

Maridatge a la cèl·lula

Alejandro Martorell Riera

Introducció

L'amor és una espècie de desig, d'atracció entre dos éssers. És una atracció d'efecte i afecció acompanyat de molts sentiments on s'expressen emocions, actituds i experiències que, com explosions en la nit, es fonen en una mateixa resposta. Segons Plató, l'amor és la fonamental empenya cap a la filosofia. El que ve a dir que sense amor ni comprensió entre dos o més, els raonaments lògics i coherents no troben receptor.

Des d'un punt de vista comú, l'amor genera plaer. Aquest plaer es transforma en una sintonia simètrica i perfecta, en un maridatge. Igual que en gastronomia els bons àpats són acompanyades de bon vi escollit pel sommelier segons el tipus d'aliments que es vagin a degustar i l'hora del dia en què es trobin, a l'interior de les cèl·lules se segueixen unes regles molt similars, ja que hi ha harmonies i comunicacions entre orgànuls perfectament regulades a nivell molecular.

La visió de la cèl·lula emplenada d'objectes (orgànuls) estàtics i separats entre ells, com si de persones enemistades i sense relació es tractés, és totalment falsa. En l'última dècada s'ha observat que molts dels components cel·lulars estan en contínua interacció i que el bon funcionament d'aquesta pot arribar a diferenciar entre la supervivència de la cèl·lula o la mort.

En aquest article anem a fer una passejada romàntica per una de les relacions que més controvèrsia i emocions està despertant actualment a la comunitat científica. Anem a parlar del reticle endoplasmàtic (RE) i els mitocondris. Els mitocondris són els generadors d'energia de la cèl·lula, a més de les múltiples reaccions metabòliques que es desenvolupen al seu interior, i gràcies a elles i la seva implicació dinàmica en tants processos imprescindibles per a la cèl·lula. El reticle endoplasmàtic compleix moltes funcions bàsiques per a la cèl·lula com la síntesi de proteïnes i la distribució d'enzims i altres molècules per l'interior de la cèl·lula i cap al seu exterior, a més de ser dipòsits de calci.

Segons sembla, els punts de contacte entre tots dos ajuden enormement a l'estabilització de cadascun d'ells i a mantenir el bon funcionament de molts processos cel·lulars tan comuns com la regulació del calci i el control de la mort cel·lular programada. En moltes malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer i el Parkinson, les neurones afectades podrien tenir problemes greus just en aquests punts de comunicació entre tots dos orgànuls. Aquí rau la importància del seu estudi i la seva comprensió.

El **Dr. Antonio Zorzano** (professor del departament de Bioquímica i Biologia Molecular de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona) és l'investigador principal d'un grup de recerca ubicat a l'Institut de Recerca Biomèdica (IRB) de Barcelona, l'objectiu del qual és determinar els mecanismes moleculars implicats en el desenvolupament de resistència a la insulina i, més concretament, identificar nous gens de susceptibilitat a l'obesitat i la diabetis. En els últims treballs publicats en revistes d'alt impacte científic han centrat els esforços en explicar els mecanismes moleculars activats en condicions en les quals la fusió i la fissió mitocondrial són alterades. Gràcies a aquestes investigacions han aconseguit establir l'associació entre l'estrès de reticle endoplasmàtic i la dinàmica mitocondrial. Aquests treballs han obert una nova perspectiva per a l'estudi de la comunicació entre orgànuls i la senyalització cel·lular.

Breu història

La intuïció de l'existència d'una possible connexió física entre el reticle endoplasmàtic i els mitocondris es va començar a esmentar fa moltes dècades i les primeres observacions les podem situar en els treballs desenvolupats pel científic americà John Ruby. Amb l'ajuda dels avenços en microscòpia electrònica, el 1969 es va aventurar a anunciar la possible interacció entre ambdós orgànuls. No obstant això, la zona de les membranes del RE i els mitocondris que entren en contacte, també conegut com MAM (*Mitochondrial Associated Membranes*, en anglès), no es va descobrir com una entitat bioquímica fins a 1990. Per arribar a aquesta conclusió fa més de 20 anys, es van haver de dur a terme tècniques, a dia d'avui molt utilitzades, com la isolació de membranes mitjançant fraccionament cel·lular, és a dir, aïllar mitjançant tècniques de separació diferents tipus d'orgànuls o fragments de membrana segons les seves propietats bioquímiques.

La millor manera de definir les zones MAM és descrivint-les com la representació de les membranes de RE que es troben estretament juxtaposades a les dels mitocondris, és a dir, dues membranes d'orgànuls diferents però que poden purificar-se juntes segons la tècnica descrita amb anterioritat. El 1998 es va dur a terme un gran avenç en la caracterització de les MAM. Es va mostrar que els mitocondris es trobaven davant d'una major concentració de calci (Ca^{2+}), en comparació amb el citoplasma de la cèl·lula, després que el RE alliberés el Ca^{2+} emmagatzemat. Aquests resultats van suggerir l'existència de zones o microdominis rics en calci entre el reticle endoplasmàtic i els mitocondris que requereix una unió proteica i física entre ambdós orgànuls.

