

La controversia de la muerte celular mediada por calcio, ¿es disparada por la mitocondria o el retículo endoplásmico?

Alejandro Martínez Gómez y Myrna A. R. Dent*

Recepción: marzo 5 de 2001
Aceptación: junio 11 de 2001

* Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México. Paseo Tollocan y Jesús Carranza, Toluca, Estado de México. C. P. 50180. Teléfono: (722) 2 17 35 52, fax: 2 17 41 42. Correo electrónico: amartin@fisiol.unam.mx y md@coatepec.uaemex.mx

Resumen: El calcio (Ca^{2+}) es una de las principales señales intracelulares. Modula procesos biológicos esenciales como la proliferación, la diferenciación y el metabolismo celular, la exocitosis y la contracción muscular. El Ca^{2+} participa tanto en señales de vida como de muerte, y para que actúe como señal se requiere incrementar los niveles de Ca^{2+} intracelular; pero si este incremento se prolonga, puede ser letal para la célula, llevándola a una muerte apoptótica o necrótica. Tanto el retículo endoplásmico (RE) como la mitocondria son esenciales para mantener los niveles adecuados de Ca^{2+} . Actualmente existe una controversia que tiene como objetivo establecer si la muerte celular dependiente de Ca^{2+} es disparada por la mitocondria o por el RE. Sin embargo, existen evidencias que sugieren que ambos organelos se encuentran involucrados en la muerte celular dependiente de Ca^{2+} mediante vías de señalización independientes, pero también se sugiere que la muerte celular disparada por el RE tiene como blanco la disfunción de la mitocondria y viceversa. Es decir, que un balance en la homeostasis del Ca^{2+} tanto en el RE como en la mitocondria, debe desempeñar un papel crucial en el buen funcionamiento de la célula.

Palabras clave: calcio, retículo endoplásmico, mitocondria, apoptosis.

The Controversy About Cell Death Mediated by Calcium: is it Triggered by the Mitochondrion or by the Endoplasmic Reticulum?

Abstract. Calcium (Ca^{2+}) is one of the main intracellular signals, that modulates essential biological processes such as cell proliferation, differentiation, exocytosis and metabolism, as well as muscle contraction. Ca^{2+} is involved in both, life and death signals, since high levels of intracellular Ca^{2+} are necessary to act as a signal, but continued high levels of Ca^{2+} are lethal to the cell, leading to apoptotic or necrotic cell death. The endoplasmic reticulum (ER) and the mitochondria are both essential to maintain the right levels of Ca^{2+} . Currently, there is a controversy about whether Ca^{2+} -mediated cell death is triggered by the mitochondrion or by the ER. Available evidence suggests that both organelles are involved in cell death through independent signalling pathways, but it also suggests that the cellular death triggered by the ER has the mitochondria as a target and viceversa. Therefore, the balance of Ca^{2+} homeostasis in both the ER and the mitochondrion must be crucial for the correct functioning of the cell.

Key words: calcium, endoplasmic reticulum, mitochondria, apoptosis.

Introducción

En la mayoría de las actividades que realizamos se encuentra implicado el ión de calcio (Ca^{2+}); por ejemplo en nuestros movimientos, en la forma en que palpita nuestro corazón o en la forma en que nuestro cerebro procesa información y la almacena en la memoria. Para llevar a cabo

estas actividades, el Ca^{2+} actúa como un mensajero intracelular, generando información dentro de las células para que éstas regulen su actividad. Por ejemplo, el Ca^{2+} dispara el proceso de la fertilización y controla el desarrollo y la diferenciación de las células. También media la subsecuente actividad de estas células y finalmente, se encuentra involucrado de manera invariable en la muerte celular. Para

coordinar todas estas funciones las señales de Ca^{2+} deben ser flexibles pero reguladas de una manera precisa. Esta increíble versatilidad surge a través del uso de una variada forma de señalización mediada por este ión, donde puede actuar en diferentes contextos de espacio, tiempo y amplitud; por lo que diversos tipos de células, seleccionan combinaciones de señales de Ca^{2+} con los parámetros precisos para adecuarlos a su fisiología (Berridge *et al.*, 1998). En revisiones recientes (Siesjö *et al.*, 1999; Paschen y Doutheil, 1999) se plantea una controversia, la cual tiene como punto principal de discusión la muerte celular dependiente de Ca^{2+} . Siesjö *et al.* (1999) defienden una hipótesis que sugiere que la muerte celular es disparada por la mitocondria, mientras que Paschen y Doutheil (1999) sugieren que la muerte celular es disparada por el retículo endoplásmico (RE). Sin embargo, para llevar a cabo una discusión más profunda de estas hipótesis es necesario comenzar con algunos hechos básicos del metabolismo celular de Ca^{2+} .

I. La regulación del calcio dentro de la célula

La concentración de Ca^{2+} libre en el citoplasma de cualquier célula es extremadamente baja ($\sim 1 \times 10^{-7}$ M), mientras que la concentración en el fluido extracelular es $> 1 \times 10^{-3}$ M (Alberts *et al.*, 1994) y dentro del RE es de 3×10^{-3} M (Sambrook, 1990). De manera que, un gradiente elevado en el exterior de la célula tiende a conducir Ca^{2+} extracelular hacia el citoplasma a través de la membrana plasmática y del interior de la membrana del RE hacia el citoplasma. Cuando una señal abre los canales de Ca^{2+} en cualquiera de estas membranas, este ión es liberado hacia el citoplasma, incrementando dramáticamente la concentración de Ca^{2+} intracelular ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) y activando mecanismos de respuesta sensibles a Ca^{2+} en la célula. Para que estos mecanismos funcionen, la concentración de Ca^{2+} debe mantenerse baja, lo cual se logra de diferentes maneras. Todas las células eucariotas tienen una bomba ATPasa de Ca^{2+} en su membrana plasmática (PAMCA), que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP para bombear Ca^{2+} fuera del citoplasma. Células como las musculares o las nerviosas, las cuales hacen un uso extensivo de la señalización a través de este ión, tienen una bomba adicional de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en su membrana plasmática que acopla el flujo de Ca^{2+} hacia el exterior de la célula, y la entrada de iones de Na^+ hacia el citoplasma. Además, una bomba de Ca^{2+} en la membrana del RE (SERCA) juega un papel importante al mantener baja la concentración citoplasmática de este ión; esta ATPasa de Ca^{2+} permite al RE tomar grandes cantidades de Ca^{2+} del citoplasma contra un excesivo gradiente de concentración, aún cuando los

niveles de este ión en el citoplasma sean bajos (Alberts *et al.*, 1994). Los receptores de inositol trifosfato (IP3Rs) y los receptores de ryanodina (RyRs) son el principal blanco de los estímulos que evocan señales de Ca^{2+} intracelular, produciendo cambios dinámicos en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$. El mecanismo para la liberación de Ca^{2+} por parte de los IP3Rs consiste en la estimulación por señales externas (hormonas, neurotransmisores y factores de crecimiento) que se enlazan con sus receptores en la superficie celular para iniciar vías de señalización. La formación de IP3 es el punto principal para dos vías: a) una iniciada por una familia de proteínas G enlazadas a sus receptores; y b) otra iniciada por receptores enlazados a tirosina cinasa de forma directa o indirecta. Estos receptores son acoplados en forma separada a requerimientos de energía (GTP o ATP) mediante mecanismos que activan a la fosfolipasa C (PLC) para hidrolizar el precursor fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato, y dar como resultado IP3 y diacilglicerol (DAG). Posteriormente el IP3 se pega al IP3R en el RE para movilizar el Ca^{2+} almacenado en el RE y promover un flujo de Ca^{2+} hacia el citoplasma, mientras que el DAG activa a la proteína cinasa C, lo que conlleva a una variedad de respuestas celulares en diferentes células. Por ejemplo, en las células del hígado, la proteína cinasa C fosforila la enzima glucógeno sintetasa y de esta manera la activa (Berridge, 1993; Dent *et al.*, 1996; Mailleux *et al.*, 1992) (figura 1). Por otro lado, el control de la liberación de Ca^{2+} por los canales tetraméricos de ryanodina en respuesta a la despolarización de la membrana ocurre de la siguiente forma: a) los RyRs localizados en el retículo sarcoplásmico del músculo esquelético, y que contribuyen a la estructura de los túbulos-T, son responsables del acoplamiento excitación-contracción de las fibras musculares; de esta manera, el receptor de dihidropiridina en la superficie de la membrana celular percibe un cambio de voltaje (ΔV) y sufre un cambio conformacional que es transmitido a través de región N-terminal del RyR para abrir el canal de Ca^{2+} en el retículo sarcoplásmico; b) en el músculo cardíaco ocurre un proceso conocido como "calcio induce la liberación de calcio" (CICR) que probablemente también se presenta en las neuronas. En este proceso, un canal operado por voltaje (VOC) responde a un ΔV permitiendo la entrada de una pequeña cantidad de Ca^{2+} , el cual activa al RyR para liberar Ca^{2+} del retículo endoplásmico (Berridge, 1993) (figura 1).

