

Introducción a la Biología celular humana

Autores: Víctor Manuel Valdespino Gómez¹
Patricia Margarita Valdespino Castillo²
Víctor Edmundo Valdespino Castillo³

¹ Departamento de Atención a la Salud, Unidad Xochimilco, Universidad Autónoma Metropolitana, México, D.F., México.

² Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México.

³ Unidad Médica de Atención Ambulatoria, Instituto Mexicano del Seguro Social. Clínica-Hospital, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, Campeche, Campeche, México..

Dedicatoria y agradecimientos

Los autores del texto “Introducción a la Biología celular humana”, de la Serie *Académicos de CBS*, manifiestan su agrado en la construcción del manuscrito.

Cada uno de los autores agradece importantemente a su esposa, esposo o compañeros sentimentales, con quienes han compartido muchos momentos de su vida, por su ayuda, tolerancia y apoyo durante esta actividad.

Particularmente agradecen el apoyo de Margarita Castillo Valenzuela por la importante función de corregir el estilo y la sintaxis del texto.

Índice

Introducción	5
---------------------------	----------

Sección I. La célula como centro de la vida

1. El cuerpo humano como un conjunto celular integrado. La naturaleza biológica de la célula	7
2. Las células sencillas y las complejas. Los organismos se clasifican de acuerdo a su complejidad celular	16
3. Los principales procesos fundamentales de las células complejas. Homeostasis de los organismos	25
4. Las bases y principios moleculares que emplean las células para realizar sus diferentes funciones. Principales vías de señalización intracelulares.	30
5. Sistemas supracelulares. La estructuración de tejidos y órganos	45

Sección II. Viajando hacia el centro de las células

6. Vehículos y estrategias para la exploración de las células	50
7. Componentes bioquímicos solubles y no solubles (estructurales). Identificación y manipulación de las biomoléculas.....	58
8. Membrana celular, organelos y suborganelos	77
9. Entorno de las células: matriz extracelular	89
10. Organización estructural y funcional del genoma	95
11. Integración de la respuesta de los genes por cambios genómicos y epigenómicos ...	101
12. Organización y ejecución de las respuestas celulares ante diferentes señales Entendiendo como trabajan las células	118

Sección III. Funciones celulares básicas y complejas

13. Nutrición y metabolismo celular	126
14. Reproducción y renovación celulares. Células <i>stem</i> y su participación en la homeostasis tisular	132
15. Polaridad, adhesión, y migración celular	141
16. Diferenciación y especialización celular	148
17. Envejecimiento, reparación, muerte celular	157
18. Interacciones entre las células y su ambiente. Cambios genéticos, genómicos, epigenómicos, proteómicos y fenotípicos	164

Sección IV. Los comportamientos celulares fisiológicos y patofisiológicos en la salud y la enfermedad

19. Entendimiento del comportamiento celular en los procesos de salud y de enfermedad. Modelo de la célula cancerosa	169
20. Aplicación de los conocimientos de la biología celular y molecular para modificar o revertir la enfermedad. Terapia celular en la medicina regenerativa	184
Glosario	194

Introducción

El propósito de esta obra es socializar y revisar junto con los lectores los aspectos modernos básicos de la célula.

La célula se ha convertido en los últimos dos siglos en el centro del entendimiento de la naturaleza, del medio ambiente, de la salud y de la enfermedad de los organismos multicelulares. El presente texto “Introducción a la Biología celular humana” se enfoca al análisis celular básico de las poblaciones que constituyen un organismo humano.

En todos los niveles de educación formal se estudian diferentes aspectos de la célula, esta obra condensa la información que frecuentemente es analizada en los diferentes niveles de educación media, media superior y primeros semestres o trimestres de educación superior, y su contenido es accesible por todos los estudiantes universitarios independientemente a su pertenencia a cualquier área del conocimiento. Particularmente, para los estudiantes universitarios de las áreas de ciencias naturales y de la salud, consideramos que la obra introduce al tema a través de un esfuerzo rápido y limitado, para posteriormente revisar los textos universitarios modernos de Biología Celular, Bioquímica y Biología Molecular.

La obra “Introducción a la Biología celular humana”, se encuentra constituida por 20 capítulos, organizados en cuatro secciones: La célula como centro de la vida, Viajando hacia el centro de las células, Funciones celulares básicas y complejas y

Los comportamientos celulares fisiológicos y patofisiológicos en la salud y la enfermedad. La mayoría de capítulos pueden ser leídos en aproximadamente 30 minutos.

El cuerpo de la obra contiene implícitos dos grandes objetivos, el primero es comunicar los conceptos actuales sobre el tema, y el segundo es emplear dicha información en el entendimiento de algunos de los aspectos fisiológicos y patofisiológicos de los seres humanos, e incluso de su intervencionismo para modificar dichos comportamientos.

El texto analiza conceptos generales clásicos de Biología celular y algunos conceptos mínimos de Biología Molecular identificados en esta última década, como los relacionados con la genómica, epigenómica, proteómica, diferenciación celular, células *stem*, células cancerosas, etc. Asimismo, analiza conocimientos específicos más recientes como los estudios con microarreglos de DNA, los polimorfismos de nucleótido individual, la inducción de células *stem* pruripotenciales a partir de células somáticas y su potencial en medicina regenerativa, etc. Todo ello le otorgan al texto una moderna originalidad, y gran utilidad académica.

Las características mencionadas en el texto “Introducción a la Biología celular humana”, hacen que su contenido sea vigente, atractivo y potencialmente aplicativo.

Los autores agradecen de antemano la disposición y la oportunidad de los lectores para acercarse al mundo maravilloso de la célula.

Sección I. La célula como centro del entendimiento de la vida

Capítulo 1

El cuerpo humano como un conjunto celular integrado.

La naturaleza biológica

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

El cuerpo humano es la máquina biológica más maravillosa que existe en el planeta tierra; su armonía, funcionamiento, eficiencia, capacidad y adaptación son cualidades de un organismo humano. El cuerpo humano es regulado por un reloj biológico que le permite transitar potencialmente por la naturaleza en un lapso de casi 100 años; dicho tránsito puede ser por caminos de buena, regular o mala calidad de vida.

El cuerpo humano es una organización biológica extraordinariamente compleja, es un macrosistema de alto redimiendo. Aunque funciona como un todo, el intentar su entendimiento requiere realizar una disección de sus principales componentes, siendo las células sus principales elementos constitutivos. Las células son las unidades estructurales, se calcula que un organismos humano de 70 kilogramos está conformado de aproximadamente $1 \times 10^{13-14}$ células (10-100 trillones). Las células son unidades microscópicas que miden de 7 a 30 micrómeros (micras) y son agrupadas generalmente en conjuntos celulares denominados tejidos, los cuales a su vez se organizan junto con otros componentes extracelulares y conforman los

distintos tejidos y órganos de nuestro cuerpo. El cuerpo humano contiene más de trescientos tipos de células, organizados en tejidos y órganos (Alberts et al., 2008).