Més endavant s'han anat definint altres funcions a les MAM com és l'homeòstasi de lípids (1998) i la pròpia síntesi dels lípids (1999), indicant les funcions que s'han conservat i han evolucionat en els llocs d'unió del RE i les mitocondris. En l'última dècada, a través dels continus avenços en les tècniques de formació d'imatges de cèl·lules vives que permeten reconstruccions en 3D de les xarxes de RE i dels mitocondris i els sofisticats estudis de tomografia d'electrons, la superfície total de els mitocondris juxtaposada al RE s'ha estimat en al voltant del 5 al 20% del total. També s'ha comprès que les MAM no són simples unions entre aquests orgànuls sinó que permeten el trànsit de molècules i activació de cascades de senyalització importants per a la cèl·lula.

Actualment, les funcions que s'atribueixen a les MAM són les següents:

- Control de la morfologia mitocondrial.
- Possible activació de les cascades de mort cel·lular programa o apoptosi.
- Síntesi de lípids.
- Senyals de control de l'autofàgia.
- Transport de calci.
- Amplificació de senyals d'inflamació.
- Unió entre el RE i els mitocondris.
- Respostes antivirals.

Paper del reticle endoplasmàtic en la fissió mitocondrial

És important comprendre que els mitocondris són orgànuls de la cèl·lula que no estan connectats al sistema de transport vesicular que engloba altres orgànuls. Tot i això, el contacte físic o la comunicació via intermediaris entre els mitocondris i altres orgànuls és més que palpable. De fet, s'ha calculat en llevats que hi ha al voltant de 100 contactes entre el RE i els mitocondris i que al voltant del 5-20% de la superfície de els mitocondris de cèl·lules humanes està en íntima proximitat amb el reticle endoplasmàtic.

Els mitocondris són uns dels orgànuls de la cèl·lula més dinàmics. Contínuament s'estan dividint i fusionant, canviant la seva mida i distribució. L'auge en la investigació de la dinàmica mitocondrial ha guanyat molta més atenció en els últims 20 anys quan s'ha vist l'important que és per a la comprensió de molts processos biològics com el manteniment de les funcions mitocondrials, l'apoptosi i l'envelliment. Són molts els gens que s'han identificat relacionats amb la fusió i fissió en llevats i cèl·lules de mamífer, el primer dels quals va ser identificat al 1997 a *Drosophila melanogaster*, una mena de mosca utilitzada molt com a model per investigar.

La majoria dels orgànuls de la cèl·lula poden generar-se de nou a excepció del reticle endoplasmàtic i els mitocondris, que proliferen pel creixement i la divisió dels orgànuls preexistents. Tal com s'esquematitza a la **Figura 4**, la fusió entre mitocondris promou l'intercanvi de contingut entre un i altre. Aquest procés és molt important per dissipar l'energia generada per un increment del potencial de membrana mitocondrial, per intentar pal·liar l'acumulació de mutacions en el mtDNA i per disminuir o diluir algun augment sobtat de radicals lliures d'oxigen (ROS).

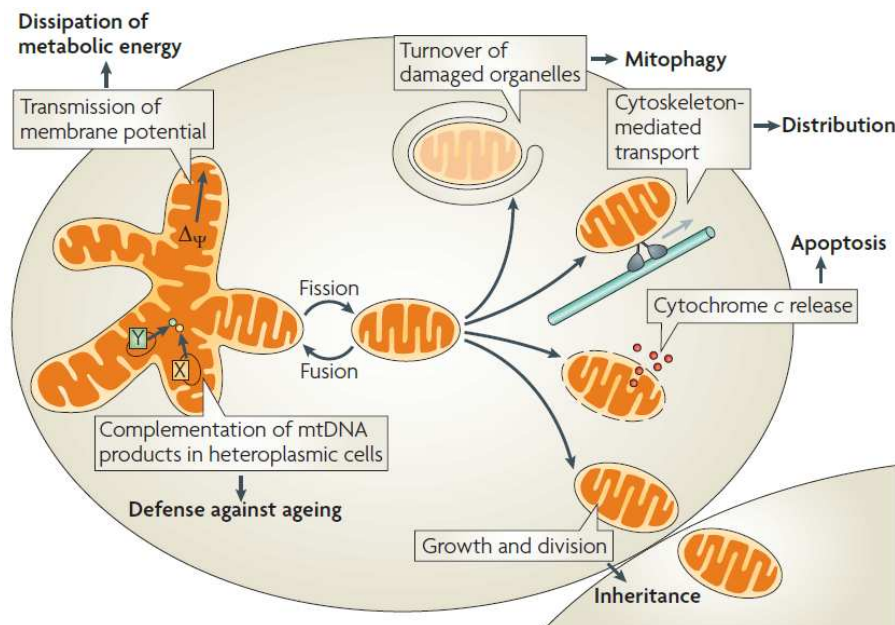


Figura 1. Funcions biològiques de la dinàmica mitocondrial (Westermann B, 2010).