II. Muerte celular

Una de las paradojas que rodea al Ca^{2+} es que puede participar en señales de vida y muerte, ya que son necesarias las elevaciones en la concentración de este ión dentro de la

célula para que funcione como señal, pero por otra parte, prolongadas elevaciones de Ca^{2+} intracelular pueden ser letales, guiando a la célula a una muerte apoptótica o necrótica. En muchos tipos de células, la mitocondria participa en la recuperación del estado normal de Ca^{2+} intracelular, secuestrando Ca^{2+} que es posteriormente regresado al RE. Durante una señalización de Ca^{2+} normal existe un continuo intercambio entre estos dos organelos. Normalmente, el RE es el principal almacén de Ca^{2+} intracelular, no obstante, la mitocondria también contiene Ca^{2+} (a bajos niveles), y estos niveles de Ca^{2+} en ambos organelos son esenciales para mantener la homeostasis celular. Si el Ca^{2+} almacenado en el RE es liberado, la mitocondria puede capturar una cantidad muy elevada de este ión, dando lugar a dos principales consecuencias: la primera, que la disminución de los niveles de Ca^{2+} en el RE activen señales de stress, con las cuales se activen genes

asociados con la muerte celular vía apoptótica (Berridge *et al.*, 1998, Paschen y Doutheil, 1999); y segunda, que los altos niveles de Ca^{2+} dentro de la mitocondria inicien una serie de eventos que dirigen a la muerte celular ya sea apoptótica o necrótica. Cuando una célula es dañada y no puede bombear eficientemente Ca^{2+} fuera del citoplasma, la concentración de este ión puede elevarse a niveles peligrosos ($>5 \times 10^{-6}$ M). En esas circunstancias entra en acción una bomba de Ca^{2+} de alta capacidad-baja afinidad en la membrana de la mitocondria, haciendo uso del gradiente electroquímico generado en esta membrana durante el proceso de transferencia de electrones de la fosforilación oxidativa, permitiendo la entrada de Ca^{2+} del citosol hacia el interior de la mitocondria y guiando a la célula a un proceso conocido como muerte celular programada o apoptosis (Berridge *et al.*, 1998, Siesjö *et al.*, 1999).

III. Muerte celular disparada por la mitocondria

El daño neuronal en enfermedades neurodegenerativas agudas ha sido tradicionalmente ligado a un metabolismo perturbado de Ca^{2+} dentro de las células. Aunque los mecanismos básicos que comprende la lesión cerebral por isquemia no han sido del todo comprendidos, es amplia-

Figura 1. Esquema que muestra cómo se lleva a cabo la regulación de la liberación de calcio intracelular.

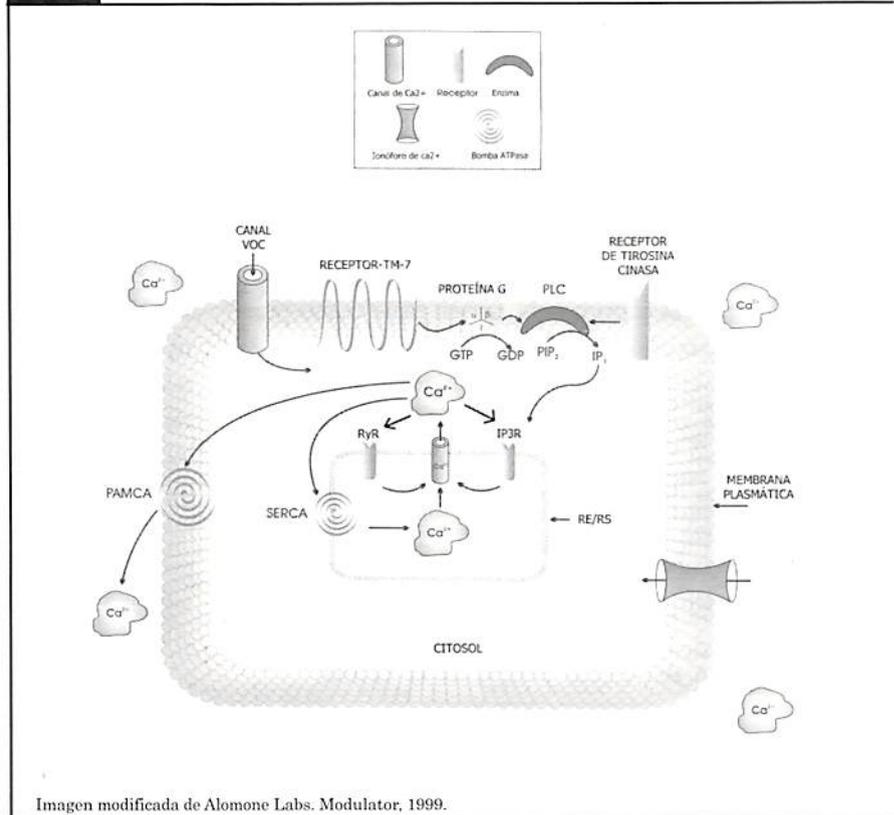


Imagen modificada de Alomone Labs. Modulator, 1999.

mente reconocido que el Ca^{2+} desempeña un papel muy importante dentro de este proceso. La hipótesis central de calcio propuesta por Kristian y Siesjö (1998), señala que el daño celular producido por la isquemia cerebral transitoria es producido por una entrada masiva de este ión a la célula a través de canales de Ca^{2+} operados por voltaje (VOCs) y canales de Ca^{2+} operados por receptores (ROCs), así como por la liberación de Ca^{2+} mediada por los almacenes intracelulares como el RE, la mitocondria o los calciosomas. Esta masiva entrada de Ca^{2+} conduce a una sobrecarga de estos iones en la mitocondria, la cual induce la producción de especies reactivas de oxígeno y radicales libres, la activación de proteasas y fosfolipasas, la activación de la enzima óxido nítrico sintetasa, y la formación de poros mitocondriales de permeabilidad de transición (MPT). Esto da como resultado disturbios en el sistema de producción de energía de la mitocondria, y dependiendo de la gravedad del daño ocasionado y de las circunstancias, conduce a las células a la muerte celular, ya sea apoptótica o necrótica. Además, es ampliamente aceptado que las mitocondrias forzadas metabólicamente pueden liberar moléculas que disparan una cascada de reacciones que conducen a la muerte celular (Siesjö *et al.*, 1999, Green y Reed, 1998) (figura 2).

Las condiciones adversas que dirigen la apertura de los MPT son ocasionadas por la acumulación de Ca^{2+} dentro de la mitocondria y por el estrés oxidativo. La apertura de los MPT ocasiona el colapso del potencial de membrana de la mitocondria, suprimiendo la formación de ATP, la cual puede ser inhibida por el inmunosupresor de ciclosporina A (CsA), dado que éste bloquea los MPT (Duchen *et al.*, 1993). Se ha mostrado que la CsA tiene efectos neuroprotectores, ya que elimina el daño en las neuronas CA1 del hipocampo, sometidas a unos 7 a 10 minutos de isquemia en el cerebro anterior de la rata (Siesjö *et al.*, 1999). Además, la apertura de los MPT es indiscriminadamente permeable a los solutos con una masa molecular < 1500 daltones, por lo que el Ca^{2+} puede ser rápidamente descargado, y no solamente el Ca^{2+} , sino que también se produce la liberación de proteínas mitocondriales, incluyendo el citocromo c y el factor inductor de apoptosis (Siesjö *et al.*, 1999, Green y Reed, 1998) (figura 2).

