin and Cooper, 2000). Sin embargo, a pesar de la estimulación de los complejos CD3/RCT con los mismos anticuerpos utilizados para recubrir las perlas, pero disueltos en solución a una concentración saturante (5 μg/ml), no pudo observarse ni la polarización de las fibras de actina ni la relocalización de las proteínas ZAP-70 en las células T. Esto sugiere que sólo la estimulación focal de los complejos CD3/RCT, como ocurre en condiciones fisiológicas, induce la polarización de las células T y, por consiguiente, la formación de una SI funcional. Por tanto, la pregunta que se imponía fue la siguiente: ¿De qué modo la SI induce señales de Ca^{2+} de mayor amplitud y/o más sostenidas independientemente de la máxima activación de los canales ORAI1/CRAC?

Una de las características biofísicas más significativas de los canales ORAI1/CRAC es su sensibilidad a la acumulación de Ca^{2+} cerca de los sitios del canal que controlan su inactivación (Lewis, 2001; Lewis, 2007; Parekh and Putney, 2005; Quintana et al., 2005). Es decir, que el Ca^{2+} que entra a través de los canales induce la inactivación de los mismos mediante la creación de un microdominio de Ca^{2+} directamente bajo el canal, lo cual se conoce como un proceso de retroalimentación negativa. En condiciones fisiológicas, esta inactivación de los canales CRAC es reducida significativamente por las mitocondrias, las cuales capturan rápidamente el Ca^{2+} que entra y lo exportan al citosol lejos de la membrana plasmática (Glitsch et al., 2002; Hoth et al., 2000; Hoth et al., 1997; Parekh and Putney, 2005; Quintana et al., 2005; Quintana and Hoth, 2004; Quintana et al., 2006). Esto ha quedado demostrado al medir directamente las corrientes de los canales CRAC en presencia de compuestos que reducen significativamente o bloquean completamente la captura de Ca^{2+} por las mitocondrias, viéndose en estas condiciones una clara inactivación de la entrada de Ca^{2+} a través de los canales (Glitsch et al., 2002; Hoth et al., 2000). Así que no fue sorprendente que el mantenimiento de las señales de Ca^{2+} en células T después de la formación de la SI fuera reducida hasta los niveles observados en células estimuladas con TG o anticuerpos monoclonales en presencia de compuestos como CCCP (Figura 1B) o antimicina/oligomicina (Quintana et al., 2007). Estos compuestos reducen la entrada de Ca^{2+} en las mitocondrias mediante la despolarización de la membrana mitocondrial, lo que conlleva la reducción de la fuerza electromotriz para la entrada de Ca^{2+} en las mitocondrias y, por tanto, aumentan la inactivación de los canales CRAC. Resultados similares fueron obtenidos cuando se bloqueó directamente el importador mitocondrial de Ca^{2+} con rojo de ruthenio o su análogo ruthenio 360 (Quintana et al., 2007). Estos resultados dejaron claro el importante papel de la homeostasis de Ca^{2+} en las mitocondrias para prolongar la entrada de Ca^{2+} y, por tanto, de las señales de Ca^{2+} en el citosol, quienes controlan el transporte de los factores de trascripción (como NFAT, AP1, NFκB) hacia el núcleo, y de la activación y proliferación de las células T. Sin embargo, estos resultados no explicaban por qué la captura de Ca^{2+} por las mitocondrias después de la formación de la SI inducía señales de Ca^{2+} más sostenidas que cuando las células eran estimuladas con anticuerpos que estimulan las mismas cascadas de señales. Como ya dijimos anteriormente, la eficiencia de las mitocondrias para capturar Ca^{2+} radica en gran medida en su localización dentro de las células (Pozzan and Rizzuto, 2000; Rizzuto and Pozzan, 2006). Por ello, decidimos analizar en detalle la localización de las mitocondrias antes y después de la formación de la SI. Con ese fin, utilizamos dos tipos de microscopía: la basada en epifluorescencia, y la microscopía de dos fotones. Para nuestra sorpresa, observamos que entre el 50 y el 70 % de las mitocondrias en células Jurkat (una línea celular de células T) y en linfocitos T $CD4^+$ se acumularon preferencialmente bajo la SI dentro de un radio menor a 1 μm, y comprobamos que esas mitocondrias eran capaces de capturar mucho más Ca^{2+} que las mitocondrias alejadas de la SI (Figura 1C - D) (Quintana et al., 2007). Esta relocalización específica de las mitocondrias no fue observada en células T estimuladas con anticuerpos en solución. Mediante el uso de la microscopia denominada TIRF (por sus siglas en ingles), se puede analizar eventos celulares en la vecindad de la membrana plasmática, ya que debido al ángulo de inflexión que se le aplica al láser, éste es capaz de penetrar en la célula tan sólo hasta 200 - 300 nm. Nosotros hicimos uso de dicha tecnología con el objetivo de ver cuán cerca se aproximan las mitocondrias a la SI. Para llevar a cabo este experimento, recubrimos los cubreobjetos con anticuerpos anti-CD3, con el objetivo de inducir la formación de la SI o con anticuerpos anti-IgG como controles. Sólo en las células que estuvieron en contacto con los anticuerpos anti-CD3 se observó un incremento de la fluorescencia perteneciente al marcador mitocondrial ("Mitotracker Green") pasado el tiempo, la cual fue significativamente diferente con respecto al ligero incremento observado en las células controles (Figura 1E - F). Esta acumulación de mitocondrias en la vecindad de la SI fue absolutamente dependiente de la entrada de Ca^{2+} vía canales CRAC, ya que en la presencia de 2APB o BTP2, compuestos que bloquean específica y directamente los canales, el transporte de las mitocondrias hacia la cercanía de la SI fue reducida de una manera significativa (Quintana et al., 2007). Con estos resultados queda demostrado que el movimiento preferencial de las mitocondrias hacia la SI y su cercana localización a la membrana plasmática depende de la entrada de Ca^{2+} vía los canales CRAC. Sin embargo, el mismo Ca^{2+} que entra a la célula a través de dichos canales induce la inactivación de los mismos sino es rápidamente removido de la vecindad de los canales. Por tanto, podemos decir que tenemos un mecanismo de retroalimentación positivo entre los canales CRAC y el transporte mitocondrial en células T donde el ión Ca^{2+} funciona como intercomunicador, ya que su aumento en el citosol activa el transporte mitocondrial específicamente hacia la SI y la acumulación de las mitocondrias en la vecindad de la SI funciona como un aspirador de los iones de Ca^{2+} que se acumulan

en la cercanía de los canales CRAC, garantizando de esta manera la actividad sostenida de los canales y, por tanto, la activación y proliferación de las células T dependiente de Ca^{2+}.