A pesar de esta numerosa población de células que conforman un organismo humano, todas ellas trabajan coordinadamente para mantener y preservar la vida saludable. Para ello, los distintos conjuntos celulares o tejidos se encuentran ordenados estructural y funcionalmente para responder a los cambios intrínsecos celulares programados por su reloj biológico, y/o a los cambios extrínsecos provocados por factores microambientales y macroambientales, y con ello mantienen el equilibrio integral del cuerpo humano u homeostasis. Todos los conjuntos celulares en nuestro organismo contienen un control de jerarquización local tisular, y un control de jerarquización sistémica a distancia; estos sistemas de recepción, interpretación y respuesta de células son casi perfectos en condiciones de salud. Los diferentes tejidos humanos están conformados por células predominantes, y células no-predominantes numéricamente menores; todas ellas junto con algunas estructuras extracelulares conforman estructural y funcionalmente un microambiente fisiológico para mantener la salud o la homeostasis local.

El cuerpo humano organiza el funcionamiento de los más de doscientos tejidos que lo componen, a través de un líder tisular, el cual corresponde al sistema nervioso. El sistema nervioso indica, regula, y coordina el funcionamiento ordenado, adaptativo y cooperativo de la mayoría de los tejidos y órganos. De manera analógica, la célula como un microsistema, es regulada y coordinada por los señalamientos emitidos por el núcleo (Figura 1.2) (Hancock, 2010).

El estado de salud de un organismo humano implica el funcionamiento normal de la mayoría de las células que lo componen. Cada órgano o tejido requiere para su

funcionamiento normal, que aproximadamente 70-80% de sus componentes celulares funcionen con eficiencia; cuando los componentes celulares funcionan en más altos porcentajes, los órganos o los tejidos logran eficiencias aún mayores. Por ello, el porcentaje del conjunto celular funcional en cada uno de los tejidos u órganos se relaciona directamente con la eficiencia fisiológica del trabajo biológico que realiza dentro del sistema biológico global del cuerpo humano. La vida de un organismo eucariota complejo como el organismo humano, se encuentra supeditado a la vida biológica de las células que lo conforman.

El organismo humano contiene una gran variedad de células con diferentes tiempos de vida (Figura 1.1.). Las células con limitada duración, con tiempos de vida de escasos días, son sustituidas permanentemente a través de mecanismos complejos que renuevan las células que mueren. El balance de reposición de las células que mueren, es uno de los controles de regulación de la salud de los organismos (Lodish et al., 2005).

La célula es la unidad estructural y funcional básica de todos los organismos vivos. La célula a semejanza de un organismo complejo es un sistema biológico. En cuanto a sus dimensiones, las células presentan gran variabilidad en el tamaño de sus componentes que pueden variar de unidades micrométricas (0.000001 de metro o 1×10^{-6} m.), nanométricas (0.000000001 de metro o 1×10^{-9} m) o picométricas (1×10^{-12} m.), de ahí que puedan ser analizar bajo un microsistema, nanosistema o picosistema. Los componentes intracelulares solubles corresponden a biomoléculas de dimensiones nanométricas. Entre las biomoléculas más abundantes y funcionalmente más versátiles, destacan las proteínas. Son moléculas complejas

formadas por un número variable de monómeros denominados aminoácidos, los cuales están constituidos por átomos de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. El peso molecular promedio de un aminoácido es de 100 daltons; las proteínas pequeñas contienen decenas de aminoácidos y las grandes contienen centenas o miles de aminoácidos. Las proteínas con capacidad catalítica que realizan las transformaciones bioquímicas son las enzimas, en general una enzima actúa bioquímicamente sobre un solo sustrato (proteína, carbohidrato, o lípido) provocando un cambio químico, como por ejemplo una proteína-fosforilada (producto). En la porción soluble intracelular se identifican también diversos tipos de carbohidratos y lípidos.

La porción celular no soluble de las células se encuentra estructurada por órganos microscópicos, denominados también orgánulos u organelos, que están limitados por una membrana parecida a la membrana celular, que les permiten mantener un nanoambiente de biomoléculas funcionalmente específicas. Los organelos intracelulares funcionan independientemente para que las células cumplan diferentes procesos celulares fundamentales y especializados, relacionados al mantenimiento fisiológico de cada célula y a la elaboración de respuestas a los señalamientos externos ambientales, con la finalidad de mantener la homeostasis tisular y corporal del organismo (Karp, 2011).

El organelo más importante para coordinar las diferentes respuestas de la célula es el núcleo, a través de la modulación de las órdenes genómicas, epigenómicas y proteómicas. En analogía al cerebro como centro regulador del organismo, el núcleo, en las células, regula su funcionamiento. El fenotipo celular (morfología y funciones

celulares) está determinado por su genotipo funcional, influenciado directamente por las condiciones ambientales. Las variaciones genéticas conducen a la variación fenotípica, y en general las características fenotípicas pueden estar gobernadas por un solo gen, o por la interacción de un conjunto de genes. Las características fenotípicas hereditarias corresponden globalmente a los genes/alelos y marcas epigenéticas heredados, en tanto, las características fenotípicas no-hereditarias dependen predominantemente de las modificaciones epigenómicas recientes ejercidas sobre el genoma (Bernstein et al., 2007).

Además de los organelos, las células contienen otras estructuras nanométricas más pequeñas, y cuya función y organización es vital para el funcionamiento de la célula, entre ellos se encuentran un gran grupo de microfilamentos, los cuales constituyen el denominado citoesqueleto celular, el cual puede funcionar como soporte estructural intracitoplasmático de los organelos; además de otros suborganelos como los ribosomas. Este denominado citoesqueleto funciona también como ductos o canales por donde viajan biomoléculas que aumentan la velocidad de reacción bioquímica. Una célula individual en analogía a un sistema complejo, podría corresponder a una pequeña ciudad, en la cual existen vías de entrada, de salida, y de componentes múltiples de producción, de deshecho, de interconexión, etc. La construcción una célula artificial es actualmente una posibilidad muy remota.

Una célula contiene los elementos biológicos necesarios para los requerimientos universales de la vida, reproducirse, funcionar, envejecer y morir, a través de la coordinación y funcionamiento de sus conjuntos moleculares. Por ello el

entendimiento de su biología permite acercarse a la comprensión de la biología de los organismos complejos multicelulares.

En las células se pueden distinguir dos grandes características o rasgos: su morfología o forma y su funcionamiento o fisiología. Ambas características se denominan fenotipos, morfológico y funcional, respectivamente; cada uno de ellos es actualmente entendido a través de cambios biomoleculares. Por ello, por ejemplo la salud o las diferentes enfermedades en la actualidad, se entienden como cambios subcelulares y/o moleculares que suceden en las células que constituyen un tejido u órgano. Actualmente nos encontramos muy cerca de entender prácticamente todos los eventos moleculares en ambas condiciones y cerca de poder iniciar estrategias intervencionistas a esos niveles, que permitan aumentar la salud o corregir muchas de las principales enfermedades (Angeli et al., 2008).

En los siguientes capítulos nos asombraremos de muchos de los conocimientos que se han generado en relación al estudio de las células.