Por otra parte, una gran cantidad de información sobre las rutas de muerte celular ha sido obtenida del nemátodo *C. Elegans*, en el cual se han identificado genes involucrados con la muerte y la sobrevivencia. Los genes CED-3 y CED-4, promueven la apoptosis, mientras que el gen CED-9 la inhibe. CED-3 es una caspasa, que existe normalmente como un zimógeno que puede ser activado por autoproteólisis. CED-4 se une a CED-3 promoviendo la activación de CED-3; sin embargo, la unión de CED-9 con CED-4 previene la activación de CED-3. En los mamíferos, el gen homólogo de la caspasa CED-3 es la caspasa-3, la ejecutora de la muerte celular. El gen homólogo de CED-4 es Apaf-1, y los genes homólogos de CED-9 son los miembros de la familia antiapoptótica Bcl-2 (Bcl-2, Bcl- x_1). Esta familia también incluye miembros pro-apoptóticos tales como Bax y Bic (Thornberry y Lazebnik, 1988). Muchas de las proteínas de la familia Bcl-2 se encuentran unidas a la membrana mitocondrial externa. Sin embargo, Bcl-2 también se encuentra en la región citosólica de la membrana plasmática, del RE y de la envoltura nuclear, sugiriendo que Bcl-2 puede "detectar" el estado e integridad de las membranas, posiblemente modulando la función mediante el flujo transmembranal de iones y la liberación de proteínas. La liberación de citocromo C en grandes cantidades da como resultado la muerte celular, ya que esta liberación provoca el ensamblaje del apoptosoma, que esta compuesto de citocromo c, Apaf-1 y la procaspasa 9, el cual activa a la caspasa 9, que a su vez activa otras caspasas, principalmente a la caspasa-3. Por lo tanto, la liberación del citocromo c puede llevar a una serie de eventos apoptóticos que involucra a Apaf-1, o en grandes cantidades puede dar como

resultado la muerte celular necrótica (MacManus y Linnik, 1977). Sin embargo, esta liberación es inhibida por la presencia de Bcl-2, que posiblemente (y junto con Bcl- x_1) puede disminuir el colapso del potencial de membrana de la mitocondria y prevenir la apertura de los MPT (Green y Reed, 1998). Asimismo, la proteína pro-apoptótica Bax induce apoptosis al fortalecer la apertura de los MPT. Sin embargo, existe la posibilidad de que las proteínas anti-apoptóticas (Bcl-2 y Bcl- x_1), ancladas a sitios de la membrana mitocondrial o del RE, unan cofactores como Apaf-1, previniendo de esta manera la activación de la pro-caspasa-9 y por otra parte, que los miembros pro-apoptóticos de la familia (como Bax o Bic) actúen desplazando los cofactores de sus sitios de unión (Siesjö *et al.*, 1999, Green y Reed, 1998) (figura 2).

Figura 2. Diagrama que muestra cómo la mitocondria puede disparar la muerte celular necrótica o apoptótica. La muerte celular es disparada por un decremento en el potencial de la membrana mitocondrial, promovido por un exceso en la acumulación de Ca^{2+} o por estrés oxidativo, el cual es contrarrestado por CsA y por los miembros anti-apoptóticos de la familia Bcl-2. Una apertura sostenida de los MPT ocasiona que la mitocondria se hinche y se rompa la membrana externa, conduciendo a una liberación masiva de proteínas mitocondriales. El resultado inmediato es el colapso del potencial de la membrana mitocondrial, el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la eliminación de producción de ATP; dando como resultado final la muerte celular necrótica. La muerte celular apoptótica es conducida por la liberación de citocromo c y el factor apoptótico que disparan la muerte celular por una serie de eventos que involucran Apaf-1 y la activación de las caspasas 9 y 3 de la mitocondria. No es claro si MPT se encuentra involucrado en este proceso, pero si es así, sólo sería una apertura transitoria, de manera que la mitocondria mantiene su estructura compacta y no se hincha.

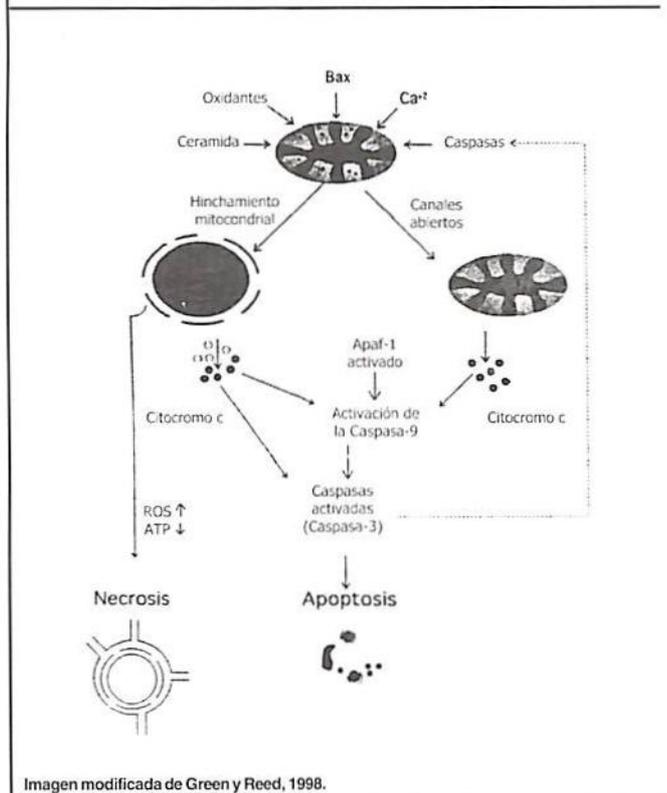


Imagen modificada de Green y Reed, 1998.

IV. La mitocondria y las enfermedades neurodegenerativas

Como se ha explicado en los párrafos anteriores, los disturbios en la homeostasis del Ca^{2+} dentro de la célula juegan un papel muy importante en la isquemia cerebral transitoria. Sin embargo, éste no es el único desorden neurológico asociado con la homeostasis de Ca^{2+} , también se ha descrito en la enfermedad de Alzheimer (AD) y en la esclerosis lateral amiotrófica (ALS). La AD es la causa más común del deterioro cognitivo progresivo en personas de más de 65 años, que afecta a varios millones de personas en el mundo. Los signos patológicos son las placas de amiloide y la maraña de neurofibrillas, junto con muerte celular en áreas específicas del cerebro. Se piensa que las placas de amiloide son las responsables por el deterioro mental en los enfermos de Alzheimer, y el principal componente de estas placas es un péptido pequeño conocido como β -amiloide (A β). Esta enfermedad puede ser esporádica o de tipo familiar por herencia autosómica dominante. La AD familiar está asociada con mutaciones puntuales en la proteína precursora de β -amiloide y en las proteínas presenilina-1 (PS-1) y presenilina-2 (PS-2) (Beal, 1998). La forma esporádica se encuentra asociada con perturbaciones en la homeostasis del calcio, en la generación de especies reactivas al oxígeno (ROS) y en el metabolismo amiloideo de la mitocondria (Sheehan *et al.*, 1997). En estudios de plaquetas y tejido cerebral *postmortem* de pacientes con AD, se obtuvo una reducida actividad de la citocromo oxidasa, sugiriendo una reducción en la actividad del complejo IV del transporte de electrones mitocondrial. Además de que un deterioro en la actividad de la citocromo oxidasa *in vitro* conduce a un incremento en la producción de fragmentos C-terminal del APP que contiene el péptido β -amiloide (Beal, 1998; Yanker, 1996). Un decremento en la actividad del complejo IV de la mitocondria tiene consecuencias funcionales en términos del manejo del calcio y la producción de ROS. También un incremento en los niveles de calcio en estas mitocondrias, incrementa la formación de radicales libres (Dykens, 1994) y la inhibición del complejo IV incrementa la producción de ROS en líneas celulares de neuroblastoma (Miller *et al.*, 1996). Es decir, la homeostasis del calcio y la producción de ROS se encuentran íntimamente asociadas en el funcionamiento mitocondrial, y un desequilibrio en alguno de ellos puede tener graves consecuencias, que lleven a la muerte celular bajo condiciones no necesariamente tóxicas.