Tanto el transporte como la localización de cualquier orgánulo subcelular son llevados a cabo por proteínas motoras que interaccionan con proteínas adaptadoras insertadas directamente o asociadas con otras proteínas, formando complejos proteicos en las membranas de esos orgánulos (Hirokawa and Takemura, 2005; Vale, 2003). Las proteínas motoras se desplazan arrastrando su carga a lo largo de los microtúbulos o las fibras de actina. Mediante el bloqueo de la función de las proteínas motoras y de la polimerización de las fibras de actina, hemos podido evaluar su contribución en el transporte mitocondrial específico hacia la vecindad de la SI en las células T. La localización muy cercana de las mitocondrias a la membrana plasmática fue abruptamente bloqueada cuando se evitó la polimerización de las fibras de actina mediante el uso de fármacos que destruyen la interconexión entre estas fibras, lo que demuestra que las fibras de actina son la vía de acceso a la vecindad (~ 200 nm) de la SI (Quintana et al., 2007). Como consecuencia, las señales de Ca^{2+} decayeron significativamente, debido a la inactivación de los canales CRAC por la acumulación de Ca^{2+} en la cercanía de la boca de los canales, ya que ninguno de los compuestos usados (latrunculin A o B y cytochalasin D) tuvieron ningún efecto directo sobre la captura de Ca^{2+} por las mitocondrias, ni sobre la entrada de Ca^{2+} a través de los canales CRAC (Quintana et al., 2007). Se hallaron efectos similares al inhibir la función de las proteínas motoras dineina o kinesina (Quintana et al., 2006; Quintana et al., 2007), las cuales han sido implicadas en el transporte de diferentes orgánulos de forma cooperativa, entre los cuales se encuentra el transporte de mitocondrias a lo largo de los microtúbulos en diferentes tipos celulares (Hollenbeck and Saxton, 2005; Pilling et al., 2006; Serbus et al., 2005; Varadi et al., 2004). Es bien sabido que los microtúbulos y las fibras de actina se interconectan cuando los primeros llegan a la región cortical de la célula donde los segundos se localizan exclusivamente, lo cual explica cómo las vesículas secretoras son transportadas desde el interior de las células a lo largo de los microtúbulos hasta acumularse en la cercanía de la membrana plasmática, para luego ser liberadas al medio extracelular (Hirokawa and Takemura, 2005; Rodriguez et al., 2003; Vale, 2003). Estos resultados nos permiten sugerir que el transporte mitocondrial en células T ocurre en dos fases que se solapan en el tiempo. En la primera fase, existe un movimiento