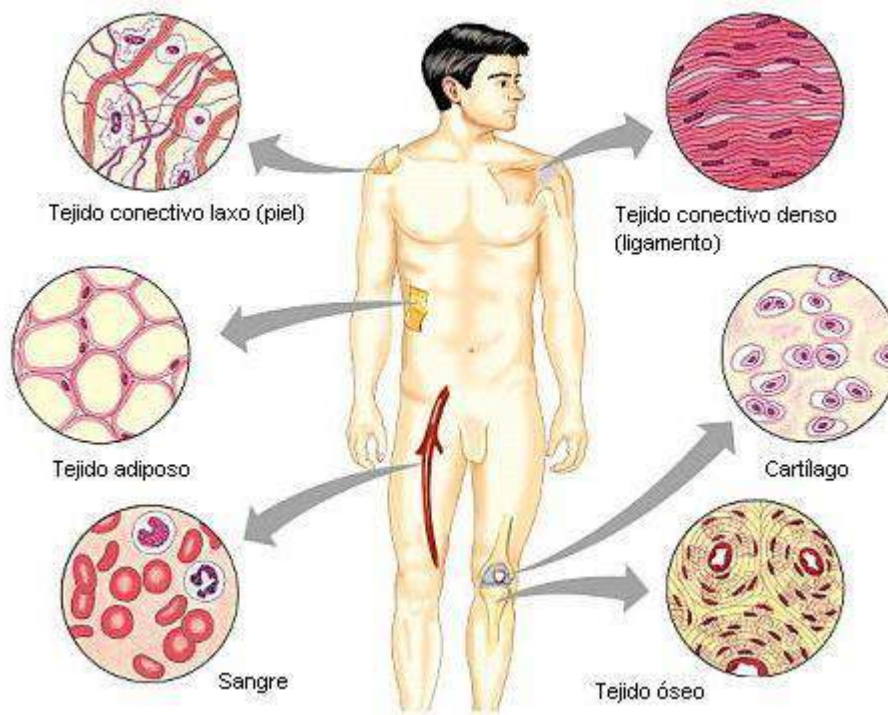


Figura 1.1 El cuerpo humano está conformado por mas de 200 tipos de células. Se ilustran algunos ejemplos.

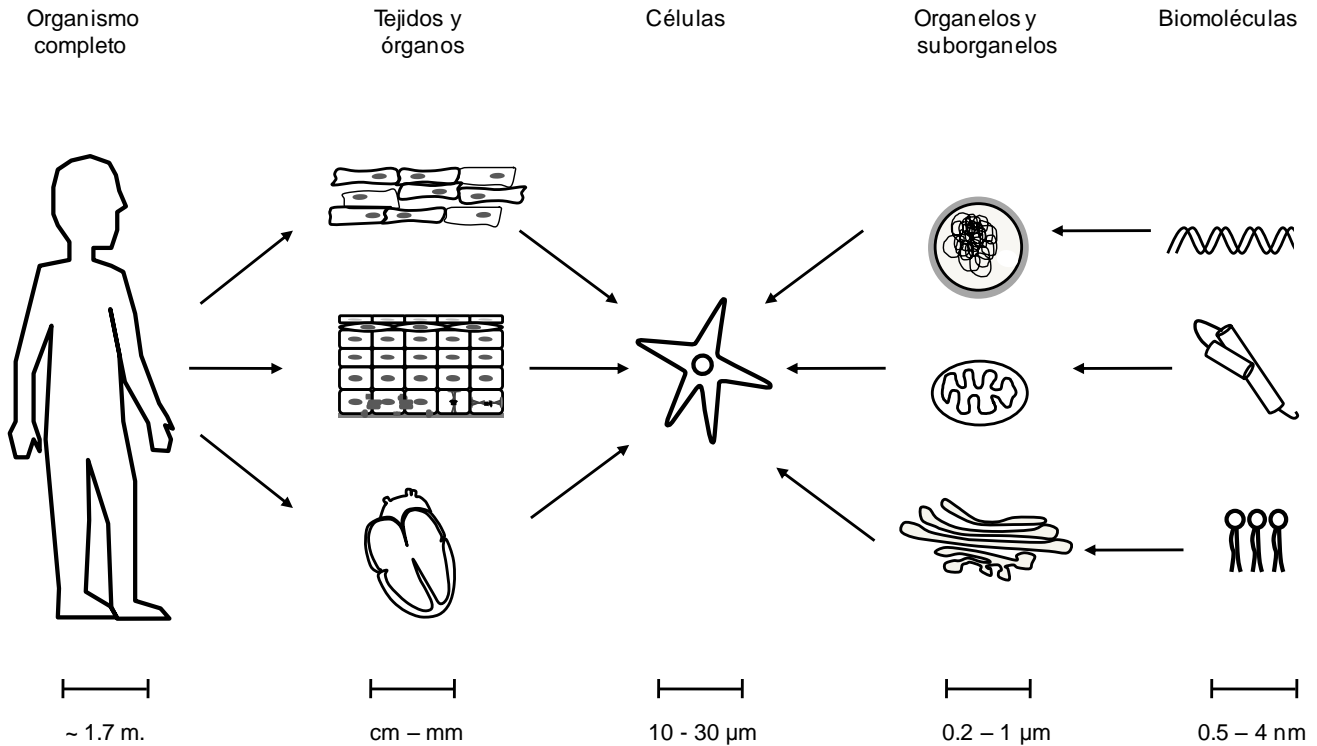


Figura 1.2 Niveles de organización tisular y molecular empleando como eje de referencia a la célula. Un organismo multicelular se encuentra estructurado por tejidos, órganos y sistemas/aparatos. En la imagen se ilustra al tejido muscular, un epitelio y el órgano del corazón; y cada uno de ellos por células. Una célula está constituida por organelos y suborganelos, la figura muestra el núcleo, la mitocondria y el retículo endoplásmico. A su vez todos los organelos y suborganelos están constituidos por complejos biomoleculares que funcionan a partir de reacciones bioquímicas; en la figura se esquematiza una cadena de DNA, una proteína y tres fosfolípidos.

Referencias

1. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.
2. Angeli E, Buzio R, Firpo G, Magrassi R, Mussi V, Respetto L, Valbusa U. Nanotechnology applications in medicine. Tumori 2008;94:206-215.
3. Bernstein BE, Meissner A, Lander ES. The mammalian epigenome. Cell 2007;128:669-681.
4. Hancock JT. Cell signaling. 3th ed. Oxford University Press Inc. New York; 2010; p1-334.
5. Karp G. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. 6th Ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765.
6. Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Scott MP, Bretscher A, Ploegh H, Matsudaira P. Molecular cell biology. 6th Ed. New York: W.H. Freeman & Co, 2008; p-1-1050.

Capítulo 2

Las células sencillas y las complejas. Los organismos clasificados de acuerdo a su complejidad celular

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo

y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

Las células y sus estructuras subcelulares son demasiado pequeñas para observarlas o manipularlas a través de nuestros órganos de los sentidos. La mayoría de las células animales o de las plantas miden entre 1 a 100 micrómetros. En los últimos cientos de años, los diferentes estudios de las células han sido objeto de miles de publicaciones científicas, especialmente en los últimos 50 años han sido estudiados diferentes aspectos de su biología celular y molecular.

La palabra **célula** deriva del latín *cellula*, que significa cuarto pequeño. El estudio de la célula a partir de la biología celular y molecular ha sido organizado analizando las diferentes partes del conjunto desde un punto de vista reduccionista, sin embargo en la última década el estudio de la célula ha sido ampliado, analizando las complejas organizaciones que suceden en conjunto o conjuntos, con un enfoque sistémico o de sistemas biológicos (Wang, 2010).