La esclerosis lateral amiotrófica es una típica enfermedad neurodegenerativa crónica que se caracteriza por la pérdida progresiva de las neuronas motoras, atrofia del

músculo esquelético, parálisis y muerte; la patogénesis se desconoce (Kong y Xu, 1998). El 90% de los casos son aparentemente esporádicos, sin ningún factor genético o de riesgo medioambiental identificable que la ocasione, el restante 10% muestra una herencia familiar autosómica dominante. De este último grupo de casos, 25% de los pacientes presentan mutaciones puntuales en la enzima superóxido dismutasa-I (SOD1) lo que sugiere que el daño oxidativo puede desempeñar un papel importante en esta enfermedad (Beal, 1998). Las mutaciones en la SOD1 pueden generar un incremento en la cantidad de radicales hidroxilo (*in vitro*), de 3-nitrotirosina y vacualización de la mitocondria (en ratones transgénicos) (Del Canto y Gurney, 1995). Además la expresión de la SOD1 con la mutación G93A en células de neuroblastoma *in vitro*, conducen a la pérdida del potencial de membrana y a un incremento de Ca^{2+} citosólico. En pacientes con ALS esporádica, los linfocitos del torrente sanguíneo muestran un incremento en el Ca^{2+} citosólico y una deteriorada respuesta a desacopladores de la fosforilación oxidativa. Algunos estudios de motoneuronas en pacientes con ALS esporádica muestran una acumulación de mitocondrias en los axones proximales, y biopsias de músculo muestran un incremento en el volumen de las mitocondrias y de los niveles de Ca^{2+} (Beal, 1998). Esto se correlaciona con los estudios que muestran cuatro etapas en la enfermedad de ALS, en líneas transgénicas de ratones que expresan la mutación de SOD1. Al principio de la enfermedad se observa una pérdida de la fuerza muscular y un explosivo incremento de vacuolas en las mitocondrias degeneradas, pero poca muerte de las neuronas motoras. La mayoría de las neuronas se mueren hasta la última etapa de la enfermedad (Kong y Xu, 1998). Es decir, la toxicidad en los mutantes de SOD1 daña primero las mitocondrias de las neuronas motoras y este daño dispara la pérdida funcional de las mismas.

V. Muerte celular disparada por el retículo endoplásmico

El RE es un compartimiento que desempeña un papel importante en el plegamiento y procesamiento de las proteínas de membrana y proteínas secretables recién sintetizadas, reacciones que son estrictamente dependientes de Ca^{2+} . Además de la alta actividad del Ca^{2+} , se requiere de un medio ambiente oxidativo en el RE, dado que el plegamiento de las proteínas es una reacción oxidativa que puede ser bloqueada por compuestos que tienen una alta actividad reductiva, como el ditiotritol (Kuznetsov *et al.*, 1992). El Ca^{2+} del RE es controlado por los IP 3 Rs y los RyRs (los cua-

les bajo estimulación liberan Ca^{2+} del RE) y una ATPasa de Ca^{2+} (SERCA) la cual bombea Ca^{2+} de regreso contra un gradiente de concentración. Los IP3Rs y los RyRs son familias de receptores de Ca^{2+} intracelular que tienen una gran homología (Newton *et al.*, 1994) y cada una se compone de varios miembros, además de tener diferente distribución en el cerebro. Hasta el momento se han descrito 3 subtipos del IP3R y 3 subtipos del RyR. Se ha reportado que, en el cerebro, el IP3R-1 se expresa en neuronas, principalmente en las células de Purkinje del cerebelo (Mignery *et al.*, 1990, Dent *et al.*, 1996, Sharp *et al.*, 1999), en células CA1 del hipocampo, cuerpo estriado, corteza cerebral, órgano circunventricular y estructuras neuroendócrinas (Dent *et al.*, 1996), el IP3R-2 se expresa únicamente en células gliales y por último, el IP3R-3 es predominantemente neuronal aunque también se detecta un poco en glía, se encuentra enriquecido en el neuropilo, especialmente en las terminales neuronales (Sharp *et al.*, 1999). Además, el IP3R-1 y el IP3R-3 muestran diferentes patrones de expresión durante el desarrollo embrionario con respecto al tiempo (Sharp *et al.*, 1999). Por otro lado, también los tres tipos de RyR se expresan

Una intervención terapéutica para reducir la lesión celular por isquemia, como el tratamiento con barbitúricos, promueve la recuperación de la síntesis de proteína en las áreas vulnerables; implicando que es la incapacidad de estas células para recuperarse lo que define su vulnerabilidad.

en el cerebro y cerebelo, pero con diferentes patrones de expresión. El RyR-1 se expresa en las células de Purkinje del cerebelo, en la corteza, en el giro dentado, y en menor cantidad en las células CA3 y CA1 del hipocampo, en el núcleo caudado, putamen y en las células mitrales del bulbo olfatorio. El RyR-2 es la principal isoforma que se expresa en el cerebro, enriquecido en la capa granular del cerebelo y el giro dentado del hipocampo; también se expresa en corteza, amígdala y células granulares del bulbo olfatorio; por último el RyR-3 se expresa en la capa granular del cerebelo aunque en menor cantidad que el RyR-2, en el hipocampo, principalmente en las células CA1, en el tálamo, regiones hipotalámicas, en el núcleo caudado, putamen, y tanto en las células mitrales como granulares del bulbo olfatorio (Giannini *et al.*, 1995). Por otra parte, la proteína Bcl-2, se encuentra también en las membranas del RE y

diferentes observaciones sugieren que puede facilitar los flujos de Ca^{2+} dentro del RE. Por ejemplo, en células tratadas con Tapsigargina (Tg), que es un bloqueador de la SERCA, la sobre-expresión de Bcl-2 ayuda a mantener los niveles de Ca^{2+} en el RE (He *et al.*, 1997), además se ha encontrado que es capaz de formar canales iónicos en membranas lipídicas sintéticas (Minn *et al.*, 1997). Bcl-2 es capaz de suprimir el vaciamiento de los almacenes de Ca^{2+} en el RE producidos en una variedad de estados patológicos, como son el estrés oxidativo, el retiro de factores de crecimiento, o la inhibición de la bomba de Ca^{2+} (He *et al.*, 1997).

La importancia de la homeostasis de Ca^{2+} del RE para mantener las células en un estado fisiológico se basa en la observación de que el vaciamiento de Ca^{2+} del RE por el ionóforo A23187, o la inhabilitación de la SERCA mediante Tg, ocasionan un bloqueo en la división celular y detienen el crecimiento de las células (Gosch *et al.*, 1991). Es decir, una elevada concentración de Ca^{2+} en el RE parece ser un prerrequisito para el buen funcionamiento de las células. Este bloqueo por Tg se quita cuando la Tg se lava y la síntesis de la SERCA se activa al cultivar las células con grandes cantidades de suero, sugiriendo que la SERCA está controlada por factores de crecimiento (Paschen y Douthel, 1999).