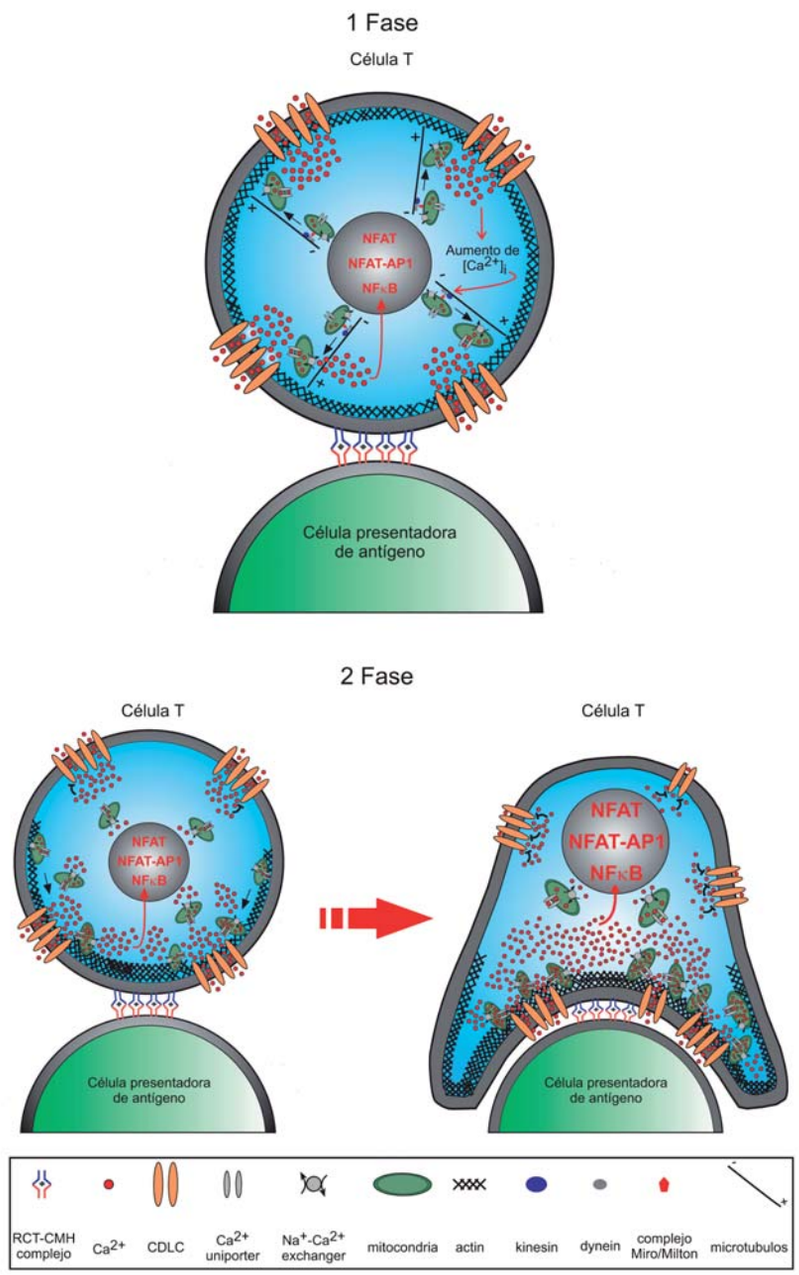


Figura 2: Modelo de activación dependiente de Ca2+ de las células T tras la formación de la sinapsis inmunológica (tomado y modificado a partir de (Quintana et al., 2006; Quintana et al., 2007) con permiso de JBC y PNAS, respectivamente).
En la 1ª fase, la activación de los receptores de células T (RCT) mediante la formación de la sinapsis inmunológica (SI) induce la máxima liberación de Ca^{2+} de los depósitos intracelulares, lo cual conlleva a la activación máxima de los canales de Ca^{2+} CRAC localizados en la membrana plasmática, produciendo un rápido aumento de la concentración de Ca^{2+} en el citosol. Este aumento, por sí solo, activa el transporte de las mitocondrias en dirección a la membrana plasmática a lo largo de los microtúbulos mediado por las proteínas motoras dineina y kinesina. El transporte mitocondrial se activa muy probablemente por vía de los sensores de Ca^{2+} Miro, proteína localizada en la membrana de las mitocondrias que interacciona a través de la proteína adaptadora Milton con las proteínas motoras. Las mitocondrias llegan a localizarse dentro de un radio de 1 μm de la SI, lo cual facilita la captura de Ca^{2+} por las mitocondrias y por tanto la actividad sostenida de los canales ORAI/CRAC. Sin embargo, la captura de Ca^{2+} se facilita aún más cuando las mitocondrias logran alcanzar la corteza celular (donde se localizan las fibras de actina) para ubicarse en un radio de unos 200 nm de la membrana plasmática, preferencialmente bajo la SI. Esto ocurre en la 2ª fase de la activación celular, cuando las fibras de actina se relocalizan hacia la SI, induciendo lo que se conoce como la polarización de las células T, vital para la acumulación de los RCT y de otras enzimas implicadas en las cascadas de señales que finalmente controlan la activación de las células T. Dicha polarización celular también induce cambios dramáticos en la morfología de las células T, que reducen aún más la distancia entre las mitocondrias y la membrana plasmática. Todos estos procesos resultan finalmente en una captura de Ca^{2+} por parte de las mitocondria mucho más eficiente y, por tanto, en una actividad de los canales CRAC mucho más mantenida, lo que es esencial para la activación y expansión clonal de las células T.

rápido de las mitocondrias más lejanas en dirección a la membrana plasmática hasta alcanzar la región cortical (Quintana et al., 2006). Una vez allí, acceden, por un mecanismo todavía desconocido, a las fibras de actina para que luego, mediante la re-organización de éstas tras la estimulación celular, se transporten en una segunda fase hacia la SI, llegando a localizarse a distancias menores de 200 nm de los canales de Ca^{2+} (Figura 2). La posible contribución de otras proteínas motoras en el transporte de las mitocondrias específicamente a lo largo de las fibras de actina no debe ser descartado, aunque no existan aún evidencias convincentes de su participación en dicho proceso celular. Varios estudios proponen como candidato potencial a la proteína Miosina V, la cual es capaz de interaccionar con las fibras de actina, los microtúbulos y las proteínas motoras kinesina y dineina (Hollenbeck and Saxton, 2005; Pilling et al., 2006; Reck-Peterson et al., 2000; Reck-Peterson et al., 2001; Serbus et al., 2005). Estos estudios, por tanto, nos llevan a pensar y especular que las proteínas Miosina V son quizás el eslabón perdido que conecta el transporte de orgánulos entre los microtúbulos y las fibras de actina.

Muy recientemente hemos descrito también que las fibras de actina son esenciales para las deformaciones morfológicas durante y después de la formación de la SI (Quintana et al., 2007). Es interesante que, cuando se comparan células T con o sin deformaciones morfológicas después de la formación de una SI funcional, encontramos que las células del primer grupo muestran señales de Ca^{2+} más elevadas así como un mayor número de mitocondrias en la cercanía de la membrana plasmática que las del segundo grupo, a pesar de que tanto la formación de la SI como la activación de los canales CRAC fue máxima en ambos grupos celulares (Quintana et al., 2009). Estos cambios morfológicos en las células T dependientes de las fibras de actina (Dustin and Cooper, 2000; Jacobelli et al., 2004; Negulescu et al., 1996) han sido previamente correlacionados con un aumento de las señales de Ca^{2+}, aunque sin determinarse el mecanismo celular a través del cual las fibras de actina inducen un incremento en la concentración de Ca^{2+} intracelular (Delon et al., 1998; Donnadieu et al., 1994; Donnadieu et al., 1992; Negulescu et al., 1996). Haciendo estudios más detallados sobre la influencia de la morfología celular en las señales de Ca^{2+}, hemos hallado una correlación muy estrecha entre el número de mitocondrias en la cercanía de la membrana plasmática específicamente en la vecindad de la SI, la actividad de los canales CRAC y la morfología de las células T dependientes de las fibras de actina. Estos resultados nos llevaron a concluir que las deformaciones de la membrana plasmática dependiente de las fibras de actina en células T durante la formación de la SI permiten el acercamiento de las mitocondrias aún más a los canales CRAC, lo cual resulta en una muy eficiente captura de Ca^{2+} por parte de las mitocondrias y, por tanto, en una más efectiva reducción de la acumulación de Ca^{2+} cerca de los sitios que controlan la inactivación de los canales (Quintana et al., 2009).

Finalmente, proponemos un modelo en el cual la polarización de las células T inducida por la SI y controlada por la polimerización de las fibras de actina en conjunto con la entrada de Ca^{2+} por los canales CRAC, activa el transporte direccional de las mitocondrias hacia la SI, que es llevado a cabo en su primera fase por las proteínas motoras kinesina y dineina a lo largo de los microtúbulos y, en una segunda fase, por las fibras de actina. Además, las deformaciones de la membrana plasmática durante la formación de la SI también regulan la localización final de las mitocondrias con respecto a los canales CRAC, lo que determina finalmente la eficiencia con la cual las mitocondrias reducen el microdominio de Ca^{2+} en la vecindad de los canales. Por tanto, debido a la localización preferencial de las mitocondrias bajo la SI, proponemos así mismo que sólo aquellos canales localizados en la SI permanecerán activos durante un periodo de tiempo significativo y, por tanto, son éstos los canales que contribuyen significativamente al mantenimiento de la señal de Ca^{2+}, permitiendo así el transporte de los factores de transcripción (NFAT, AP1, NFκB, por sus siglas en inglés) hacia el núcleo y, por tanto, la activación y expansión clonal de las células T (Figura 2). A este modelo podríamos añadir el sensor de Ca^{2+} que se localiza en la membrana mitocondrial llamado Miro que interacciona con las proteínas motoras a través de la proteína adaptadora Milton (Saotome et al., 2008; Wang and Schwarz, 2009). Esta proteína integral de membrana posee dos dominios de afinidad por Ca^{2+}, conocidos como "manos EF", mediante los cuales es capaz de monitorizar los niveles de Ca^{2+} en el citosol y transmitir dicha señal a las proteínas motoras.

Perspectivas

Aunque hoy tengamos una idea más clara de la importancia de la homeostasis de Ca^{2+} en las mitocondrias para la activación y proliferación de las células T, hay aún muchos aspectos que no entendemos o no sabemos mecanísticamente cómo ocurren. Un ejemplo es el mecanismo molecular desconocido que facilita el acceso de las mitocondrias desde los microtúbulos a las fibras de actina. Otro ejemplo es cómo reconoce el sensor de Ca^{2+} entre el Ca^{2+} liberado de los almacenes intracelulares y el que entra por vías de los canales CRAC que finalmente activa el transporte mitocondrial. Una pregunta básica es si las mitocondrias en la vecindad de la SI tienen otra función mas allá de sostener la actividad de los canales CRAC, como el suministro de ATP u otros productos del metabolismo mitocondrial localmente. Finalmente, otro aspecto a investigar es si las mitocondrias, con su gran capacidad de capturar Ca^{2+}, regulan la función de otras proteínas localizadas en la membrana plasmática cuya actividad es modulada por Ca^{2+}, como por ejemplo las bombas de Ca^{2+}, los intercambiadores Na^{+}-Ca^{2+}, o los canales de K^{+} dependientes de Ca^{2+}.