Las células solo pueden observarse con la ayuda de los diferentes tipos de microscopios. Las células más pequeñas corresponden a algunos tipos de bacterias, las cuales miden un micrómetro y su visualización requiere amplificar su imagen

1000 veces a través del uso del microscopio de luz de doble lente. Theodor Schwann en 1839, propuso que todos los organismos están constituidos por una o más células y que la célula es la unidad estructural de la vida. Rudolf Virchow en 1855, postuló que las células sólo pueden originarse por división de una célula preexistente (*omnis cellula ex cellula*).

Las células constituyen a todos los organismos. Diferentes tipos de células pueden obtenerse de una planta o animal y cultivarse en un laboratorio, donde se multiplican y crecen por largos períodos de tiempo; si no son cultivadas en condiciones fisiológicas pueden morir. Por otra parte, dentro de un organismo multicelular, las poblaciones celulares de vida corta mueren frecuentemente a través de un programa genómico interno preestablecido, ya que al cabo de cumplir 50-100 ciclos de división celular debido a señalamientos bioquímicos, limitan su reproducción e inducen la muerte celular o apoptosis. Las células humanas pueden cultivarse *in vitro* (fuera del organismo) requiriendo en sus condiciones generales de cultivo para su crecimiento, la adición de algunas biomoléculas específicas, por ejemplo, factores de crecimiento. Algunas células humanas han sido alteradas en su función reproductiva, como las obtenidas de tumores malignos que mantienen la propiedad de inmortalización. Entre ellas, son bien conocidas las células de la línea celular *HeLa*, que crecen sin requerir para su expansión celular de dichos factores de crecimiento. Los investigadores en biología celular y molecular emplean la expansión de clonas celulares (células idénticas) crecidas en cultivos de laboratorio como herramientas de experimentación o “conejiillos de indias” para preguntarles o investigar sobre algunos comportamientos biológicos particulares (Alberts et al., 2008).

Las células son unidades biológicas complejas y altamente organizadas. La regulación de sus funciones es extremadamente precisa a partir de sus biomoléculas ubicadas dentro o fuera de los organelos. Cada uno de los 300 tipos de células que conforman el organismo humano presenta comportamientos biológicos especializados relacionados a su forma, ubicación y predominio de organelos, patrones de expresión génica, receptores y vías de señalamientos moleculares y de la organización de respuestas, particularmente por modificaciones en su amplia gama de cambios fenotípicos. La forma de las diferentes células ha sido adoptada para facilitar su función específica, así por ejemplo las células epiteliales que recubren el intestino (enterocitos), contienen microvellosidades en la porción intraluminal del intestino, con lo cual se facilita la absorción de nutrimentos. Las microvellosidades se proyectan hacia fuera de la superficie celular porque contienen en su interior un citoesqueleto constituido por actina. En su extremo basal, los enterocitos poseen una gran cantidad de mitocondrias, y se contactan con un rico plexo venoso a través del cual viajan los nutrimentos hacia el hígado (Karp, 2011).

Cada una de las diferentes células poseen un programa genómico (genes), epigenómico (nivel de expresión de su expresión secundario a las influencias externas) y proteómico (síntesis de proteínas como respuesta) (Golbabapour et al., 2011). Cada programa mencionado contiene tal cantidad de información y redes de interacción que si las editáramos podrían llenar millones de páginas de un texto. Los genes además de contener la información codificada de todas las funciones biológicas, contienen las instrucciones y esquemas de regulación para llevar a cabo todos los procesos celulares esenciales y especializados de la célula. Las células

son capaces de reproducirse, de obtener y utilizar energía, de realizar actividades mecánicas, de reaccionar ante estímulos externos, de autorregularse y de evolucionar; todo ello a partir de realizar multitud de transformaciones químicas diferentes. La identificación de los mecanismos que controlan el funcionamiento celular y la forma de las diferentes células, son algunos de los logros más grandes de la biología en las últimas décadas.

Las células sencillas y las complejas

Los biólogos apoyándose en el empleo de diversos tipos de microscopios electrónicos han logrado la amplificación de imágenes de 500 a 100,000 veces, y además han sido capaces de examinar la estructura interna de una gran variedad de células. A partir de estas observaciones se encontró que existen dos principales tipos de células, las sencillas (**procariotas**) y las complejas (**eucariotas**), las cuales se diferencian por su tamaño y tipos de organelos y suborganelos. Las células procariotas incluyen a las bacterias; las células eucariotas incluyen a los protistas, hongos, plantas y animales; las primeras se presentan en la naturaleza como organismos unicelulares, y las eucariotas, frecuentemente como organismos multicelulares complejos.

Las células procariotas y eucariotas presentan semejanzas y diferencias (Cuadro 2.1). Entre las principales semejanzas son que los dos tipos celulares se encuentran limitados por membranas plasmáticas, su información genética está constituida por el ácido desoxiribonucleico (DNA) mediante códigos idénticos, y comparten mecanismos similares para la transcripción del ácido ribonucleico (RNA), de síntesis

de proteínas (traducción), así como comparten rutas metabólicas básicas. Las principales diferencias entre ambos tipos de células, es que las células eucariotas son más complejas en estructura y función que las procariontes. En las procariontes el material genético se agrupa en una región que no está bien limitada, en cambio en las eucariotas se ubica en un núcleo envuelto por una membrana nuclear. Esta gran diferencia en la estructura nuclear es la base para su denominación : eucariota (*eu*, verdadero; *karyon*, núcleo), y procarionte (*pro*, antes; *karyon*, núcleo). Las células procariontes contienen menores cantidades de DNA (las bacterias contienen 600,000 a 8 millones de nucleótidos en su DNA, son capaces de codificar 500 a varios miles de proteínas) y pueden contener DNA extracromosomal, llamados plásmidos; las células eucariotas contienen decenas de millones de nucleótidos en su DNA, los cuales pueden codificar a muchos miles de proteínas. Las células eucariotas organizan su genoma en una larga cadena de DNA, en un determinado conjunto separado, denominado cromosoma (15 a 30 pares). El DNA cromosómico se empaqueta estrechamente con complejos de proteínas repetitivas denominados nucleosomas; a todo este material nucleoproteínico se conoce como cromatina. Las células procariontes contienen solo un cromosoma circular único, y su DNA no se une con el mismo tipo de proteínas. El citoplasma de los dos tipos de células es muy diferente, las células eucariotas tienen una disposición de organelos limitados por membrana, incluyen mitocondrias (contiene DNA extracromosómico), retículo endoplásmico, aparato de Golgi, principalmente. En cambio, el citoplasma de las células procariontes se encuentra libre de estructuras membranosas. Las células eucariotas contienen también estructuras no membranosas dentro del citoplasma, como microtubulos y microfilamentos del citoesqueleto, los cuales participan en la

contractilidad celular, movimiento y soporte, en cambio las procariotas poseen un citoesqueleto más simple. Ambos tipos de células contienen partículas no membranosas denominadas ribosomas, en donde se ensamblan las proteínas, pero tienen diferentes tamaños (60S+40S vs. 60S+30S) (Lodish et al., 2005). Las células eucariotas se dividen a través de un proceso complejo de mitosis, en el cual los cromosomas se duplican, condensan y son separados por un sistema de microtúbulos (huso mitótico), en cambio en las procariotas no hay compactación de los cromosomas ni huso mitótico (Figura 2.1). Las células de tipo eucariota tienen mayor capacidad metabólica, requieren gran variedad de compuestos orgánicos y poseen diversos mecanismos de locomoción compleja, mientras que en los procariotas son relativamente sencillos.