La isquemia cerebral transitoria es una forma severa de estrés que causa disturbios bioquímicos y moleculares en la célula. Las células han desarrollado un sistema de respuesta al estrés que está muy conservado entre diferentes especies. Las respuestas más comunes son la supresión de la síntesis global de proteínas y la activación de la expresión de genes de estrés. Cuando se produce una isquemia cerebral transitoria se produce un cese total de la síntesis de proteínas a lo largo de todo el cerebro. Esta se recupera en estructuras no vulnerables del cerebro, como la corteza cerebral, pero no así en las áreas vulnerables como las neuronas CA1 del hipocampo (Bodsch *et al.*, 1985). Una intervención terapéutica para reducir la lesión celular por isquemia, como es el tratamiento con barbitúricos, promueve la recuperación de la síntesis de proteína en las áreas vulnerables; implicando que es la incapacidad de estas células para recuperarse lo que define su vulnerabilidad. Por otro lado, el vaciamiento de Ca^{2+} del RE produce un estrés severo dentro de las células y da como resultado la supresión de la síntesis de proteínas, el crecimiento celular y la muerte celular (Paschen *et al.*, 1996). Diversos experimentos han mostrado que es el decremento en la actividad del Ca^{2+} del RE el que tiene efecto sobre la síntesis de proteínas y no el correspondiente incremento en la actividad del Ca^{2+} citoplásmico. Por ejemplo, la síntesis de proteínas se suprime cuando los iones de calcio son alejados del compartimento del RE por quelación intracelular (Douthel

et al., 1997). Además, la isquemia cerebral transitoria activa la expresión de varios genes, y el incremento en la actividad del Ca^{2+} citoplásmico durante la isquemia puede ser responsable de esta respuesta de estrés. Entre estos genes se encuentran la proteína reguladora de glucosa (gpr) 78, gpr 94 y otras proteínas de estrés del RE como la hemoxigenasa-1, la proteína del RE 72 o el gen que induce daño en el DNA y detiene el crecimiento (gadd) 153 (Paschen y Doutheil, 1999). Ya que la expresión de proteínas de estrés residentes del RE son activadas específicamente por condiciones que perturban al RE, se puede concluir que la isquemia cerebral transitoria produce disturbios en el funcionamiento del RE (Paschen y Doutheil, 1999). Cuando el RE se queda desprovisto de calcio se activa la expresión de varios genes, incluyendo factores de transcripción o proteínas de estrés del RE (Linden *et al.*, 1988). La activación de estos genes no se suprime si se agrega un quelante como BAPTA, indicando que el efecto se debe al decremento de calcio del RE y no al correspondiente incremento de calcio citoplásmico (Linden *et al.*, 1988). Esta observación no es sorprendente, ya que esta misma situación se da cuando el funcionamiento del RE es perturbado sin cambios directos en la actividad del calcio, tales como la perturbación del medio oxidativo dentro del RE inducido por ditiotritol (Brostrom *et al.*, 1990).

Actualmente no existe evidencia directa de experimentos *in vivo* que muestren que la disfunción del RE en neuronas dispara el proceso patológico observado en la isquemia. Sin embargo, estudios *in vivo* e *in vitro* indican que la disfunción del RE desempeña un papel clave en eventos que conducen a la muerte celular (Paschen y Doutheil, 1999). Experimentos llevados a cabo en isquemia aguda de riñón permiten establecer que la lesión celular en la isquemia probablemente se deba al plegamiento incorrecto de las proteínas secretables (Kuznetsov *et al.*, 1996).

Si la disfunción del RE es un factor causal de las lesiones celulares en la isquemia, se requiere dar una explicación de por qué ciertas regiones del cerebro son más vulnerables a que se produzca una isquemia. En las células CA1 del hipocampo los IP3R se encuentran enriquecidos, mientras que la inmunoreactividad de la SERCA es relativamente baja (Paschen y Doutheil, 1999). Esto sugiere que las células CA1 vulnerables del hipocampo son una región del cerebro particularmente propensa a tener un desbalance entre la liberación de Ca^{2+} mediada por el IP3R y la entrada de Ca^{2+} mediada por la SERCA, particularmente bajo situaciones patológicas en donde los niveles de Ca^{2+} citoplásmico se incrementan, ya que la salida de Ca^{2+} a través de los IP3R es afectada severamente por los niveles de Ca^{2+} citoplásmicos (Bezprozvanny *et al.*, 1991).

Por otra parte, varios estudios muestran que la Tg dispara la muerte celular programada, causando el vaciamiento de Ca^{2+} del RE e incrementando los niveles de Ca^{2+} citosólico, aunque no es claro si la apoptosis es iniciada por el vaciamiento de Ca^{2+} del RE o por el incremento de Ca^{2+} citosólico (Petersen *et al.*, 1995). Sin embargo, varias observaciones indican que un decremento en la concentración de Ca^{2+} del RE es un evento importante para disparar la inducción de la apoptosis: por ejemplo, la apoptosis inducida por dexametasona vacía parcialmente de Ca^{2+} al RE, y el dantroleno, que es un bloqueador de los RyRs, suprime la apoptosis inducida por Tg (Paschen y Doutheil, 1999). También la sobre expresión de Bcl-2 previene la apoptosis inducida por Tg (He *et al.*, 1997) mientras que las células T deficientes en IP3Rs son resistentes a la apoptosis, sugiriendo que la liberación de Ca^{2+} mediada por los IP3Rs está implicada en la apoptosis (Jayaraman y Marck, 1997). La apoptosis inducida por Tg es acompañada de la activación de la caspasa-3 y suprimida por el inhibidor de caspasas Z-Val-Ala-Asp-fluorometilcetona (Z-VAD-fmk) o por el factor de crecimiento neuronal (NGF). La apoptosis inducida por Tg puede también ser suprimida por el inmunosupresor CsA (dependiendo de la concentración de Tg) ya que la CsA es efectiva en células expuestas a 2nM/L de Tg, concentración que normalmente causa apoptosis en mitocondrias intactas, pero es inefectivo en una concentración de 10nM/L de Tg, concentración que causa daño en la mitocondria (Waring y Beaver, 1996). Estas observaciones muestran que el efecto neuroprotector de la CsA observado en modelos de isquemia cerebral transitoria no se debe necesariamente a una inhibición del daño mitocondrial (Kristian y Siesjö *et al.*, 1998). Otra observación de interés consiste en la activación de la caspasa-12, esta proteasa se localiza en el RE y es activada por estrés causado por la liberación de Ca^{2+} del RE y por un exceso en la acumulación de proteínas, pero no por señales apoptóticas de la membrana plasmática o de la mitocondria; la caspasa-12 se encuentra específicamente involucrada en la apoptosis por estrés del RE (Mehmet, 2000, Nakagawa *et al.*, 2000). En conclusión, puede decirse que varias observaciones de estudios *in vitro* e *in vivo* indican que el mal funcionamiento del RE juega un papel muy importante en el proceso patológico que lleva a la muerte celular, ya sea apoptótica o necrótica.

VI. El retículo endoplásmico y las enfermedades neurodegenerativas

Las neuronas tienen un RE elaborado que se extiende a lo largo de toda la célula, el cual aparece como un sistema membranoso continuo. Este RE presenta especializaciones

regionales, las cuales tienen un significado particular con respecto a las señales de Ca^{2+} (Terasaki *et al.*, 1994, Martone *et al.*, 1993). Empezando con el soma, la membrana nuclear externa es continua, con la red del RE que se extiende desde las dendritas hasta la punta del axón. Dentro del soma y en las regiones iniciales de la región dendrítica, porciones del RE entran en un estrecho contacto con la membrana plasmática formando la subsuperficie de la cisterna (Rosenbluth, 1962). Esta subsuperficie de la cisterna ha sido clasificada en tres tipos dependiendo de su aproximación a la membrana plasmática (tipo I de 40 a 80 nm, y las tipo II y III menores de 20 nm). En el segmento inicial de ciertas neuronas (por ejemplo, las células corticales y células granulares del giro dentado) la subsuperficie de la cisterna semeja una estructura de multicapas denominada organelo de cisterna (Benedeczky *et al.*, 1994). Estas subsuperficies de la cisterna y los organelos de cisterna pueden tener un papel importante en la regulación de la excitabilidad neuronal. En el axón, el RE consiste de túbulos conectados que corren en paralelo dentro del axón, esta red del RE axonal se extiende hasta la región sináptica donde se encuentra estrechamente asociado con la mitocondria (McGraw *et al.*, 1980). En la otra punta de la neurona, el RE se extiende a través del árbol dendrítico y adentro de las espinas, donde finalmente termina como el aparato de la espina (Martone *et al.*, 1993; Spacek and Harris, 1997). El RE neuronal contribuye de esta manera a las señalizaciones dinámicas del Ca^{2+} , actuando como origen o como vertedero de la señal de Ca^{2+} . Las neuronas emplean dos orígenes de señales de Ca^{2+} a través de ROCs y VOCs, pero también hay una importante contribución de la liberación de Ca^{2+} del RE mediada por los IP₃Rs y los RyRs. Estructural y funcionalmente el RE puede ser considerado como una "neurona dentro de una neurona", ya que el RE tiene muchas propiedades similares a las de la membrana plasmática (figura 3). En particular el RE mantiene un gradiente de concentración de Ca^{2+} que puede ser liberado de una manera regenerativa, permitiendo que la información recorra grandes distancias a través de ondas de Ca^{2+} y esta regeneración es mediada por los IP₃Rs, los RyRs, la SERCA (Berridge, 1998), y posiblemente por Bcl-2.