Agradecimientos

Esta revisión está dedicada a mis padres Emérito Ramón Quintana García y Maria Antonia González Rodríguez, por su dedicación y vehemencia, sin la cual nunca hubiese podido llegar hasta aquí. Las investigaciones en nuestro laboratorio son financiadas por el Ministerio Alemán de Investigaciones Científicas (Deutsche Forschungsgemeinschaft, macro proyecto SFB 530, sub-proyecto A3, DFG Grant HO 2190/1-2) y por el Colegio de Graduados (Graduate Colleges "Molecular, physiological and pharmacological analysis of cellular membrane transport" and "Calcium signalling and nanodomains") todos a nombre del Prof. Markus Hoth y por un proyecto intra-facultad (HOMFOR) a nombre de Ariel Quintana.

Bibliografía

Delon, J., N. Bercovici, R. Liblau, and A. Trautmann. 1998. Imaging antigen recognition by naive CD4+ T cells: compulsory cytoskeletal alterations for the triggering of an intracellular calcium response. Eur J Immunol. 28:716-29.

Donnadieu, E., G. Bismuth, and A. Trautmann. 1994. Antigen recognition by helper T cells elicits a sequence of distinct changes of their shape and intracellular calcium. Curr Biol. 4:584-95.

Donnadieu, E., D. Cefai, Y.P. Tan, G. Paresys, G. Bismuth, and A. Trautmann. 1992. Imaging early steps of human T cell activation by antigen-presenting cells. J Immunol. 148:2643-53.

Dustin, M.L. 2005. A dynamic view of the immunological synapse. Semin Immunol. 17:400-10.

Dustin, M.L., and J.A. Cooper. 2000. The immunological synapse and the actin cytoskeleton: molecular hardware for T cell signaling. Nat Immunol. 1:23-9.

Feske, S. 2007. Calcium signalling in lymphocyte activation and disease. Nat Rev Immunol. 7:690-702.

Feske, S., Y. Gwack, M. Prakriya, S. Srikanth, S.H. Puppel, B. Tanasa, P.G. Hogan, R.S. Lewis, M. Daly, and A. Rao. 2006. A mutation in Orai1 causes immune deficiency by abrogating CRAC channel function. Nature. 441:179-85.

Feske, S., M. Prakriya, A. Rao, and R.S. Lewis. 2005. A severe defect in CRAC Ca^{2+} channel activation and altered K+ channel gating in T cells from immunodeficient patients. J Exp Med. 202:651-62.

Friedl, P., A.T. den Boer, and M. Gunzer. 2005. Tuning immune responses: diversity and adaptation of the immunological synapse. Nat Rev Immunol. 5:532-45.

Giacomello, M., I. Drago, P. Pizzo, and T. Pozzan. 2007. Mitochondrial Ca^{2+} as a key regulator of cell life and death. Cell Death Differ. 14:1267-74.

Glitsch, M.D., D. Bakowski, and A.B. Parekh. 2002. Store-operated Ca^{2+} entry

depends on mitochondrial Ca^{2+} uptake. Embo J. 21:6744-54.

Hirokawa, N., and R. Takemura. 2005. Molecular motors and mechanisms of directional transport in neurons. Nat Rev Neurosci. 6:201-14.

Hogan, P.G., and A. Rao. 2007. Dissecting ICRAC, a store-operated calcium current. Trends Biochem Sci. 32:235-45.

Hollenbeck, P.J., and W.M. Saxton. 2005. The axonal transport of mitochondria. J Cell Sci. 118:5411-9.

Hoth, M., D.C. Button, and R.S. Lewis. 2000. Mitochondrial control of calcium-channel gating: a mechanism for sustained signaling and transcriptional activation in T lymphocytes. Proc Natl Acad Sci U S A. 97:10607-12.

Hoth, M., C.M. Fanger, and R.S. Lewis. 1997. Mitochondrial regulation of store-operated calcium signaling in T lymphocytes. J Cell Biol. 137:633-48.

Jacobelli, J., P.G. Andres, J. Boisvert, and M.F. Krummel. 2004. New views of the immunological synapse: variations in assembly and function. Curr Opin Immunol. 16:345-52.

Lewis, R.S. 2001. Calcium signaling mechanisms in T lymphocytes. Annu Rev Immunol. 19:497-521.

Lewis, R.S. 2007. The molecular choreography of a store-operated calcium channel. Nature. 446:284-7.

Mitchell, P., and J. Moyle. 1968. Proton translocation coupled to ATP hydrolysis in rat liver mitochondria. Eur J Biochem. 4:530-9.

Mitchell, P., and J. Moyle. 1970. Influence of aurovertin on affinity of mitochondrial adenosine triphosphatase for ATP and ADP. FEBS Lett. 6:309-311.

Negulescu, P.A., T.B. Krasieva, A. Khan, H.H. Kerschbaum, and M.D. Cahalan. 1996. Polarity of T cell shape, motility, and sensitivity to antigen. Immunity. 4:421-30.

Parekh, A.B., and J.W. Putney, Jr. 2005. Store-operated calcium channels. Physiol Rev. 85:757-810.

Pilling, A.D., D. Horiuchi, C.M. Lively, and W.M. Saxton. 2006. Kinesin-1 and Dynein are the primary motors for fast transport of mitochondria in Drosophila motor axons. Mol Biol Cell. 17:2057-68.

Pozzan, T., M. Bragadin, and G.F. Azzone. 1977. Disequilibrium between steady-state Ca^{2+} accumulation ratio and membrane potential in mitochondria. Pathway and role of Ca^{2+} efflux. Biochemistry. 16:5618-25.

Pozzan, T., and R. Rizzuto. 2000. High tide of calcium in mitochondria. Nat Cell Biol. 2:E25-7.

Quintana, A., D. Griesemer, E.C. Schwarz, and M. Hoth. 2005. Calcium-dependent activation of T-lymphocytes. Pflugers Arch. 450:1-12.

Quintana, A., and M. Hoth. 2004. Apparent cytosolic calcium gradients in T-lymphocytes due to fura-2 accumulation in mitochondria. Cell Calcium. 36:99-109.

Quintana, A., C. Kummerow, C. Junker, U. Becherer, and M. Hoth. 2009. Morphological changes of T cells following formation of the immunological synapse modulate intracellular calcium signals. Cell Calcium. 45:109-22.