De forma antagònica, la fissió mitocondrial promou la divisió d'un orgànul i en genera dos de nous (**Figura 4**). Aquest procés permet a la cèl·lula distribuir i reorganitzar la seva complexa xarxa de mitocondris per adaptar-la a les necessitats que van variant. Durant la divisió cel·lular, els orgànuls es fissionen per generar mitocondris més petits que poden ser més fàcilment repartits entre les dues cèl·lules filles. Durant la distribució dels mitocondris per tot l'interior de la cèl·lula, cal ressaltar que uns orgànuls més petits poden ser més fàcilment repartits i enviats als punts on es requereix la seva funció. La correcta regulació de la distribució mitocondrial és vital en tipus cel·lulars grans o llargs com les neurones, que presenten un arbre dendrític d'important grandària i un àxon llarg per fer les sinapsis. Un esdeveniment clau en l'apoptosi és la permeabilització de la membrana externa mitocondrial que allibera el citocrom c i altres factors pro-apoptòtics des de l'espai intermembrana al citosol per desencadenar l'apoptosi. L'apoptosi i el seu *link* amb la fissió mitocondrial es va descriure en mamífers per primera vegada en 2001 i es va veure que el procés és mediat per un esdeveniment previ de semi-fissió que involucra la proteïna Drp1, la principal encarregada de la fissió mitocondrial. L'autofàgia dels mitocondris s'anomena mitofàgia. És temptador especular que la mitofàgia constitueix un mecanisme per eliminar els mitocondris disfuncionals de la cèl·lula i per tant per prevenir la proliferació de mtDNA mutat. Aquest procés, la fissió dels mitocondris, és vital per poder crear orgànuls més petites i ser eliminats per autofàgia de forma més senzilla.

La divisió de les cèl·lules bacterianes depèn d'una proteïna coneguda com FtsZ una proteïna que s'auto-ensambla en una estructura d'anell associada a la membrana plasmàtica que coordina el muntatge de tota la maquinària de divisió. S'ha descrit que en algunes algues primitives aquesta maquinària s'ha conservat a partir de les proteïnes dels avantpassats bacterians per fissionar mitocondris de l'alga. No obstant això, durant l'evolució de la majoria dels llinatges eucariotes, la maquinària de divisió procariota se substitueix per un altre tipus de proteïnes. En contrast amb la maquinària de divisió bacteriana, que actua sobre el costat intern de la membrana plasmàtica, la maquinària de divisió mitocondrial s'acobla a l'exterior de l'orgànul. En animals superiors la proteïna implicada en la fissió mitocondrial és l'anomenada Drp1. Aquesta proteïna se situa en la seva gran majoria en el citoplasma de la cèl·lula i és reclutada a través del receptor MFF a la membrana dels mitocondris. A la **Figura 2** es mostra un exemple de fissió mitocondrial en cèl·lules animals.

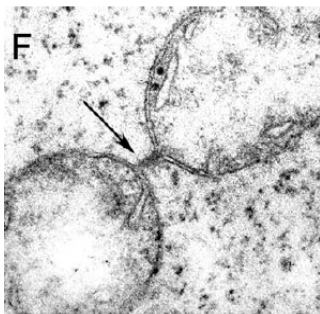


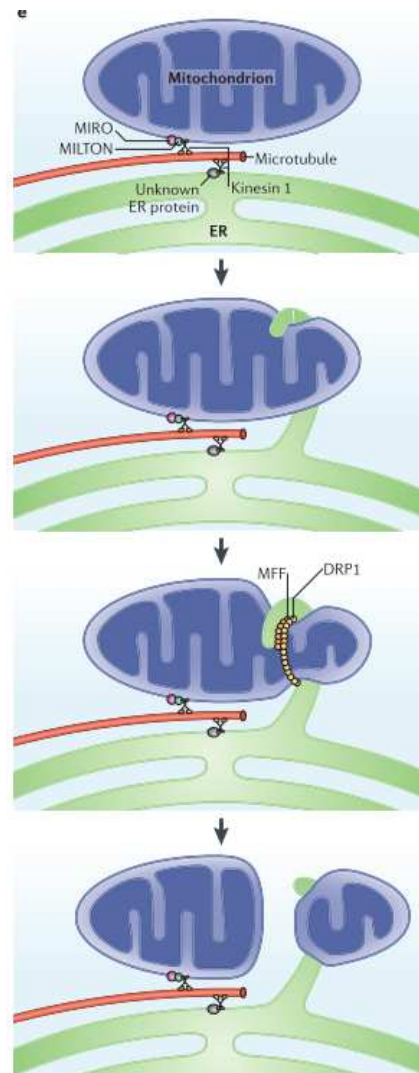
Figura 2. Anell de divisió mitocondrial observat amb microscòpia electrònica (Kuroiwa T, et al. 2006).

Quan les proteïnes Drp1 s'associen per constrènyer el mitocondri, aconsegueixen arribar a un diàmetre al voltant de 100 nm. Aquesta grandària no és suficient ja que els mitocondris tenen, de mitjana, 300 nm de gruix. Aquestes observacions van suggerir que un altre mecanisme, encara no descrit, hauria de ser el causant de constrènyer els mitocondris permetent en acoblament de Drp1 i, per tant, el mateix procés de fissió. Aquesta idea també es va associar a altres on es plantejava com se seleccionen els llocs o punts de fissió dels mitocondris, perquè aquests orgànuls no es divideixen pel centre, si no tot el contrari, és un procés que ocorre en qualsevol punt localitzat a tot el llarg del mitocondri. Assaigs de tomografia electrònica (una

tècnica que ofereix la possibilitat de determinar estructures tridimensionals de material biològic a nivells de resolució prou alts com per permetre la identificació de macromolècules individuals com ara proteïnes) i microscòpia de fluorescència de cèl·lules vives de llevat i cèl·lules de mamífers va revelar que el RE s'emboïca al voltant de els mitocondris abans que Drp1 sigui reclutada. Aquesta activitat del RE marca els llocs de fissió i, possiblement, assisteix al muntatge de l'anell de divisió de Drp1 per la constricció de l'orgànul (**Figura 3**). Aquest procés, que es podria anomenar també divisió RE-mitocòndria associada, es conserva des de les llevats fins als mamífers.