Por otro lado, muchas observaciones señalan una relación entre los cambios morfológicos y bioquímicos dentro del RE y el comienzo de enfermedades degenerativas. Como se ha mencionado con anterioridad la AD familiar está asociada con mutaciones de la APP, la cual se corta por proteasas como son la β -secretasa, la α -secretasa y la γ -secretasa (De Strooper y Koning, 2000, Yan *et al.*, 2000) generándose de esta forma el amiloide $\text{A}\beta$. El RE ha sido

Figura 3. Organización estructural del RE en neuronas. El RE es una continua red que se extiende a todas las partes de la neurona, los tres apartados muestran detalles del arreglo del RE en las espinas dendríticas, el soma neuronal y la terminal sináptica. SRRC es el complejo polirribosómico asociado a la sinapsis y SSC es la superficie de la cisterna.

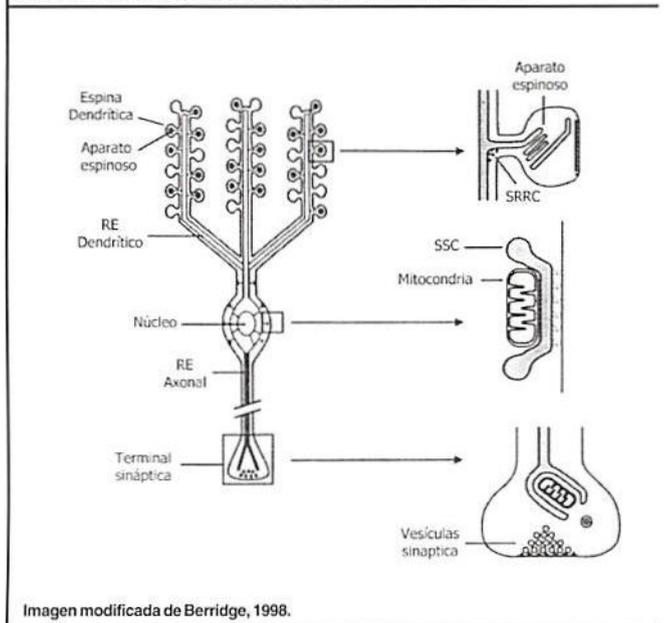


Imagen modificada de Berridge, 1998.

identificado como el sitio de formación del péptido $\text{A}\beta$. Por otro lado, la presenilina-1 (PS-1) y la presenilina-2 (PS-2) se encuentran localizadas principalmente en el RE y ambas interactúan con proteínas del citoesqueleto y con APP, involucrándose de esta manera con el transporte de proteínas y con el procesamiento de APP. La APP forma un inmunocomplejo con PS-2, sugiriendo que las presenilinas están involucradas en el procesamiento de la APP (Weidemann *et al.*, 1997). La expresión de mutantes de las presenilinas en cultivo de células y en ratones transgénicos da como resultado un incremento en la producción de una forma amiloidea excitotóxica del péptido β -amiloide ($\text{A}\beta$). Las neuronas que expresan mutantes de PSs muestran un incremento en la sensibilidad para morir por apoptosis, inducida por el retiro de factores tróficos y $\text{A}\beta$. La acción pro-apoptótica de mutantes de las PSs involucra una perturbada liberación de Ca^{2+} del RE, e incrementa los niveles de estrés oxidativo (Mattson y Guo, 1997). Esto explicaría por qué proteínas localizadas en el RE, como las presenilinas (mutadas), producen AD (Kovacs *et al.*, 1996). El péptido $\text{A}\beta$ exhibe propiedades similares a las de un ionóforo, causando un incremento en la permeabilidad de las membranas al Ca^{2+} . La exposición de neuronas al péptido $\text{A}\beta$ induce un incremento en la actividad de Ca^{2+} citosólico y la formación de radicales libres. Por otra parte, la forma de la proteína priónica que conduce a las enfermedades neurodegenerativas, conocidas como encefalopatías espongiformes subagudas, también se lo-

caliza en el RE: una forma transmembranal sobre la membrana del RE produce neurodegeneración en ratones (Hedge *et al.*, 1998), por lo que no es difícil pensar que la regulación aberrante de la biogénesis de las proteínas y los cambios en la topología del RE pueden dar como resultado la neurodegeneración inducida por priones. En la ALS las neuronas motoras son destruidas, sin embargo, el dantroleno, que es un bloqueador de los RyRs, reduce la degeneración de las neuronas motoras, indicando que el vaciamiento de Ca^{2+} del RE contribuye a los procesos patológicos que se producen en esta enfermedad (Paschen y Douthcil 1999).

Sin embargo, a pesar de que estos resultados sugieren que la disfunción del RE contribuye al daño cerebral después de que ocurre una isquemia, no se puede aceptar sin reservas que el RE sea el que dispara la muerte celular. También existen muchas evidencias que sugieren que la muerte celular necrótica o apoptótica se deba a la mitocondria. Por ejemplo, la necrosis necesita que falle la producción de ATP mitocondrial y la apoptosis necesita la liberación de factores como el citocromo c, el factor apoptótico y las procaspasas mitocondriales. Que esto sea de origen mitocondrial también se observa por el hecho de que, cuando la mitocondria se sujeta a condiciones despolarizantes, puede inducir todos los signos morfológicos de apoptosis en el núcleo aislado. Por lo tanto, se requiere obtener información adicional sobre este tema para llegar a una conclusión. Sin embargo, es probable que así como la homeostasis de ambos organelos es necesaria para el buen funcionamiento de la célula, la muerte celular se deba al mal funcionamiento tanto del RE, como de la mitocondria.

Conclusiones

Como se ha descrito en esta revisión, la muerte mediada por Ca^{2+} puede ser disparada por la mitocondria o por el retículo endoplásmico, y se pueden diferenciar como vías de muerte celular particulares, pero también se sugiere que la muerte celular programada disparada por el RE tiene como blanco el mal funcionamiento de la mitocondria, y de manera inversa, la muerte celular disparada por la mitocondria tiene como blanco la disfunción del RE. Sin embargo, el Ca^{2+} intracelular y citosólico desempeña un papel fundamental en ambos casos, por lo que un balance en la homeostasis de Ca^{2+} en el RE y en la mitocondria debe desempeñar un papel crucial en el funcionamiento correcto de la célula. No obstante, un mayor número de estudios deben llevarse a cabo para tratar de comprender cómo son las relaciones entre el RE y la mitocondria.

Por otra parte, en las enfermedades neurodegenerativas nos enfrentamos a varios problemas que impiden tener una mejor comprensión de las causas que las originan. Uno de los principales problemas es que no existen modelos experimentales que reproduzcan las enfermedades neurodegenerativas humanas, por lo que nuestros estudios se limitan a tejidos cerebrales humanos postmortem, cultivos celulares y animales transgénicos, donde las condiciones celulares son diferentes a las de un cerebro en proceso de degeneración. Por esta razón, no se puede asegurar todavía si el vaciamiento del Ca^{2+} del RE, la elevación en la concentración de Ca^{2+} citosólico, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), la formación de depósitos β -amiloide, la formación de marañas neurofibrilares o la disfunción de la mitocondria o del RE en las neuronas de diferentes pacientes que padecen estas enfermedades, son el origen o su causa.