Las células procariotas aparecieron en la Tierra hace aproximadamente 4 mil millones de años, y la mayoría emplea moléculas orgánicas de carbón como base de su metabolismo. Existen diferentes teorías del origen de la primera célula, se considera que el RNA fue la primera molécula con capacidad de auto-replicación. Las células procariotas generalmente viven como unidades individuales, y se dividen en dos grandes grupos, arqueobacterias (como las que viven en ambientes extremos e inhóspitos) y eubacterias, o simplemente bacterias. Las procariotas más complejas son las cianobacterias, algunas de ellas realizan fotosíntesis y/o fijación de nitrógeno (conversión de nitrógeno gaseoso $-N_2-$, a formas reducidas de nitrógeno como α -amoniaco- NH_3). Se han identificado aproximadamente **6000 especies** de células procariotas. La mayor parte de los hábitats sobre la Tierra están saturados de vida

procariota. La cantidad total de carbono de las células procariotas en la superficie de la Tierra es comparable a la cantidad de toda la vida del mundo vegetal.

Por su parte, las células eucariotas surgieron hace 2 mil millones de años, probablemente producto de la simbiosis de varias células procariotas (teoría endosimbiótica). Aunque se pueden presentar como organismos unicelulares como los protozoos (*Vorticella*) o levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*), su evolución ha tendido hacia la formación de los organismos multicelulares, constituyen a las plantas, animales, hongos, protozoos y algas; y son cerca de 100 a 1000 veces más voluminosas que las procariotas (Alberts et al., 2008). En éstos organismos multi- o megacelulares, diferentes tipos celulares especializados efectúan distintas actividades. Un organismo multicelular puede contener un gran número de células diferentes y especializadas, como las células musculares o los de la piel, las cuales son diferentes en apariencia y función, más genéticamente son idénticas. Las células especializadas se forman por un proceso conocido como diferenciación celular, que consiste en la expresión génica selectivamente, para conducir a la síntesis y activación específica de proteínas y organelos y con ello modular los procesos celulares básicos y especializados y finalmente producir un fenotipo celular particular. Este proceso se lleva a cabo a partir de las células *stem* somáticas durante el desarrollo embrionario, y posteriormente durante toda la vida del organismo, En el inicio del desarrollo del ser humano, una célula totipotente origina tres tipos de células *stem* multipotentes: ectodérmicas, endodérmicas y mesodérmicas, las cuales por diferenciación celular generaran las diversas células somáticas terminalmente diferenciadas. Como resultado de la diferenciación, los más de 300 tipos celulares

que conforman a un organismo pluricelular complejo adquieren una apariencia y funciones particulares (Karp, 2010; Alberts et al., 2008). El número, apariencia y localización de las diferentes proteínas y organelos se correlacionan con la actividad de cada tipo celular. Los organismos pluricelulares complejos como los animales y plantas guardan semejanzas estrechas a nivel celular y molecular con los organismos pluricelulares más pequeños y simples. La mayor parte de las células eucariotas poseen un núcleo y dentro de éste, dos copias de la totalidad de los genes.

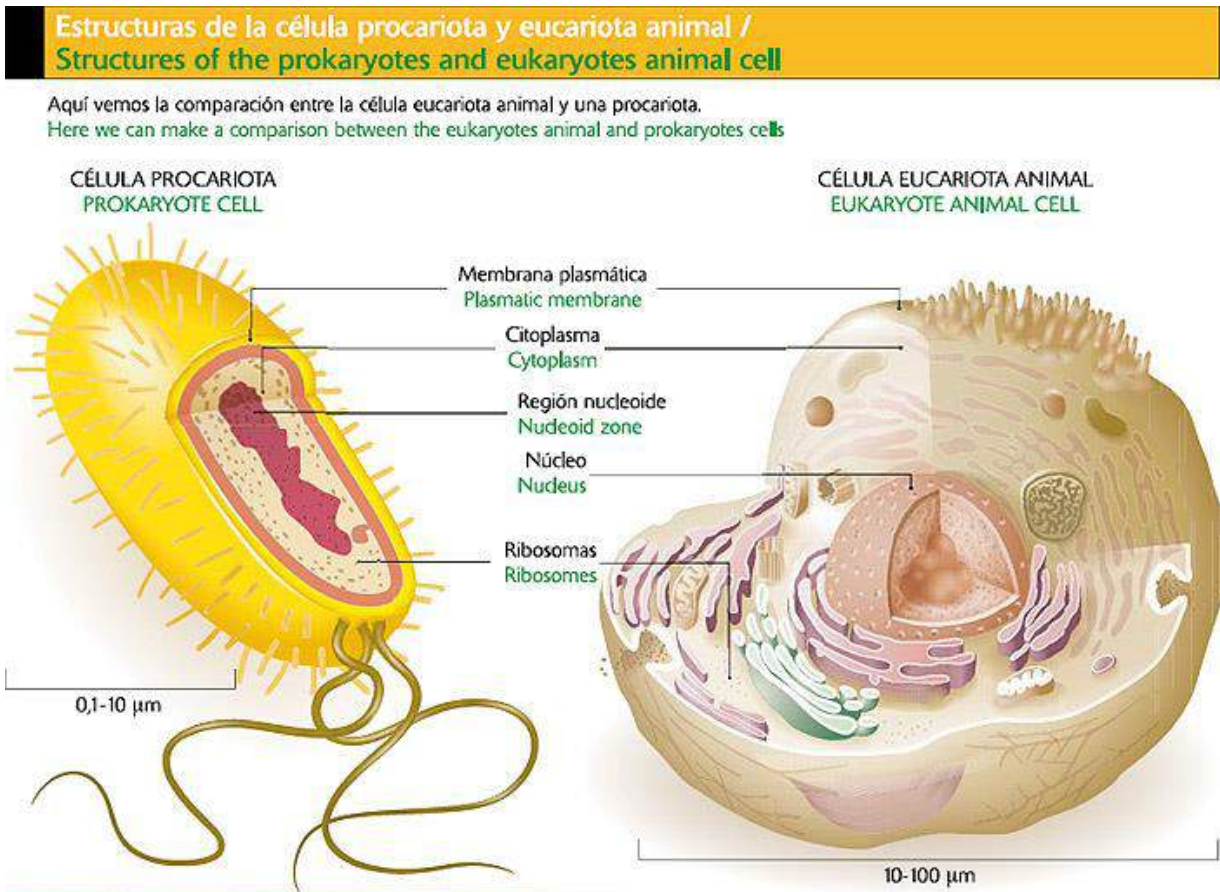


Figura 2.1. Disponible en slideshare.net. Eukaryotic and prokaryotic cells.