Curiosament, cal remarcar que alguns estudis també han revelat que la constricció mitocondrial duta a terme pel reticle endoplasmàtic pot ocórrer en l'absència de Drp1 i MFF, el que suggereix que la selecció dels punts de fissió per part del RE es produeix abans del muntatge de la maquinària de fissió encapçalada per la pròpia Drp1.

Figura 3. Representació esquemàtica sobre el sistema de fissió mitocondrial promogut pel reticle endoplasmàtic (Rowland AA and Voeltz GK, 2012).



També s'ha observat que el citoesquelet d'actina contribueix a aquest procés, almenys en les cèl·lules de mamífers. En aquest cas cal recalcar el paper de la proteïna INF2 que accelera la polimerització (formació) i despolimerització (destrucció) de l'actina. En aquest context, INF2 s'ubica al RE i activa la formació de l'actina en direcció a el mitocondri al qual s'estigui envoltant. És possible que el creixement de l'actina ajudi a constrènyer més al mitocondri. Una altra proteïna implicada és la miosina II, una proteïna contràctil que podria estar ajudant a l'actina en les seves funcions. Ambdues proteïnes, INF2 i miosina II, semblen tenir una clara implicació en la generació de força per conduir la fissió mitocondrial i el reclutament de Drp1 (**Figura 4**).

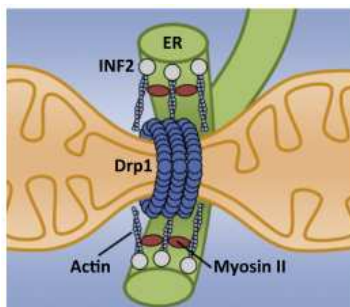


Figura 4. En mamífers, la proteïna INF2 associada a RE podria estar contribuint a la fissió mitocondrial promovent la formació de filaments d'actina. La miosina II podria generar, llavors, la força de suport necessària per poder facilitar l'acció de Drp1 després de ser reclutada (Klecker T, et al. 2014).

La rellevància de les MAM a les principals malalties neurodegeneratives

Actualment la comunitat científica que es dedica a l'estudi de les malalties neurodegeneratives està vivint un continu debat al voltant de les causes d'aquestes patologies. Des de fa molts anys es coneix que cadascuna de les malalties cròniques del nostre sistema nerviós central està associada a l'acumulació descontrolada d'alguna proteïna que promou un mal funcionament, no només de les neurones, sinó també del teixit cerebral en general. En la malaltia d'Alzheimer la proteïna causant és el pèptid β -amiloide, en Parkinson és la α -sinucleïna (α -sin) i en Huntington és la huntingtina (htt). La característica principal és que totes elles s'acaben acumulant, per diferents motius, la qual cosa comporta la mort de les neurones i el teixit adjacent. Els científics porten molt temps estudiant per què s'acumulen aquestes proteïnes, i com afecten les neurones en els models animals que s'utilitzen per simular aquestes malalties, busquen possibles teràpies. El debat actual se centra en que l'acumulació d'aquestes proteïnes podria no ser la causa de les esmentades malalties, sinó una mera conseqüència.

Una conseqüència de què?, On residiria la causa? Per respondre aquestes preguntes cal centrar-se novament en els mitocondris i, més concretament, en les zones MAM. La participació de els mitocondris i el paper que juguen en moltes malalties és cada vegada més evident. Fins fa alguns anys els investigadors no centraven les seves mires i els seus esforços en aquests orgànuls amb l'objectiu de comprendre o resoldre patologies. Però els avenços en els últims anys han demostrat un important vincle en el mal estar dels mitocondris i la seva relació amb les malalties neurodegeneratives, en aquest cas.

És important comprendre que les MAM són zones de membrana especialitzades per dur a terme funcions determinades. Una de les principals característiques a nivell bioquímic és que les zones de membrana del mitocondri juxtaposades al RE són riques en cardiolipina. Aquest fosfolípid atorga certa rigidesa a la membrana actuant com fa el colesterol a les basses lipídiques o lípids *Raft* de la membrana plasmàtica de la cèl·lula. Aquesta rigidesa permet l'acumulació de proteïnes específiques que són requerides en aquesta zona.

La malaltia **d'Alzheimer** és la primera causa de demència en persones d'arreu del món. Comença amb una suau i lenta progressió de pèrdua de la memòria i després amb un continu de símptomes debilitants, com la pèrdua completa de les capacitats cognitives i les funcions corporals, en última instància condueix a la mort. Encara que els casos d'Alzheimer són majoritàriament esporàdics, en general, els primers símptomes no apareixen fins després dels 60 anys.