Quintana, A., E.C. Schwarz, C. Schwindling, P. Lipp, L. Kaestner, and M. Hoth. 2006. Sustained activity of calcium release-activated calcium channels requires translocation of mitochondria to the plasma membrane. J Biol Chem. 281:40302-9.

Quintana, A., C. Schwindling, A.S. Wenning, U. Becherer, J. Rettig, E.C. Schwarz, and M. Hoth. 2007. T cell activation requires mitochondrial translocation to the immunological synapse. Proc Natl Acad Sci U S A.

Reck-Peterson, S.L., D.W. Provance, Jr., M.S. Mooseker, and J.A. Mercer. 2000. Class V myosins. Biochim Biophys Acta. 1496:36-51.

Reck-Peterson, S.L., M.J. Tyska, P.J. Novick, and M.S. Mooseker. 2001. The yeast class V myosins, Myo2p and Myo4p, are nonprocessive actin-based motors. J Cell Biol. 153:1121-6.

Rizzuto, R., M. Brini, M. Murgia, and T. Pozzan. 1993. Microdomains with high Ca^{2+} close to IP3-sensitive channels that are sensed by neighboring mitochondria. Science. 262:744-7.

Rizzuto, R., and T. Pozzan. 2006. Microdomains of intracellular Ca^{2+}: molecular determinants and functional consequences. Physiol Rev. 86:369-408.

Rodriguez, O.C., A.W. Schaefer, C.A. Mandato, P. Forscher, W.M. Bement, and C.M. Waterman-Storer. 2003. Conserved microtubule-actin interactions in cell movement and morphogenesis. Nat Cell Biol. 5:599-609.

Roos, J., P.J. DiGregorio, A.V. Yeromin, K. Ohlsen, M. Lioudyno, S. Zhang, O. Safrina, J.A. Kozak, S.L. Wagner, M.D. Cahalan, G. Velicelebi, and K.A. Stauderman. 2005. STIM1, an essential and conserved component of store-operated Ca^{2+} channel function. J Cell Biol. 169:435-45.

Saotome, M., D. Safiulina, G. Szabadkai, S. Das, A. Fransson, P. Aspenstrom, R. Rizzuto, and G. Hajnoczky. 2008. Bidirectional Ca^{2+}-dependent control of mitochondrial dynamics by the Miro GTPase. Proc Natl Acad Sci U S A. 105:20728-33.

Serbus, L.R., B.J. Cha, W.E. Theurkauf, and W.M. Saxton. 2005. Dynein and the actin cytoskeleton control kinesin-driven cytoplasmic streaming in Drosophila oocytes. Development. 132:3743-52.

Vale, R.D. 2003. The molecular motor toolbox for intracellular transport. Cell. 112:467-80.

Varadi, A., L.I. Johnson-Cadwell, V. Cirulli, Y. Yoon, V.J. Allan, and G.A. Rutter. 2004. Cytoplasmic dynein regulates the subcellular distribution of mitochondria by controlling the recruitment of the fission factor dynamin-related protein-1. J Cell Sci. 117:4389-400.

Vasington, F.D., and J.V. Murphy. 1962. Ca ion uptake by rat kidney mitochondria and its dependence on respiration and phosphorylation. J Biol Chem. 237:2670-7.

Wang, X., and T.L. Schwarz. 2009. The mechanism of Ca^{2+} -dependent regulation of kinesin-mediated mitochondrial motility. Cell. 136:163-74.

Correspondencia:
Ariel Quintana
Biophysics Department, Medical Faculty University of Saarland ,Building 58
D-66421 Homburg, Germany
tel: +49-6841-1626465
fax: +49-6841-1626060
email: ptaqgo@uk.eu

Carlos Belmonte Martínez, Premio Nacional de Investigación Gregorio Marañón.

El premio Nacional de Medicina "Gregorio Marañón" ha recaído en la edición del año 2008 en el Profesor Carlos Belmonte, investigador del Instituto de Neurociencias (centro mixto de la Universidad Miguel Hernández y el Consejo Superior de Investigaciones Científicas). Este galardón, que es otorgado por el Gobierno de España, y está dotado en esta edición con la cantidad de 100.000 euros, viene a sumarse a otros reconocimientos ya obtenidos en la larga trayectoria profesional de Carlos Belmonte.

Los Premios Nacionales son concedidos por una investigación relevante en el campo de una especialidad y los candidatos han de ser investigadores de nacionalidad española en activo. El objetivo de los Premios Nacionales de Investigación es el de reconocer el mérito de aquellos investigadores españoles que estén realizando una labor destacada en campos científicos de relevancia internacional, y que contribuyan al avance de la ciencia, al mejor conocimiento del hombre y su convivencia, a la transferencia de tecnología y al progreso de la Humanidad. En el caso del premio Gregorio Marañón, el premio corresponde al área de Medicina.

El jurado de esta última edición, presidido por D. Màrius Rubiralta Alcañiz, Secretario de Estado de Universidades, e integrado por los vocales D. Lina Badimon Maestro, D. Enrique Battaner Arias, D. María Blasco Marhuenda, D.María Domínguez Castellano y D. Enrique Moreno González, y actuando como Secretaria D. Otilia Mó Romero, Directora General de Programas y Transferencia de Conocimiento decidió, en su reunión de 11 de marzo de 2009, otorgar el prestigioso galardón a Carlos Belmonte Martínez. Actualmente, Carlos Belmonte preside el comité ejecutivo de la Organización Internacional para la Investigación del Cerebro. Es Doctor en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid, miembro de la Academia Europea, de la Real Academia de Ciencias de España y de la Academia de Ciencias y Literatura de Maguncia (Alemania).

La ceremonia de entrega de los Premios Nacionales de Investigación 2008, presidida por el rey D. Juan Carlos, tuvo lugar el 1 de junio de 2009 en el Salón de Columnas del Palacio Real y en ella participó Cristina Garmendia, titular del Ministerio de Ciencia e Innovación, al que corresponde actualmente la asignación de estos premios.
El Rey animó en su discurso a impulsar el avance de la investigación, el desarrollo y la innovación en España "precisamente en estos momentos de grave crisis económica", como "herramienta clave", junto con la educación, de la recuperación del crecimiento económico y del bienestar.
Don Juan Carlos elogió el "insustituible papel" de los cinco premiados en las diferentes áreas a la hora de fomentar "el atractivo del conocimiento" entre las nuevas generaciones y suscitar vocaciones investigadoras, así como sus contribuciones en áreas como la biomedicina, el cáncer y el envejecimiento, los biomateriales, el Estado de Derecho y la gran literatura española del Siglo de Oro. Además de Belmonte, en esta edición fueron premiados Carlos López Otín (Biología); María Vallet Regí (Ingenierías); Francisco Javier Laporta San Miguel (Derecho y Ciencias Económicas y Sociales); y Aurora Egido Martínez (Humanidades). "Con este acto -declaró D. Juan Carlos-, reconocemos la alta calidad de los trabajos galardonados, así como la suma de cualidades que han permitido a sus autores llevarlos a buen término, potenciando la excelencia de la tradición investigadora de España".