CÉLULA PROCARIOTA	CÉLULA EUCARIOTA (Animal)
Estructura Sencilla. Tamaño: 1 a 5 μm^*	Estructura Compleja. Tamaño: 10 a 30 μm
No tienen núcleo ni nucleolo.	Presentan núcleo y nucleolo.
No presenta sistema de membranas.	Presenta sistema de membranas.
No presenta organelos	Presenta organelos con funciones definidas
Pared Celular	Membrana Celular
ADN doble circular	ADN doble helicoidal
ADN con poco genes	ADN con muchos genes
En la mayoría de los casos los genes no presentan intrones.	Los genes presentan intrones y exones.
El ADN se empaqueta formando una estructura circular	El ADN se empaqueta formando cromosomas
Proceso de división simple	Proceso de división por mitosis
En su mayor parte son organismos asexuados. No cuentan con mecanismos para formación de gametos ó verdadera fertilización.	Realizan división por meiosis que permite la formación de gametos.
Estructura celular típica de las bacterias	Estructura celular típica de protistas, hongos, plantas y animales.
Procesos de locomoción simples	Procesos de locomoción complejos

Cuadro 2.1. Principales diferencias entre las células procariotas y eucariotas.

Referencias

- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.
- Golbabapour S, Abdulla MA, Hajrezaei M. A concise review on epigenetic regulation: insight into molecular mechanisms. Int J Mol Sci 2011;12:8661-8694.
- Karp G. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. 6th Ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765.
- Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Scott MP, Bretscher A, Ploegh H, Matsudaira P. Molecular cell biology. 6th Ed. New York: W.H. Freeman & Co, 2008; p-1-1050.
- Wang E. Cancer Systems Biology. CRC Press. London/New York; 2010: p1-149.

Capítulo 3

Los procesos celulares fundamentales de las células complejas. Homeostasis de los organismos

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

El término de homeostasis en un organismo significa mantener estable sus constantes fisiológicas (temperatura, pH, presión arterial, etc), por medio del funcionamiento normal de sus sistemas y aparatos biológicos. Las constantes fisiológicas o el mantenimiento del ambiente interno son conservados a través del funcionamiento normal de los tejidos, y estos a su vez de las principales células que los constituyen; aún en condiciones de cambios externos (temperaturas extremas, lesiones traumáticas) e internos (dolor, infección) que perturben la homeostasis. En el mantenimiento de este equilibrio **físico y psicológico**, los mecanismos homeostáticos emplean una red de comunicaciones internas, con sensores capaces de identificar las desviaciones de los rangos normales, y efectores que compensan dichas desviaciones; todo esto por medio de mecanismos o sistemas de retroalimentación positiva o negativa.

La célula es la unidad básica estructural y funcional del cuerpo humano. Más de 100 billones de células, forman los diversos tejidos y órganos, los cuales a su vez constituyen aparatos y sistemas que integran el cuerpo humano. El funcionamiento de nuestro organismo es la resultante del funcionamiento coordinado de todo ese

universo pluricelular. Para la homeostasis del cuerpo humano, se requiere la regulación de una gran cantidad de complejas interacciones biológicas para mantener el balance dentro de un rango normal de variaciones dinámicas. Estas interacciones dentro del cuerpo, facilitan los cambios compensatorios que mantienen el funcionamiento biológico, físico y psicológico. Este proceso es esencial para la sobrevivencia de las personas. Así por ejemplo, el funcionamiento normal del hígado, riñones, cerebro, participan en el mantenimiento de la homeostasis. La incapacidad para mantener la homeostasis o desequilibrio homeostático puede conducir a condiciones de enfermedad o de muerte. Los intervencionismos médicos pueden ayudar a restaurar la homeostasis y prevenir daños permanentes a los órganos.

Algunos de los sistemas homeostáticos más evidentes en el cuerpo humano son la regulación de la temperatura corporal, el balance energético, la regulación de la presión arterial, el equilibrio ácido base, el volumen intra/extracelular, la oxigenación celular, la coagulación, el ritmo circadiano, etc. (Figura 3.1). Particularmente el funcionamiento homeostático de los diferentes aparatos, sistemas, órganos y tejidos está relacionado con la presencia de una suficiente masa crítica de células terminalmente diferenciadas y funcionalmente eficientes en cada tejido u órgano.

Los procesos celulares fundamentales más evidentes que realizan todas las células eucariotas son reproducción, renovación y control del crecimiento, nutrición y metabolismo, respuesta a estímulos, diferenciación, comunicación e interacciones con otras células, adhesión y movilidad, envejecimiento y muerte programada (Figura 3.2). Otros procesos celulares fundamentales menos evidentes son el funcionamiento de programas genómicos, de sistemas de autoregulación y

sobrevivencia, de los mecanismos de organización intracelular de organelos, de mecanismos de reparación del daño, de evolución, de señalización celular y de transducción de señales intracelulares, de especialización morfo/funcional, de mecanismos de tolerancia al daño, etc. Prácticamente todos estos procesos celulares se llevan a cabo simultáneamente en cada una de las células vivas.