Concretament en la malaltia d'Alzheimer, la proteïna precursora de l' β -amiloide es diu APP. Tant ella mateixa com els enzims que s'encarreguen de la seva cort o processat han estat localitzades en les MAM. L'any 2002 es va descriure que un d'aquests enzims proteolítics era l'encarregat de tallar la APP donant lloc al β -amiloide que semblava acumular. Aquests troballes que es van fer fa més de deu anys donen suport al paper important de les MAM en aquesta patologia. Tot i això, hi ha diverses discrepàncies al voltant de les MAM i els enzims

que tallen l'APP que encara no estan completament enteses. Els models experimentals i els enfocaments utilitzats en diversos estudis ja realitzats mostren clars vincles i alteracions en els lípids i la senyalització del Ca^{2+} , provocats per una connexió que queda pertorbada entre el RE i els mitocondris i que podria ser un factor important en la patogènesi de l'Alzheimer. Això és un *link* que s'hauria d'estudiar més a fons.

A més del problema que comporta l'acumulació del β -amiloide, com és el mal funcionament de la maquinaria cel·lular en general, hi ha altres funcions descrites fa alguns anys que perjudiquen els mitocondris, entre d'altres orgànuls. Aquesta és l'entrada massiva d'ions calci a l'interior de les neurones pel fet que el β -amiloide pot inserir-se en la membrana plasmàtica i actuar com a canals d'entrada de Ca^{2+} . Aquest fet potencia l'excitotoxicitat, un esdeveniment que ocorre en totes les malalties neurodegeneratives cròniques i agudes. Per fer-nos una idea, l'excitotoxicitat apareix quan les neurones pateixen una entrada massiva i sense control de calci; l'augment de concentració activa tot un seguit de vies de senyalització moltes de les quals actuen directament sobre els mitocondris. L'excés de Ca^{2+} en els mitocondris augmenta la producció de radicals lliures d'oxigen (ROS), inhibeix la síntesi d'ATP (la molècula que atorga energia en els processos moleculars), indueix l'obertura de canals en els mitocondris anomenats PTP (per les seves sigles en anglès) i promou l'alliberament del citocrom c al citoplasma, el que provoca l'inici de l'apoptosi.

Una altra malaltia neurodegenerativa amb certa vinculació de les MAM és el **Parkinson**. És la segona malaltia neurodegenerativa més comuna per darrere de l'Alzheimer. Es caracteritza per la pèrdua progressiva de les neurones dopaminèrgiques en una zona del cervell trucades substància nigra i també per l'acumulació d'inclusions intracel·lulars anomenades cossos de *Lewy*. Aquests cossos, com s'ha dit anteriorment, són acumulacions d'una proteïna, la α -sinucleïna. La majoria dels casos de Parkinson són esporàdics i probablement causats per toxines ambientals, però al voltant del 5-10% dels casos són d'origen genètic. Les primeres evidències que es van tenir on es va relacionar la disfunció mitocondrial amb aquesta patologia va ser el 1983, en observar que les neurones afectades acumulaven molt estrès oxidatiu.

Actualment es coneixen unes poques proteïnes relacionades amb els mitocondris de manera directa o indirecta que estan relacionades amb el Parkinson. Sense donar més detalls dels necessaris, només cal dir que els noms d'aquestes proteïnes són PINK1, parkina, LRRK2 i, la més nova de totes, la mateixa α -sin, entre altres. Estudis recents han demostrat que α -sin s'acumula a els mitocondris i augmenta de forma perjudicial els nivells de calci i, com a conseqüència, els nivells d'òxid nítric, el dany oxidatiu i l'alliberament de citocrom c seguit de la mort de la neurona. El més sorprenent és que α -sinucleïna no s'acumula en els mitocondris per cap acció vinculada a la patologia, sinó que és possible que la seva ubicació i funció principal en possiblement la regulació del calci, es trobi directament en els mitocondris, concretament en les zones MAM. Heus aquí un nou exemple de com d'important i transcendental és el bon funcionament d'aquestes zones de contacte entre mitocondris i el reticle endoplasmàtic.

El **Huntington** és una malaltia neurodegenerativa caracteritzada per la pèrdua de les neurones de tipus GABAèrgiques de la zona del cervell anomenat estriat. Els símptomes principals són la motilitat deteriorada que provoca la coneguda corea, demència i altres defectes neuropsiquiàtrics. La causa genètica és l'expansió anormal repeticions trucades CAG al gen que codifica la proteïna huntingtina (htt). Les formes mutants de htt contenen més de 35 repeticions errònies de CAG i hi ha una correlació directa entre el nombre de repeticions i la gravetat de la malaltia. Htt és una proteïna localitzada principalment en el citosol de la cèl·lula, però també es troba en els compartiments del RE, els mitocondris, al nucli i en l'aparell de Golgi. Les seves funcions exactes encara es desconeixen, tot i que s'ha detectat la seva participació en la regulació de la transcripció, en diverses funcions mitocondrials, la producció de ROS, el tràfic d'òrgànuls i l'apoptosi. La seva connexió amb el tema d'aquest article és que recentment també s'ha detectat htt a les zones MAM. A dia d'avui encara no tenen idees clares del que pot estar fent o fins a quin punt podria estar perjudicant la malaltia des d'aquesta ubicació.

La proteïna Mitofusina 2 com a pont d'unió en les zones MAM

El procés de fusió en si dels mitocondris requereix la coordinació de les seves membranes externes i internes, i assegura el manteniment de la compartimentació. Les Mitofusinas (MFN) se situen a la membrana externa i en humans presenten una gran homologia (81%) i una topologia molt similar. La sobreexpressió de qualsevol de les dues mitofusinas és suficient per promoure l'agregació de els mitocondris i la disminució dels seus nivells donen lloc a mitocondris fragmentades.