Actualmente, Carlos Belmonte preside el comité ejecutivo de la Organización Internacional para la Investigación del Cerebro. Es Doctor en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid, miembro de la Academia Europea, de la Real Academia de Ciencias de España y de la Academia de Ciencias y Literatura de Maguncia (Alemania).

Carlos Belmonte, segundo por la izquierda, con Don Juan Carlos, el resto de los galardonados, la ministra de Ciencia e Innovación y el secretario de Estado de Investigación.

Teresa Giráldez Fernández, premiada por la Biophysical Bociety.

La Dra. Teresa Giráldez ha recibido el premio internacional "Margaret Oakley Dayhoff" durante la celebración del 53º Congreso de la American Biophysical Society, que tuvo lugar en Boston del 28 de febrero al 4 de marzo de este año. El galardón le fue otorgado por la puesta a punto y aplicación de una técnica pionera, Patch Clamp Fluorometry, que permite progresar en el conocimiento de los canales iónicos. La fluorimetría de patch es una nueva aproximación al estudio de la relación entre estructura y función de los canales iónicos insertados en membranas, la cual permite observar directamente los movimientos de compuerta en un canal aislado.

Este premio se concede anualmente en honor a la doctora Margaret Oakley Dayhoff, que fue presidenta de la Sociedad de Biofísica Americana, profesora de Biofísica de la Universidad de Georgetown y directora de investigación de la National Biomedical Research Foundation.

Desde que se instauró este premio, en 1984, Teresa Giráldez es la primera investigadora en recibirlo por un trabajo realizado fuera del territorio de Estados Unidos. De hecho, en esta edición, comparte galardón con Adrienne L. Fairhall,de la University of Washington, y Jin Zhang, de la Johns Hopkins University School of Medicine. La ponencia presentada por Giráldez en la ceremonia de entrega llevaba por título: "Combining Patch-clamp and Fluorescence to Study Structural Dynamics of Ion Channels"

La Dra. Giráldez, nacida en Oviedo, estudió en la Universidad de esta ciudad la carrera de Química y allí se doctoró, para posteriormente continuar su formación en la universidad de Yale, en Boston. Actualmente, reside con su marido y sus dos hijos en Tenerife, donde trabaja en la Unidad de Investigación del Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria (HUNSC). Es en este centro donde ha desarrollado el trabajo que le ha llevado a ganar la última edición de tan prestigioso premio.

La Dra. Giráldez recibiendo el galardón de manos del Dr. Harel Weinstein, presidente de la Biophysical Society

En su laboratorio se siguen distintas líneas de investigación, que tienen como eje central el estudio de las bases moleculares y estructurales de la función y regulación de los canales iónicos ENaC (epithelial sodium channel) y BK (canales de potasio regulado por calcio y voltaje). Para ello, combinan una gran variedad de técnicas de biología molecular, genética, microscopia, fluorimetría y electrofisiología.

Obituario: Carlos Eyzaguirre (1923-2009).

El pasado día 2 de Febrero, falleció en su Chile natal a los 86 años de edad Carlos Eyzaguirre Edwards, uno de los más distinguidos neurofisiólogos de la segunda mitad del siglo XX y maestro, directo o indirecto, de muchos de los actuales neurocientíficos españoles en ese campo.

La vida de Carlos Eyzaguirre ejemplifica los avatares a que se veían expuestos los jóvenes de su generación nacidos en países con escasa tradición científica y con deseos de desarrollar una carrera investigadora. Tras licenciarse como médico en la Universidad Católica de Chile y doctorarse en la Universidad de Chile, Carlos Eyzaguirre marchó a Estados Unidos en 1948 como Residente en el Departamento de Medicina de la *Johns Hopkins School of Medicine*. Allí inició también su trabajo investigador bajo la dirección del Profesor Joseph Lilienthal, estudiando la farmacología de la unión neuromuscular junto al Dr. Leonard Jarcho, con quien mantuvo una amistad profunda a lo largo de toda su vida. Volvió a Chile en 1951 como Profesor Adjunto de Neurofisiología en la Universidad Católica al departamento que dirigía Joaquin Luco, demostrando desde allí que la aparición de fibrilación y supersensibilidad en la unión neuromuscular tras la lesión nerviosa se retrasaba en función de la distancia de la lesión. Su trabajo de esos años ha pasado a ser referencia obligada, décadas mas tarde, en los estudios sobre flujo axónico y dependencia neurotrófica del músculo.

En 1953, Eyzaguirre recibió la oferta de volver a la Universidad Johns Hopkins, esta vez como *Guggenheim Fellow del Wilmer Eye Institute* invitado por Stephen Kuffler, uno de los gigantes de la neurociencia del siglo XX, con el que llevó a cabo una serie de elegantes experimentos en el receptor de distensión del cangrejo, en los que lograron el primer registro intracelular del potencial generador en neuronas sensoriales y describieron la relación entre la amplitud de éste y la respuesta propagada en los receptores sensoriales. En su trabajo mostraron, también por vez primera, la existencia de un control eferente de la actividad sensorial por el sistema nervioso central y el magnífico análisis de su mecanismo constituye, con el trabajo contemporáneo de Eccles y sus colaboradores, la base de los estudios posteriores sobre los procesos de membrana que median la inhibición postsináptica. Las publicaciones y figuras de Eyzaguirre y Kuffler sobre la transducción sensorial en aquel mecanorreceptor son referencia obligada en los tratados de neurociencia y aparecen desde hace décadas en todos los libros de Fisiología del mundo.

Tras un fallido intento de reincorporación a la ciencia de su patria natal, Eyzaguirre se afincó definitivamente en la Universidad de Utah en Estados Unidos, de cuyo Departamento de Fisiología, uno de los más prestigiosos del país en esa época, fue Profesor y luego Director durante 25 años. Mientras preparaba sus primeras clases de fisiología de la respiración para estudiantes de medicina, se vio atraído por el enigmático 'cuerpo o glomus carotídeo' y decidió comenzar su estudio funcional, al que dedicó el resto de su vida científica. Fue una vez más, pionero en el uso de una preparación 'in vitro' para el registro de las fibras nerviosas y las células de este órgano, lo que le permitió dar un salto cualitativo en el análisis electrofisiológico de las terminaciones y células del glomus, si bien hubo de luchar ardientemente para convencer a sus colegas de la viabilidad de un modelo experimental de tejido 'ex vivo', que hoy se emplea de modo rutinario en esa y otras muchas estructuras biológicas. Las contribuciones de Carlos Eyzaguirre al estudio de los mecanismos celulares que sustentan la función de los quimiorreceptores arteriales han sido decisivas y constituyen parte fundamental del actual conocimiento sobre el papel de los quimiorreceptores en la regulación nerviosa de la respiración. Su indiscutido prestigio internacional le granjeó numerosos honores y reconocimientos en Estados Unidos y en el mundo, incluyendo Doctorados Honoris Causa en Santiago de Chile, Madrid y Barcelona, las medallas Ramón y Cajal en España y Claude Bernard en Francia y la presidencia de honor de la *International Society for Arterial Chemoreception*.