Figura 3.1. Funciones básicas de las células procariotas y eucariotas

FF

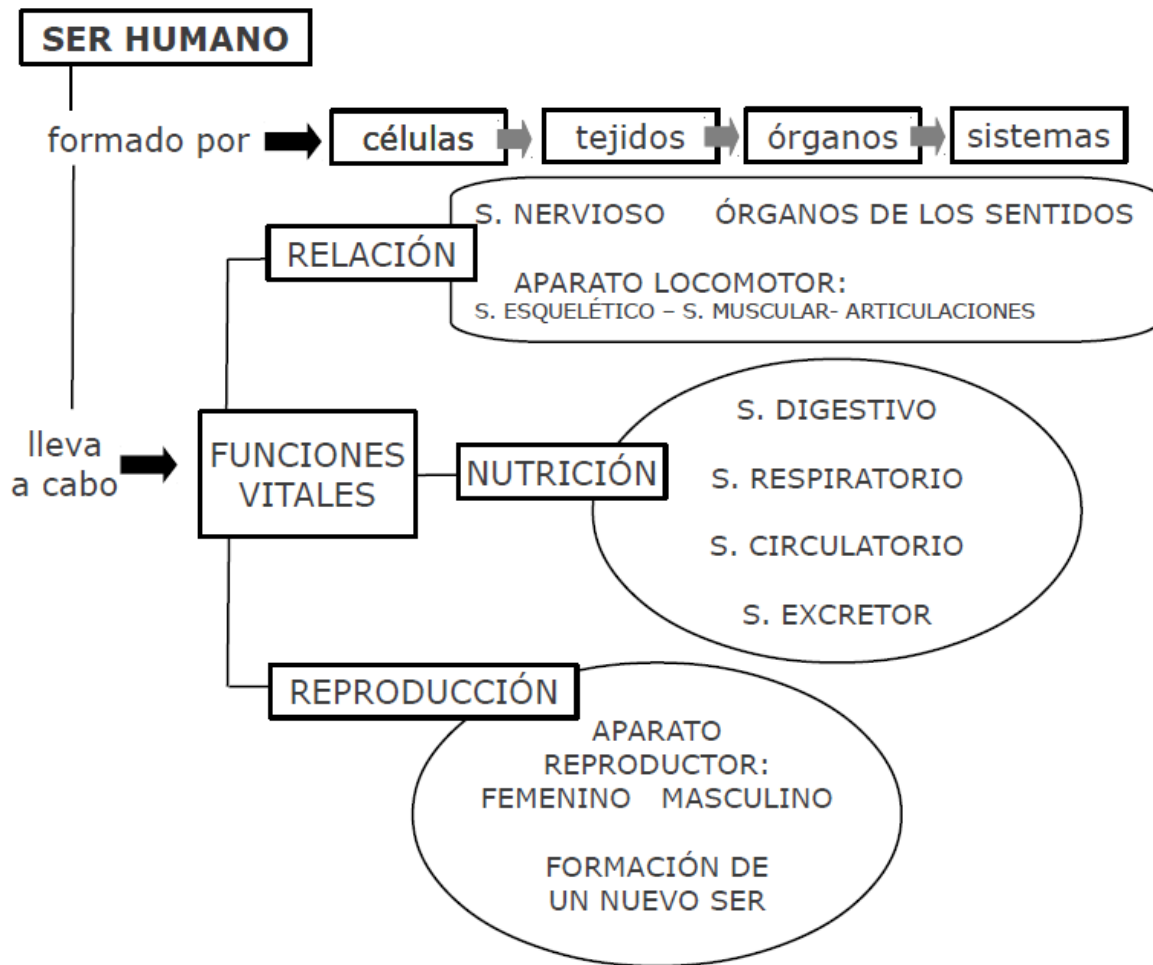


Figura 3.2. Principales funciones que realizan las diferentes células eucariotas en los organismos multicelulares

Referencias

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.

Golbabapour S, Abdulla MA, Hajrezaei M. A concise review on epigenetic regulation: insight into molecular mechanisms. Int J Mol Sci 2011;12:8661-8694.

Hancock JT. Cell signaling. 3th ed. Oxford University Press Inc. New York; 2010; p1-334.

Karp G. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. 6th Ed. New York: John

Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765.

Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Scott MP, Bretscher A, Ploegh H, Matsudaira P.
Molecular cell biology. 6th Ed. New York: W.H. Freeman & Co, 2008; p-1-1050.

Wang E. Cancer Systems Biology. CRC Press. London/New York; 2010: p1-149.

Capítulo 4

Los principios bioquímicos y moleculares intracelulares: de la estructura a la función.

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

Las proteínas son las principales moléculas funcionales dentro de la célula que realizan las actividades dirigidas por la información codificante de los genes. A excepción de algunos tipos de RNA, el resto de las moléculas biológicas corresponden a elementos inertes sobre los cuales las proteínas actúan. Las células están formadas por soluciones o mezclas de solutos en agua, los solutos corresponden a biomoléculas y el agua aproximadamente al 70% del peso total de la célula (Figura 4.1). Globalmente el peso seco de las células corresponde a las proteínas en más de 50%, RNA al 20% y DNA al 3%; la colección de proteínas expresadas en un tipo de célula particular se conoce como proteoma (Berg et al., 2008).

La principal característica de las proteínas catalíticas o enzimas que les permite realizar funciones específicas, es su capacidad de unirse estrechamente a sustratos únicos. La región de la proteína responsable de la interacción a otras moléculas, se denomina sitio de unión y corresponde frecuentemente a una depresión o hendidura de su superficie molecular. Esta unión proteína-sustrato es mediada por la conformación tridimensional de la proteína (estructura terciaria), y está relacionada

con la secuencia de los aminoácidos de esa región. La unión de la proteína-sustrato es extraordinariamente estrecha y específica y de elevada afinidad, se requieren cantidades de concentración de pico (10^{-12} M)-, femto (10^{-15} M)- o subfemtomolares ($<10^{-15}$ M); para eliminar o modificar la afinidad química específica de la proteína-sustrato, o de la presencia de pequeños cambios químicos como la adición de un simple grupo metilo ($-CH_3$) a la proteína (Abollo-Jimenez et al., 2010).

Las proteínas además de unirse a carbohidratos y lípidos, pueden unirse a otras proteínas, como si fueran pequeños sustratos (Figura 4.2). Eventualmente se pueden unir a una copia idéntica para formar dímeros, o a varias copias para formar oligómeros como en el caso de las proteínas fibrilares. El papel más evidente de las proteínas celulares es catalizar las diferentes reacciones bioquímicas, generalmente acelerándolas, este grupo de proteínas se denominan enzimas. Las enzimas por ejemplo catalizan las reacciones involucradas en el metabolismo relacionadas con el ciclo celular, y en la replicación, reparación y transcripción del DNA, entre otras. Algunas enzimas actúan sobre otras proteínas, agregando o retirando grupos químicos funcionales, condición globalmente conocida como modificaciones postranslacionales o postraduccionales; además pueden inducir cambios conformacionales. Más de 5000 reacciones bioquímicas celulares son catalizadas por las diferentes enzimas, logrando tiempos de reacción de milisegundos, sus tasas de aceleración comparativa entre una reacción catalizada con una no catalizada puede llegar a ser de 10^{17} vs 10^0 (Berg et al, 2008).

Las diferentes proteínas activas en las reacciones bioquímicas sufren de cambios postraslacionales intramoleculares; sin embargo para interactuar con diferentes sustratos/otras proteínas son modificadas de manera reversible por cambios como la

adición de grupos fosfato y acetil, frecuentemente en aminoácidos específicos de sus cadenas laterales. La adición de estos grupos químicos, regula la actividad de una proteína, al cambiar su configuración. Generalmente la fosforilación en ciertas regiones de dominios de una proteína (p.e. dominio SH2) que la activa funcionalmente, se lleva a cabo por enzimas denominadas proteína-cinasas o quinasas y su desactivación o desfosforilación por enzimas proteína-fosfatasas. La fosforilación implica la transferencia de un grupo fosfato de la molécula del ATP a una tirosina/serina/treonina de la cadena polipeptídica. En las células eucariotas, cientos de diferentes proteína-cinasas trabajan en complejas redes de vías de señalización para coordinar una o varias funciones celulares. Diferentes mapas de interacción de proteínas-proteínas han sido establecidos a partir de los marcadores químicos de su activación (p.e. fosforilación/desfosforilación) (Berg et al, 2008).

El funcionamiento celular se basa predominantemente en la participación de las enzimas como catalizadores biológicos. Las enzimas son los catalizadores más potentes y selectivos que se conocen. Todas las reacciones químicas que suceden dentro y fuera de las células en un organismo vivo tienen una velocidad de reacción, que corresponde a la formación de productos a partir de reactivos en un tiempo determinado, cuya factibilidad o constante de equilibrio se han determinado experimentalmente en condiciones controladas. La proporción entre reactivos y productos en el equilibrio, depende de niveles relativos de la energía libre y de los reactivos y productos, y es posible determinar el cambio de energía libre en una reacción química (termodinámicamente favorable, o no). Las enzimas aumentan la velocidad de la reacción hasta 10^{17} veces, lo cual permite lograr reacciones bioquímicas en milisegundos, particularmente al reducir la energía de activación

requerida para cada reacción química específica. Diferentes complejos multienzimáticos ayudan a incrementar la tasa de las diferentes redes de vías de señalización intracelulares correspondientes a las funciones celulares (Hancock, 2010).