Malgrat les seves similituds, Mfn2 presenta una activitat GTPasa inferior a Mfn1 però una major afinitat al GTP. A més, Mfn2 té moltes funcions a més de la fusió mitocondrial que no comparteix amb Mfn1:

- És important per al correcte desenvolupament i manteniment del cerebel.
- Protegeix les neurones davant ROS, el dany al DNA i l'excitotoxicitat.
- Interactua amb membres de les famílies Bcl-2 anti-i pro-apoptòtiques protegint contra l'apoptosi.
- També es localitza a la membrana del reticle endoplasmàtic (ER) mitjançant la connexió amb els mitocondris.
- Permet la unió de les proteïnes motores de la cèl·lula a els mitocondris permetent el seu desplaçament pels microtúbuls.
- Mutacions en Mfn2 són la causa més comuna de patir la malaltia neurològica Charcot-Marie-Tooth de tipus 2.
- És capaç de aturar el cicle cel·lular en inhibir a ERK.
- Regula el metabolisme mitocondrial en induir l'expressió i activació dels complexos I, IV i V del OXPHOS.

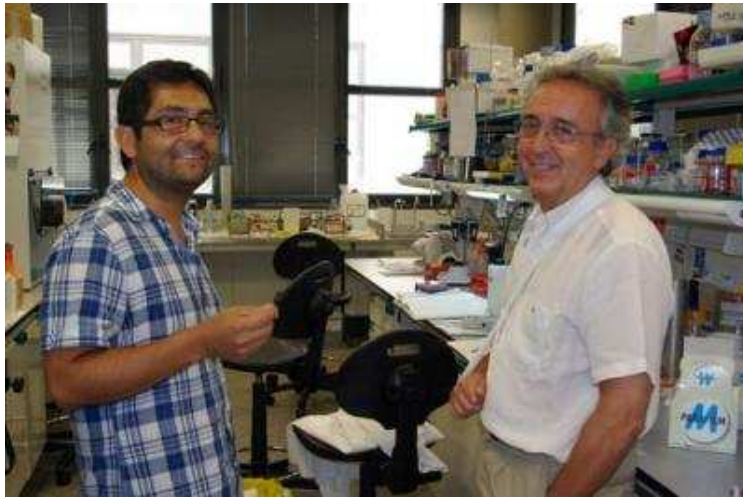
L'estructura cristal·lina de MFN no s'ha obtingut encara, però des de 2006 és possible tenir accés a l'estructura de la proteïna BDLP de cianobacteris, reconeguda com la proteïna bacteriana homòloga de les mitofusinas. Els experiments que s'han dut a terme, apunten que les BDLP han d'estar involucrades en un procés de fusió de membranes en els punts d'unió entre bacteris permetent, per exemple, accions tan bàsiques com la conjugació on un bacteri li transfereix un plasmidi (un fragment d'ADN) a un altre.

Entre totes les funcions d'Mfn2, una de les més importants per al tema que estem tractant aquí és el seu paper com a connector entre el RE i els mitocondris. Aquesta connexió física s'aconsegueix gràcies a què el RE també té Mfn2 que reconeix les dels mitocondris. S'han realitzat estudis on la inhibició de Mfn2 o la reducció dels seus nivells mitjançant diferents tècniques han donat lloc a una lleugera fragmentació el reticle endoplasmàtic, un augment en la distància entre ambdós orgànuls i problemes de captació de calci. A més, s'han obtingut resultats que avalen que la disminució de Mfn2 redueix dràsticament l'eficiència del RE i els mitocondris en la síntesi de lípids. De fet, mitofusina 2 promou la unió entre ambdós des de les zones MAM.

S'han descrit amb cert detall un grapat de proteïnes que es troben situades a les zones MAM de diversos tipus cel·lulars. De tota manera, això no determina que totes les zones de connexió entre els dos orgànuls estiguin compostos del mateix tipus de proteïnes. Un estudi recent de proteòmica va identificar més de 1.212 proteïnes associades a les MAM, que es van classificar d'acord a les seves funcions en els processos biològics. Es va descobrir que moltes d'elles eren de vital importància per a els mitocondris com la fosforilació oxidativa, el metabolisme dels lípids, el tràfic de calci, etc.

L'acumulació de proves indica que les MAM són estructures subcel·lulars, versàtils i que promouen la senyalització entre el RE i els mitocondris. Investigacions recents han posat de manifest i ampliat les funcions atorgades a les MAM en tota una varietat de processos cel·lulars de síntesi i transport de lípids, estrès del RE, senyalització del calci, eliminació dels mitocondris per mitofagia, etc. Si bé l'atenció s'ha d'enfocar a respondre la gran varietat de preguntes que encara no han estat aclarides. No hi ha dubte que el ritme creixent en què camp de la investigació sobre les MAM s'està movent, aviat tindrem resposta a preguntes intrigants, com per exemple quines vies de senyalització s'activen a partir de la comunicació establerta en les MAM, quines altres molècules de senyalització són imprescindibles per als propòsits de la unió a més del calci, o com es podria actuar contra les MAM en benefici de la cèl·lula per actuar contra certes malalties.

Entrevista



Els Drs. Pablo Muñoz (esquerra) i Antonio Zorzano.

Per endinsar-nos en el context de la proteïna Mitofusina 2 (Mfn2) i la rellevància de les zones MAM entre mitocondris i reticle endoplasmàtic, s'ha entrevistat al Dr. **Joan Pablo Muñoz**.