Carlos Eyzaguirre formó a su lado a multitud de jóvenes científicos de todo el mundo, pero nunca perdió el interés y su vinculación afectiva con la ciencia hispanohablante. Por su laboratorio pasaron a entrenarse muchos neurocientíficos latinoamericanos (J. Lewin, P. Zapata, J. Alcayaga y J. Eugenin de Chile y L. Monti-Bloch y V. Abudara de Uruguay entre otros) y españoles (Margarita Barón, Carlos Belmonte, Roberto Gallego, Constancio González o Arcadio Gual, por citar a los más veteranos). Su generosidad con todos ellos, ofreciéndoles en su casa, junto a su esposa Elena, el calor familiar que habían dejado atrás y donándoles a la hora del regreso, equipos y medios para instalarse en su lugar de origen, contribuyó sin duda al florecimiento de muchos laboratorios de neurofisiología en España y a la existencia hoy en nuestro país, de una investigación en quimiorrecepción puntera a nivel mundial.

Y siendo tan admirables los logros científicos, las cualidades intelectuales y el inacabable entusiasmo por el trabajo de Carlos Eyzaguirre, serán sin duda sus extraordinarios valores humanos los que mantendrán, entre quienes le conocimos de cerca, el recuerdo de una persona irrepetible, que combinaba la discreción y la elegancia espiritual y física con un profundo sentido de la amistad. Con Carlos Eyzaguirre, desaparecen un ejemplo y una referencia únicos de caballerosidad y distinción en el mundo de la ciencia. Quienes tuvimos, además, el privilegio de aprender a su lado primero y devenir luego sus amigos, perdemos también a un compañero profundamente admirado y querido, cuya imagen, sin embargo, permanecerá siempre en nosotros como modelo a imitar.

Carlos Belmonte
Margarita Barón
Roberto Gallego
Constancio González
Arcadi Gual

La obesidad y el genotipo ahorrador.

José Enrique Campillo Álvarez. Catedrático de Fisiología de la Universidad de Extremadura.

La obesidad está alcanzando rango de epidemia en los países desarrollados. El exceso de peso promueve el desarrollo de numerosas enfermedades como diabetes, hipertensión, o dislipemia, entre otras muchas. Hoy se considera a la obesidad como uno de los principales factores de riesgo cardiovascular.

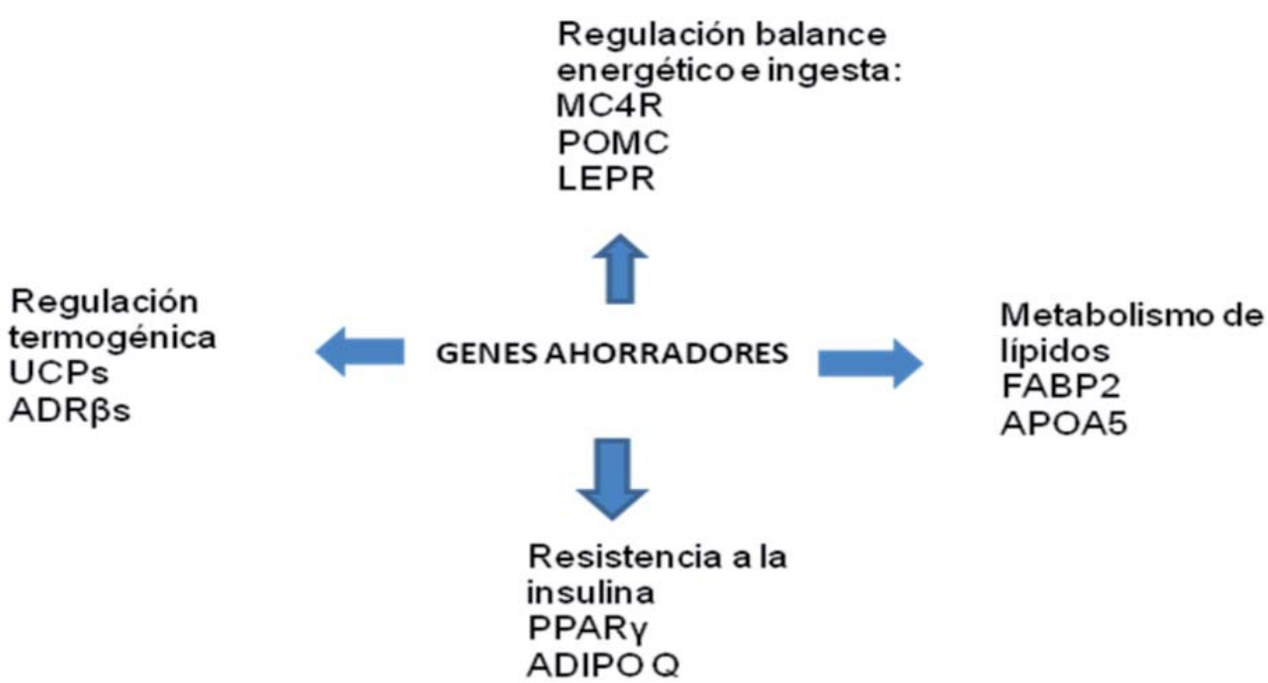
Uno de los métodos más novedosos para abordar las causas de la obesidad y las estrategias para su prevención y tratamiento nos lo proporciona la llamada Medicina Darviniana o Evolucionista. La medicina darviniana considera a la obesidad como la consecuencia de una discrepancia entre nuestro diseño evolutivo (la adaptación a la supervivencia en entornos escasos en alimentos) y la forma de vida actual (una abundancia constante de alimentos que podemos conseguir sin apenas realizar esfuerzo físico).