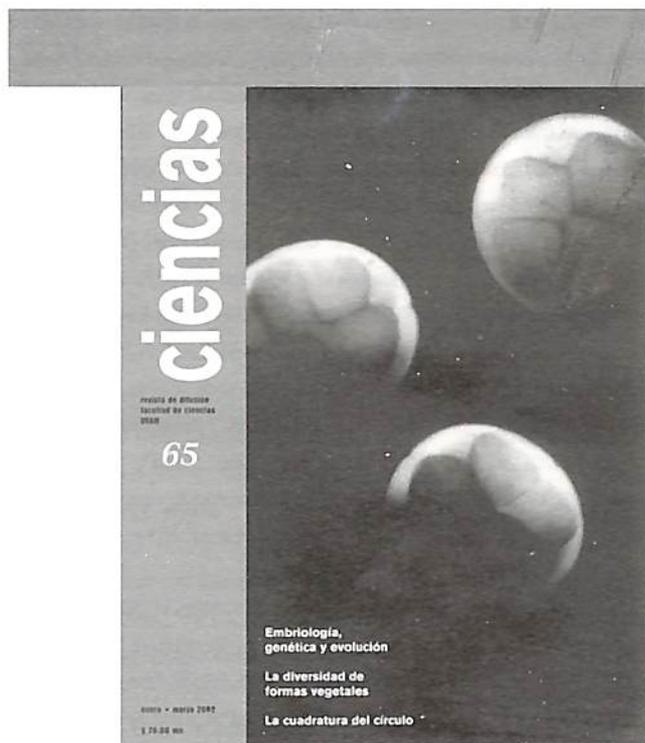
oigie

Bibliografía

- Alberts, B.; D. Bray; J. Lewis; M. Raff; K. Roberts; J.D. Watson (1994). *Molecular Biology of the Cell*. 3a edición. Garland. USA.
- Alomone Labs. (1999). "Ca²⁺ Signaling and Research Tools", *Modulator*. No. 11: 15.
- Beal, F. M. (1998). "Mitochondrial Dysfunction in Neurodegenerative Diseases", *Biochim. Biophys. Acta*. 1366: 211-223.
- Benedeczky, I.; E. Molnár; P. Domogyi (1994). "The Cisternal Organelle as a Ca²⁺-Storing Compartment Associated with GABAergic Synapses in the Axonal Initial Segment of Hippocampal Pyramidal Neurons", *Exp. Brain Res*. 101:216-230
- Berridge, M. J. (1993). "Inositol Triphosphate and Calcium Signalling", *Nature*. 361: 315-325.
- Berridge, M. J. (1998). "Neuronal Calcium Signalling", *Neuron*. 21:13-26.
- Berridge, M. J.; M. D. Bootman; P. Lipp (1998). "Calcium-a Life and Death Signal", *Nature*. 395: 645-648.
- Bezprozvanny, I., J. Watras; E. B. Ehrlich (1991). "Bell-Shaped Calcium- Response Curves of ins (1,4,5)P₃-and Calcium-Gated Channels from Endoplasmic Reticulum of Cerebellum", *Nature*. 351: 751-754.
- Bodsch, W.; K. Takahashi; A. Barbier; B. Grosse Ophoff; K-A. Hossman (1985). "Cerebral Protein Synthesis and Ischemia", *Prog. Brain Res*. 63:197-210.
- Brostrom, M.A.; C. Cade; C.R. Prostko; D. Gmitter-Yellen; C.O. Brostrom (1990). "Independent Signaling of grp78 Gene Transcription and Phosphorylation of Eukaryotic Initiation Factor 2a by the Stressed Endoplasmic Reticulum", *J. Biol. Chem.*

- 270:4127-4132.
- Dal Canto M.C.; M.E. Gurney (1995) "Neuropathological Changes in Two Lines of Mice Carrying a Transgene for Mutant Human Cu, ZnSOD, and in Mice Overexpressing Wild Type Human SOD: a Model of Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis (FALS)", *Brain Res.* 676:25-40.
- De Strooper B.; G. König (2000). "A Firm Base for Drug Development", *Nature.* 402: 471-472.
- Dent, M. A. R.; G. Raisman; A. F. Lai (1996). "Expression of Type 1 Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor During Axogenesis and Synaptic Contact in the Central and Peripheral Nervous System of Developing Rat", *Development.* 122: 1029-1039.
- Doutheil, J.; C. Gissel; U. Oeschlies; K.-A. Hossmann; W. Paschen (1997). "Regulation of Neuronal Endoplasmic Reticulum Calcium Homeostasis to Ribosomal Aggregation and Protein Synthesis: Implications for Stress-Induced Suppression of Protein Synthesis", *Brain Res.* 775: 43-51.
- Duchen, M.; O. McGuinness; L. Brown; M. Crompton (1993). "On the Involvement of a Cyclosporin. A Sensitive Mitochondrial Pore in Myocardial Reperfusion Injury", *Cardiovasc Res.* 27: 1790-1794.
- Dykens, J.A. (1994). "Isolated Cerebral and Cerebellar Mitochondria Produce Free Radicals when Exposed to Elevated Ca²⁺ and Na⁺: Implications for Neurodegeneration", *J. Neurochem.* 63: 584-591.
- Giannini, G.; A. Conti, S. Mammarella; M. Scrobogna; V. Sorrentino (1995). "The Ryanodine Receptor/Calcium Channel Genes are Widely and Differentially Expressed in Murine Brain and Peripheral Tissues", *J. Cell Biol.* 128: 893-904.
- Gosch, T.K.; J. Bian; A.D. Short; S.L. Rybak; D.L. Gill (1991). "Persistent Intracellular Calcium Pool Depletion by Thapsigargin and its Influence on Cell Growth", *J. Biol. Chem.* 266: 24690-24697.
- Green, R. D.; J. C. Reed (1998). "Mitochondria and Apoptosis", *Science.* 281:1309-1312.
- He, H.; M. Lam; T. S. McCormick; C. W. Distelhorst (1997). "Maintenance of Calcium Homeostasis in the Endoplasmic Reticulum by Bel-2", *J. Cell. Biol.* 138: 1219-1228.
- Hedge, R.S.; J.A. Mastriani; M.R. Scott; K.A. DeFea; P. Tremblay; M. Torchia; S.J. DeAtmond; S.B. Prusinger; V.R. Lingappa (1998). "A Transmembrane Form of the Prion Protein in Neurodegenerative Disease", *Science.* 279:239-248.
- Jayaraman T.; A. R. Marks (1997). "T Cells Deficient in Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor are Resistant to Apoptosis", *Mol. Cell. Biol.* 17: 3005-3012.
- Kong, J; Z. Xu (1998). "Massive Mitochondrial Degeneration in Motor Neurons Triggers the Onset of Amyotrophic Lateral Sclerosis in Mice Expressing a Mutant SOD1", *J. Neurosci.* 18:3241-3250.
- Kovacs, D.M.; H.J. Fausett; K.J. Page; T.W. Kim; R.D. Moir; D.E. Merriam; R.D. Holliester, O.G. Hallmark; R. Mancini; K.M. Felsenstein; B.T. Hyman; R.E. Tanzi; W. Wasco (1996). "Alzheimer. Associated Presenilins 1 and 2: Neuronal Expression in Brain and Localization to Intracellular Membranes in Mammalian Cells", *Nature Med.* 2:224-229.
- Kristian, T.; K. B. Siesjö (1998). "Calcium in Ischemic Cell Death", *Stroke.* 29: 705-718.
- Kuznetsov, G., M.A. Brostrom; C.O. Brostrom (1992). "Demonstration of a Calcium Requirement of Secretory Protein Processing and Export Differential Effects of Calcium and Dithiothreitol", *J. Biol. Chem.* 265:3932-3939.
- Kuznetsov, G.; K. T. Bush; P. L. Zhang; S. K. Nigam (1996). "Perturbations in Maturation of Secretory Proteins and their Association with Endoplasmic Reticulum Chaperons in a Cell Culture Model for Epithelial Ischemia", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93: 8584-8589.
- Linden, T.; J. Doutheil; W. Paschen (1988). "Role of Calcium in the Activation of erp72 and Heme Oxygenase-1 Expression on Depletion of Endoplasmic Reticulum Calcium Stores in Rat Neuronal Cell Culture", *Neurosci. Lett.* 247: 1-4.
- MacManus, J.O.; M.D. Linnik, (1977) "Gene Expression Induced by Cerebral Ischemia: An Apoptotic Perspective", *J. Cereb Blood Flow Metab.* 17:815-832.
- Mailleux, P.; K. Takazaka; C. Erneux; J. J. Vanerhaeghen (1992). "Comparison of Neuronal Inositol 1,4,5-Trisphosphate 3-Kinase y Receptor mRNA Distributions in the Adult Rat Brain Using in Situ Hybridization Histochemistry", *Neuroscience.* 49: 577-590.
- Martone, M. E.; Y. Zhang; V. M. Simpliciano; B. O. Carragher; M. H. Ellisman (1993). "Three-Dimensional Visualization of the Smooth Endoplasmic Reticulum in Purkinje Cell Dendrites", *J. Neurosci.* 13: 4636-4646.
- Mattson, P. M.; Q. Guo (1997). "Cell and Molecular Neurobiology of Presenilins: A Role for Endoplasmic Reticulum in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease?", *J. Neurosci Res.* 50: 505-513.
- McGraw, C.F.; A.V. Somlyo; M.P. Blaustein (1980). "Localization of Calcium in Presynaptic Nerve Terminals: An Ultrastructural and Electron Microprobe Analysis", *J. Cell Biol.* 85:228-241.
- Mehmet, H. (2000). "Caspases Find a New Place to Hide", *Nature.* 403: 29-30.
- Mignery, G. A.; C. L. Newton; B. T. Archer III; T. C. Südhof (1990). "Structure and Expression of the Rat Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor", *J. Biol. Chem.* 265: 12679-12685.
- Miller, S.W.; R.E. Davis; P.A. Trimmer; W.D. Parker (1996). "Creation and Characterization of Mitochondrial DNA Depleted Cell Lines with "Neuronal like" Properties", *J. Neurochem.* 67:1897-1907.
- Minn, A.J.; P. Velez; S.L. Schendel; H. Liang; S.W. Muchmore, S.W. Fesik; M. Fill; C.B. Thompson (1997). "Bel-X(L) Forms an Ion Channel in Synthetic Lipid Membranes", *Nature.* 385:353-357.
- Nakagawa, Y.; H. Zhu; N. Morishima; E. Li; J. Xu; B. A. Yankner; J. Yuan (2000). "Caspase-12 Mediates Endoplasmic-Reticulum-Specific Apoptosis and Cytotoxicity by Amyloid- β ", *Nature.* 403: 98-103.
- Newton, C. L.; G. A. T. C. Mignery; Südhof (1994). "Co-expression in Vertebrate Tissues and Cell Lines of Multiple Inositol 1,4,5-Trisphosphate (InsP3) Receptors with Distinct Affinities for InsP3", *J. Biol. Chem.* 269: 28613-28619.
- Paschen, W.; J. Doutheil (1999). "Disturbances