Joan Pablo Muñoz va cursar la carrera de Bioquímica a la Universitat Austral de Xile i va desenvolupar la seva Tesi doctoral en Biologia Cel·lular i Molecular a la Facultat de Ciències de la Universitat de Xile. El seu doctorat el va realitzar en l'àrea de les malalties neurodegeneratives i després va expandir els seus coneixements mitjançant un postdoctorat a la Facultat de Química i Farmàcia de la Universitat de Xile, en l'àrea dels mecanismes de supervivència cel·lular de les cèl·lules cardíques.

Durant els últims 5 anys es troba desenvolupant el seu segon postdoctorat al laboratori del Dr. **Antonio Zorzano**, del qual s'ha parlat en la introducció d'aquest article.

Pregunta (P): Quin camí evolutiu creus que han passat els mitocondris pensant en la seva íntima comunicació amb el RE?

Joan Pablo (JP): Durant l'evolució aquesta interacció va sorgir com una especialització que ha donat origen a la complexitat i plasticitat cel·lular. Aquesta comunicació és clau en mantenir l'homeòstasi de calci, síntesi d'ATP i lípids i mantenir un procés metabòlic teixit específic. Recents publicacions han demostrat que la pèrdua dels contactes mitocondri-reticle endoplasmàtic alteren el metabolisme cel·lular, induint un metabolisme tipus Warburg i pèrdua de la diferenciació cel·lular.

P: Això podria donar lloc a pensar que els mitocondris poden tenir el seu origen en l'especialització del RE i no un origen bacterià com es porta temps especulant i comprovant, què en penses?

JP: La teoria de l'endosimbiosi de Lynn Margulis postula que un bacteri ancestral va ser englobada per un altre microorganismes per produir una nova cèl·lula simbiònt, actualment aquesta és la teoria que més satisfà les dades trobades utilitzant estudis genètics. No obstant això teories com l'origen del mitocondri a partir del reticle han estat postulades però no han tingut transcendència, pel fet que no existeixen antecedents científics sòlids en relació a aquesta teoria. Cal destacar que recents investigacions han demostrat que el peroxisoma té el seu origen en el reticle endoplasmàtic, la qual cosa està obrint noves possibilitats a la investigació sobre l'origen dels orgànuls.

P: Centrant-nos ja en una de les proteïnes de les teves investigacions, Mfn2, quin paper i funció o funcions creus que ha d'estar jugant a les zones de comunicació MAM (Mitochondrial Associated ER Membrane) entre ambdós orgànuls?

JP: Pel que sembla les MAM són complexes estructures proteïques (s'han descrit prop de 30 proteïnes que componen les mams) on es decideix el destí cel·lular. És important destacar que en aquests llocs estan en directa comunicació els processos de biosíntesi de proteïnes i la capacitat bioenergètica cel·lular. Per exemple, s'ha descobert que sota condicions d'estrès cel·lular, en què és necessari incrementar la síntesi d'ATP, les mitocondria s'acosten al reticle i s'afavoreix la fosforilació oxidativa. Mfn2, una proteïna integral d'aquestes estructures efectua un paper rellevant en aquest procés. Des del seu descobriment fa 10 anys enrere, s'assumia que Mfn2 complia un paper sol en dinàmica mitocondrial, però els nous descobriments han demostrat que aquesta proteïna compleix un paper important en la coordinació de la senyalització d'orgànuls. En aquest moment sabem, que Mfn2 compleix un paper crucial per mantenir l'estructura del reticle i els mitocondri, i la disminució de l'expressió de Mfn2 condueix a alteracions en els senyals de calci, estrès oxidatiu i metabolisme.

Noves investigacions suggereixen que aquesta proteïna és un sensor del nivell d'estrès cel·lular, a més, un recent article a *Current Biology* demostrar que Mfn2 participa en la interacció de melanosomes (unes estructures similars als lisosomes) amb els mitocondris. Són moltes les incògnites actuals sobre la comunicació entre orgànuls, hem de recordar que només actualment tenim tecnologies que ens permeten analitzar amb alta resolució dels processos dinàmics subcel·lulars en cèl·lules vives. Prèviament els estudis eren realitzat en cèl·lules fixades i utilitzant tècniques bioquímiques

P: De totes les funcions que porta a terme Mfn2 en general, no només en les zones MAM, quina d'elles et sembla més interessant i amb més rellevància?

JP: Actualment penso que una de la més interessant és la participació de Mfn2 en autofàgia (un procés que té el propòsit de degradar orgànuls i agregats proteics en condicions d'estrès

cel·lular), un recent article a *Nature Cell Biology* demostrar que els llocs de contacte RE-mitochondries mitjans per Mfn2 són necessaris per a la formació de autofagosomes. Aquestes investigacions han obert una inesperada i nova àrea en la investigació sobre la funció de Mfn2. Cal destacar que aquesta troballa és important tant per a la investigació de malalties on es produeix agregació de proteïnes i dany en els òrgans, tal com Alzheimer i Parkinson, i a més en el procés de desenvolupament embrionari, on sabem que l'autofàgia és crucial perquè aquest procés passi correctament.

P: El paper de Mfn2 sembla ser realment de molta importància però què és el que la fa ser tan imprescindible per a la cèl·lula?