Se ha dicho que los seres humanos somos hijos del hambre. Nuestros antecesores nunca tuvieron garras, ni colmillos, ni poseían mucha fuerza muscular, ni corrían a gran velocidad. Con estas deficiencias físicas y la pobreza en recursos de casi todos los escenarios en donde transcurrió nuestra evolución, el conseguir alimento debería de ser una labor incierta, que incluía largos periodos de hambrunas y que requería un gran esfuerzo físico. A lo largo de los millones de años de evolución, nuestros ancestros lograron adaptarse a estos ambientes difíciles acumulando mutaciones genéticas ventajosas. A esta especial condición genética adquirida a lo largo de la evolución de la especie humana se le ha denominado "Genotipo ahorrador o *thrifty genotype*". Diversos estudios han identificado algunas SNPs (single nucleotide polymorphisms) que constituyen el fundamento del Genotipo Ahorrador. La mayor parte de estas SNPs afectan a genes que controlan el metabolismo energético a diferentes niveles y que regulan los mecanismos que controlan la ingestión de alimentos.

Los genes que conforman el genotipo ahorrador aumentan la eficacia en la extracción de energía y su almacenamiento a partir de los alimentos, de tal forma que favorecen la acumulación de grasa en épocas de abundancia. Durante los periodos de escasez de alimentos, los individuos con genes ahorradores tendrían ventaja de supervivencia y de reproducción, al poder recurrir a la energía extra almacenada previamente en sus depósitos grasos. Todos nosotros poseemos esencialmente un genotipo paleolítico y en mayor o menor proporción albergamos en nuestro genoma algunos de esos genes ahorradores. Nuestra mayor o menor tendencia a engordar depende de la proporción en que estos genes ahorradores estén presentes en nuestro genoma.

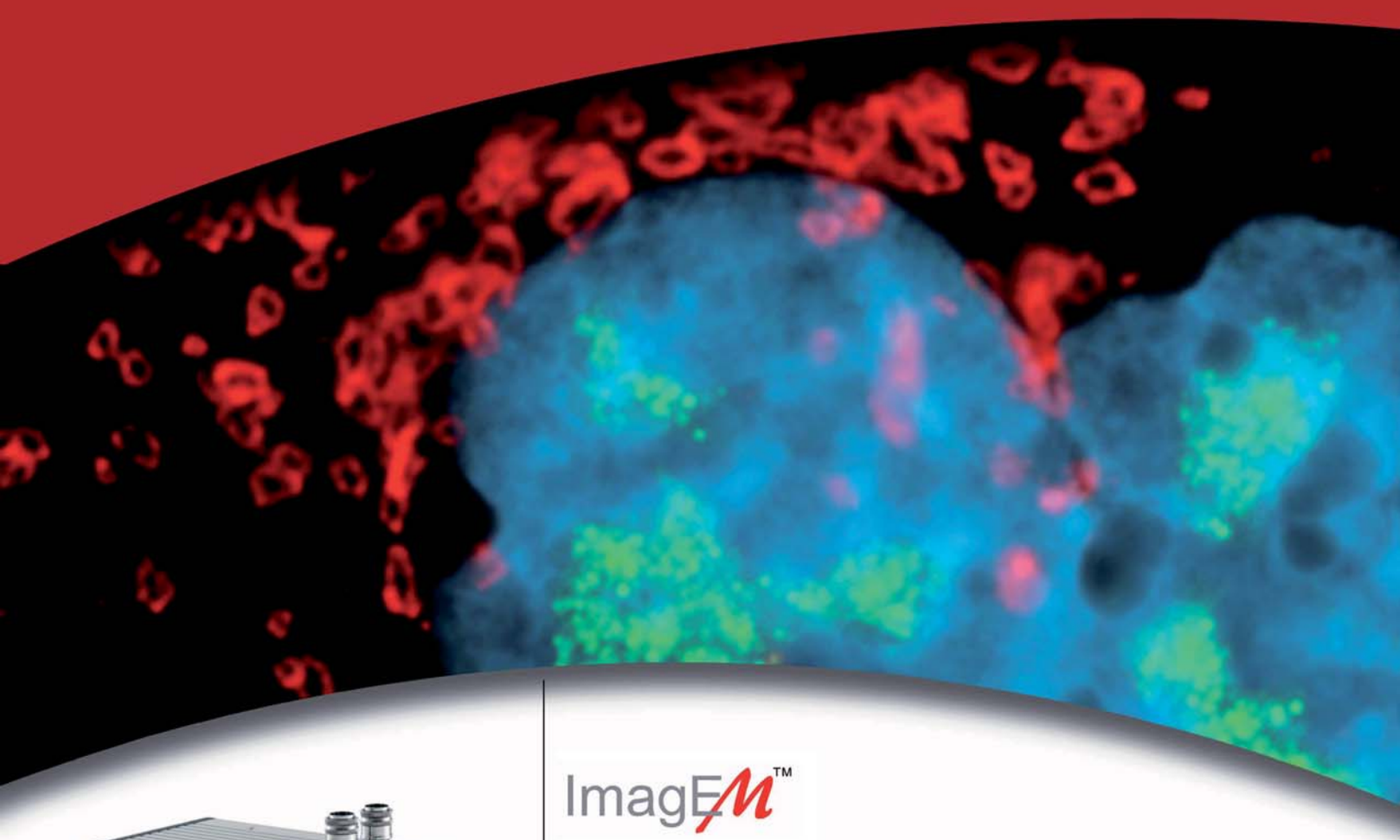
Nuestra vida sedentaria actual, junto a la constante provisión de alimentos de elevada densidad calórica, ocasiona una discordancia en las interacciones de los genes ahorradores con ese ambiente opulento. Cuando estos genes ahorradores, que evolucionaron para permitir la adaptación a entornos que requerían de grandes esfuerzos físicos para sobrevivir y a la escasez crónica de alimentos, se enfrentan al sedentarismo y a la abundancia opulenta del ser humano moderno, ocasionan una función incorrecta de las rutas metabólicas que promueven una alteración de los mecanismos que controlan la ingestión de alimentos y una deficiencia de las propiedades contráctiles de los músculos. Todo este conjunto de expresiones genéticas incorrectas es lo que ocasiona la obesidad y el resto de enfermedades asociadas.

Más detalles y referencias bibliográficas en:
www.mono_obeso.typepad.com o en el libro El Mono Obeso (Editorial Crítica).



Mutaciones ahorradoras que se consideran componentes fundamentales del genotipo ahorrador.

EM-CCD Camera



C9100-13/-14 ImagEM Back-Thinned Electron Multiplier CCD Camera

ImagEM™

Introducing the **ImagEM**, a newly developed Back-Thinned Electron Multiplier CCD Camera and the optimum solution for applications in life sciences, materials research and industrial imaging.

Features

Enhanced Image Quality

- Optimised drivers for low CIC
- New photon imaging mode
- New frame averaging
- New spot noise reduction
- Increased offset stability

Special ImagEM Features

- Double AR window coating
- Internal reflection masking
- Multiple synchronous triggers
- Supported by most 3rd party software

HAMAMATSU

PHOTON IS OUR BUSINESS