- of the Functioning of Endoplasmatic Reticulum: A Key Mechanism Underlying Neuronal Cell injury", *J. Cereb Blood Flow Metab.* 19: 1-18.
- Paschen, W.; J. Doutheil; C. Gissel; M. Treiman (1996). "Depletion of Neuronal Endoplasmic Reticulum Calcium Stores by Thapsigargin: Effect on Protein Synthesis", *J. Neurochem.* 67: 1735-1743.
- Petersen, CCH.; M.J. Berridge; M.F. Borgese; D.L. Bennett (1995). "Putative Capacitative Calcium Entry Channels: Expression of Drosophila TRP and Evidence for the Existence of Vertebrate Homologues", *Biochem J.* 311:41-44.
- Rosenbluth, J. (1962). "Subsurface Cisternae and their Relationship to the Neuronal Plasma Membrane", *J. Cell Biol.* 13:405-421.
- Sambrook, J.F. (1990). "The Involvement of Calcium in Transport of Secretory Proteins from the Endoplasmatic Reticulum", *Cell.* 61: 197-199.
- Sharp, H. A.; F. C. Jr.; O. Blondel; C. A. Sheppard; C. Zhang; S. H. Snyder; J. T. Russell; D. K. Ryugo; C. A. Ross (1999). "Differential Cellular Expression of Isoforms of Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptors in Neurons and Glia in Brain", *J. Comp. Neurol.* 406: 207-220.
- Sheehan, J.P.; R.H. Swerdlow; S.W. Miller; R.E. Davis; J.K. Parks; W.D. Parker; J.B. Tuttle (1997). "Calcium Homeostasis and Reactive Oxygen Species Production in Cells Transformed by Mitochondria from Individuals with Sporadic Alzheimer's Disease", *J. Neurosci.* 17: 4612-4622.
- Siesjö, K.B.; B. Hu; T. Kristián (1999). "Is the Cell Death Pathway Triggered by the Mitochondrion or the Endoplasmic Reticulum?", *J. Cereb Blood Flow Metab.* 19: 19-26.
- Spacek, J.; K.M. Harris (1997). "Three-Dimensional Organization of Smooth Endoplasmic Reticulum in Hippocampal CA1 Dendrites and Dendritic Spines of the Immature and Mature Rat", *J. Neurosci.* 17:190-203.
- Terasaki, M.; N. T. Slater; A. Fein; A. Schmidek; T. S. Reese (1994). "Continuous Network of Endoplasmic Reticulum in Cerebellar Purkinje Neurons", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91: 7510-7514.
- Thornberry, N.A.; Y. Lazebnik (1988). "Caspases: Enemies Within", *Science* 281:1312-1316.
- Waring, P.; J. Beaver (1996). "Cyclosporin A Rescues Thymocytes from Apoptosis Induced by Very Low Concentrations of Thapsigargin: Effects on Mitochondrial Function", *Exp Cell Res.* 227:264-276.
- Weideman, A.; K. Paliga; U. Dürrwang; C. Czech; G. Evin; C.L. Master; K. Beyreuther (1997). "Formation of Stable Complexes Between Two Alzheimer's Disease Gene Products: Presenilin-2 and β -Amyloid Precursor Protein", *Nature Med.* 3:328-332.
- Yan, R.; M. J. Bienkowski; M. E. Shuck; H. Miao; M. C. Tory; A. M. Pauley; J. R. Brashler; N. C. Stratman; W. R. Mathews; A. E. Buhl; D. B. Carter; A. G. Tomasselli; L. A. Parodi; R. L. Heinrichson; M. E. Gurney (2000). "Membrane-Anchored Aspartyl Protease with Alzheimer's Disease β -Secretase Activity", *Nature.* 402: 533-537.
- Yanker B. A. (1996). "Mechanisms of Neuronal Degeneration in Alzheimer's Disease", *Neuron.* 16: 921-932.



Paisajes embriológicos y genes

PEDRO MIRAMONTES

La diversidad de las formas vegetales

ELENA ÁLVAREZ BUYLLA

Los genes homeóticos y el desarrollo de la mosca de la fruta

MARIO ZURITA

La homeosis y la macroevolución

FRANCISCO VERGARA SILVA

La cuadratura del círculo y otros problemas de geometría

LAURA ELENA MORALES

Cómo escribir una tesis

ZENÓN CANO SANTANA

DE VENTA EN • LIBRERÍAS • SANBORN'S • VIPS

SUSCRIPCIONES, VENTAS Y NÚMEROS ANTERIORES

REVISTA DE DIFUSIÓN • FACULTAD DE CIENCIAS UNAM

Cubículos 319, 320 y 321. Departamento de Física, Facultad de Ciencias, UNAM. Ciudad Universitaria, 04510 México, Distrito Federal. Teléfono: 56 22 49 35 www.ejournal.unam.mx / Correo electrónico: revci@hp.ciencias.unam.mx