JP: Mfn2 probablement és un important avanç evolutiu, en mamífers existeixen dues proteïnes involucrades en la fusió de membrana externa del mitocondri, Mfn2 i Mfn1 les quals posseeixen prop d'un 90% d'homologia de seqüència proteica, però són codificades en cromosomes diferents. Quan es van descobrir es pensava que eren redundants en la seva funció, però ara s'ha descrit que les petites diferències en la seva seqüència atorga propietats molt diferents a aquestes proteïnes, les quals són independents de la seva funció en dinàmica mitocondrial. Els nostres treballs han demostrat que Mfn2 regula la UPR, una complexa senyal activada al ER i que indueix l'activació d'un conjunt de factors transcripcionals involucrats en la resposta antioxidant, síntesi de proteïnes, autofàgia i metabolisme.

P: Aquest tipus de comunicació entre ER i mitocondris ens poden fer pensar que els òrgans de la cèl·lula en realitat estan en íntima relació entre tots, en canvi de ser ens individuals que opines sobre això?

JP: En relació a això les dades actuals són prou clars, per exemple s'ha descrit que el reticle endoplasmàtic està en connexió amb peroxisomes, el nucli, la membrana plasmàtica, els mitocondris i les vesícules endosomals. Totes aquestes dades han estat obtingudes utilitzant tècnica de microscòpia electrònica i són coneguts des de fa molt de temps. Actualment són un important tòpic d'investigació causa de l'aparició de noves tecnologies, cal recordar que la bioquímica convencional d'aïllar òrgans es basa en homogeneïtzar els teixits, això destrueix la fina arquitectura subcel·lular.

P: Seguint amb aquest tema, sempre se'ns mostren les cèl·lules dibuixades en els llibres i els articles científics on tots els òrgans es veuen separats i sense establir comunicacions. Penses que aquesta perspectiva hauria de canviar i que els llibres i articles s'haurien d'adaptar a la nova percepció que es té sobre la cèl·lula?

JP: Per descomptat, quan vas a un llibre de biologia cel·lular clàssica els contactes amb prou feines són esmentats, però actualment, moltes revisions al camp ja integren el concepte de comunicació entre òrgans. En relació al fet que hauria de ser considerat et donaré un exemple molt simple, sempre ens ensenyen que els mitocondris produeix ATP en forma molt més eficient que la glicòlisi. Però què passa amb aquest ATP sintetitzat, encara no s'han dilucidat completament els mecanismes pels quals l'ATP és canalitzat al reticle endoplasmàtic.

P: Per acabar i agrair enormement teva col·laboració, quines altres funcions creus o predit que arribaran a conèixer i descobrir sobre els mitocondris?

JP: Crec que encara ens queda molt per descobrir, en relació als senyals des de els mitocondri a nucli o la interfície ER-mt. A més nous descobriments en l'àrea tals com, els del grup de Heidi McBride on han descrit l'existència de vesícules derivades del mitocondri (MDV) les serveixen per intercanviar components entre mitocondri i peroxisoma. Encara hi ha molt per aprendre, a més tot aquest coneixement generat has afegir la variació depenent del teixit cel·lular, són molt diferents mitocondris en neurones i cor per exemple.

Bibliografia:

- Demuro, A. et al. (2005) Calcium dysregulation and membrane disruption as a ubiquitous neurotoxic mechanism of soluble amyloid oligomers. *J Biol Chem*, 280:17294-17300.
- Fernandez, MG. et al. (2002) Early changes in intramitochondrial cardiolipin distribution during apoptosis. *Cell Growth Differ*, 13(9):449-455.
- Hardy, J. & Selkoe, DJ. (2002) The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 297(5580):353-356.
- Porter, KR. et al. (1945) A study of tissue culture cells by electron microscopy: methods and preliminary observations. *J Exp Med*, 81(3):233-246.
- Rizzuto, R. et al. (1998) Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca^{2+} responses. *Science*, 280(5370):1763-1766.
- Ruby, JR. et al. (1969) Continuities between mitochondria and endoplasmic reticulum in the mammalian ovary. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 97(1):30-37.
- Schon EA, and Przedborski S. (2011) Mitochondria: the next (Neurode)generation. *Neuron Review*, 70:1033-1053.
- Vance, JE. (1990) Phospholipid synthesis in a membrane fraction associated with mitochondria. *J Biol Chem*, 265(13):7248-7256.
- Zorzano, A. et al. (2009) Mitochondrial dynamics in mammalian health and disease. *Physiol Review*, 89:799-845.

Bibliografia de figures:

- **Figura portada:** Reconstrucció tridimensional d'una fotografia presa per l'autor d'aquest article mitjançant microscòpia confocal. En color verd es mostra el reticle endoplasmàtic i en color vermell els mitocondris.
- **Figura 1:** Westermann, B. (2010) Mitochondrial fusion and fission in cell life and death. *Nature Reviews*, 11:872-884.
- **Figura 2:** Kuroiwa, T. et al. (2006) Structure, function and evolution of the mitochondrial division apparatus. *BBA*, 1763:510-521.
- **Figura 3:** Rowland, AA and Voeltz, GK (2012) Endoplasmic reticulum – mitochondria contacts: function of the junction. *Nature Reviews*, 13:607-615.
- **Figura 4:** Klecker T, et al. (2014) Making connections: interorganelle contacts orchestrate mitochondrial behavior. *Trends in Cell Biology*, 14.