Las enzimas corresponden a unidades proteicas globulares, constituidas por cientos o miles de aminoácidos, pero usualmente solo una pequeña fracción de estos residuos se enlazan con el sustrato, esta pequeña fracción corresponde en promedio a unos 3-5 aminoácidos. Las interacciones proteína-proteína son reguladas por la actividad enzimática, lo cual permite el ensamblaje de complejos proteicos, relacionados con reacciones bioquímicas enlazadas con las diferentes funciones biológicas. Las proteínas pueden estar unidas a la membrana o integrarse a ella, las cuales sufren modificaciones conformacionales por la unión de ligandos externos, estos cambios moleculares asimismo, inducen modificaciones en proteínas cercanas a la membrana, que a su vez, las transmiten con dirección al núcleo mediante otras proteínas intracitoplasmáticas; todo ello, permite la construcción de enormes complejos de redes de señalización molecular, o vías de señalización intracelulares. La mayoría de esta secuencia de reacciones es reversible y depende principalmente de la presencia de las diversas proteínas con función enzimática y con las proteínas que funcionan como sustrato; lo cual es específico en los distintos tipos de células y en los diferentes momentos biológicos celulares para ejecutar funciones celulares específicas (Alberts et al., 2008; Karp, 2010).

Muchas proteínas son activadas en las redes de señalización intracelulares y de traducción de señales. Uno de los ejemplos de señalamientos externos es la insulina, las células tienen receptores para insulina en su membrana, y en presencia del

ligando se une a proteínas intracitoplásmicas para modificar el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos.

Otros grupos de proteínas globulares funcionan de manera especializada en otras funciones intracelulares y extracelulares (organismos multicelulares). Así, los anticuerpos son componentes del sistema inmunológico adaptativo, los cuales se unen a antígenos o sustancias extrañas y los neutralizan o destruyen; algunas proteínas son transportadoras en la sangre de pequeñas moléculas como la hemoglobina, que transporta el oxígeno desde los pulmones a órganos distantes; o algunas proteínas transmembranales que constituyen canales iónicos selectivos para los iones potasio y sodio.

Diferentes tipos de receptores estimulan diferentes respuestas, porque típicamente responden solamente a su unión con un ligando específico, el cual propaga la señal a través del citoplasma y frecuentemente el destino final es la activación de un gen o un grupo de ellos. En las células eucariotas, la mayoría de las proteínas intracelulares son activadas por la interacción ligando/receptor, el cual posee actividad enzimática, ejemplos de esto son las tirosina-cinasas y las fosfatasas. Algunas de estas interacciones dependen de la liberación preliminar de pequeñas moléculas contenidas en reservorios subcelulares “segundos mensajeros”, como el AMP cíclico (cAMP), el IP_3 , iones de calcio y óxido nítrico (NO).

La activación génica y los cambios metabólicos son ejemplos de respuesta celular, secundarios a la estimulación extracelular, que implica los diferentes eventos en la traducción y transmisión de señalización molecular intracelulares (Figura 4.3). La activación en la expresión génica conduce a efectos celulares debidos a la

biosíntesis de proteínas participantes en vías moleculares o de proteínas activadoras o instigadoras de activación de otras diferentes proteínas, como diversos factores de transcripción que producen como resultado una cascada de señalamientos que activan a un gran número de genes; conduciendo ello, a eventos o funciones fisiológicas; o eventualmente en condiciones anormales a eventos o funciones patofisiológicas (Lodish et al., 2005) (Figura 4.4). El conjunto de genes que son activados en respuesta a un estímulo se denomina “programa o software genético”. Así, por ejemplo las células de mamíferos requieren para su división celular y sobrevivencia de factores de crecimiento, en ausencia de éstos, las células sufren de apoptosis.

Otras proteínas actúan como adaptadores facilitando las interacciones y coordinación de complejos proteicos de vías de señalización específicas (Hancock, 2010).

El inicio de los señalamientos moleculares celulares puede partir de la membrana o del citoplasma debido a que los receptores de ligandos externos se ubican como proteínas transmembranales o dentro del citoplasma (Figura 4.5). Ejemplos de receptores transmembranales son los receptores acoplados a proteínas G (receptores adrenérgicos y de quimocinas), y los receptores tirosina-cinasas (receptores de factores de crecimiento), los cuales inician cascadas de señalización intracitoplásmica, cinasas parecidas a integrinas (traducción de señales de los componentes de la matriz extracelular), y receptores parecidos a *toll* (participan en la respuesta inmunológica innata). Los receptores citoplasmáticos o nucleares corresponden a proteínas solubles en estas regiones, cuyos ligandos corresponden a señales químicas lipofílicas, como hormonas esteroideas y derivados de la vitamina

A y D. Algunas de las vías de señalización compartidas simultáneamente por diferentes procesos celulares son por ejemplo: la vía MAPK/ERK, y la vía dependiente del IP_3 /DAG. La vía MAPK/ERK acopla la respuesta celular de la unión de los factores de crecimiento a sus receptores en la membrana, es muy compleja e incluye muchos componentes; la activación de esta vía promueve la división celular y sus alteraciones participan en la carcinogénesis. En la vía del IP_3 /DAG, la fosfolipasa C (PLC) rompe el fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP₂) en diacilglicerol (DAG) e inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3), éste difunde en el citosol y se une a los receptores de IP_3 , los cuales activan los canales de calcio en el retículo endoplásmico, que dejan pasar el calcio al citoplasma. La concentración del calcio aumenta en el citoplasma, causando una cascada de reacciones químicas y por ende su activación. El calcio y el DAG juntos activan a la proteína-cinasa C (PKC), la cual fosforila a otras moléculas; los efectos de esta vía participan normalmente en la identificación de los sabores, y anormalmente en la depresión maníaca y en la promoción tumoral. El fenotipo funcional o estructural celular está determinado por el genotipo que funciona a través de los cambios transcripcionales genómicos y epigenómicos y por el funcionamiento de las vías de señalización proteómicos (Hancock, 2010).

Las interacciones biológicas entre las células, tejidos, órganos y sistemas/aparatos son actualmente analizadas a través del enfoque de la biología de sistemas (Figura 4.6). Aunque por más de un siglo el estudio de los eventos biológicos ha sido realizado con un enfoque reduccionista (análisis individualista de los eventos); en la última década su estudio se ha ampliado a través de un enfoque holístico o sistémico, en el cual se trata de analizar todos los cambios físico-químicos en

tiempos simultáneos que suceden los eventos biológicos, como por ejemplo las redes de señalización intracelulares que suceden en las fases del ciclo celular, junto con sus cambios metabólicos (Golbabapour et al., 2011). Este enfoque de estudio reciente ha requerido el uso de herramientas de investigación/identificación para el registro y análisis de numerosas determinaciones de indicadores moleculares. Ejemplos de estas técnicas de amplia cobertura son los patrones transcriptómicos, metabolómicos, proteómicos, etc., los cuales solo pueden ser analizados por software bioinformáticos especializados. El estudio de estos sistemas biológicos dinámicos pretende integrar una gran cantidad de datos que reflejan las condiciones celulares complejas como el funcionamiento de algunos procesos biológicos en condiciones normales y anormales, sus cambios fenotípicos de forma y función, sus alteraciones en condiciones de enfermedad, etc. Para estudiar los eventos biológicos celulares con un enfoque sistémico, los biólogos celulares y moleculares trabajan en colaboración con bioinformáticos (biólogos expertos en computación), matemáticos, expertos en computación, ingenieros, y con físicos.

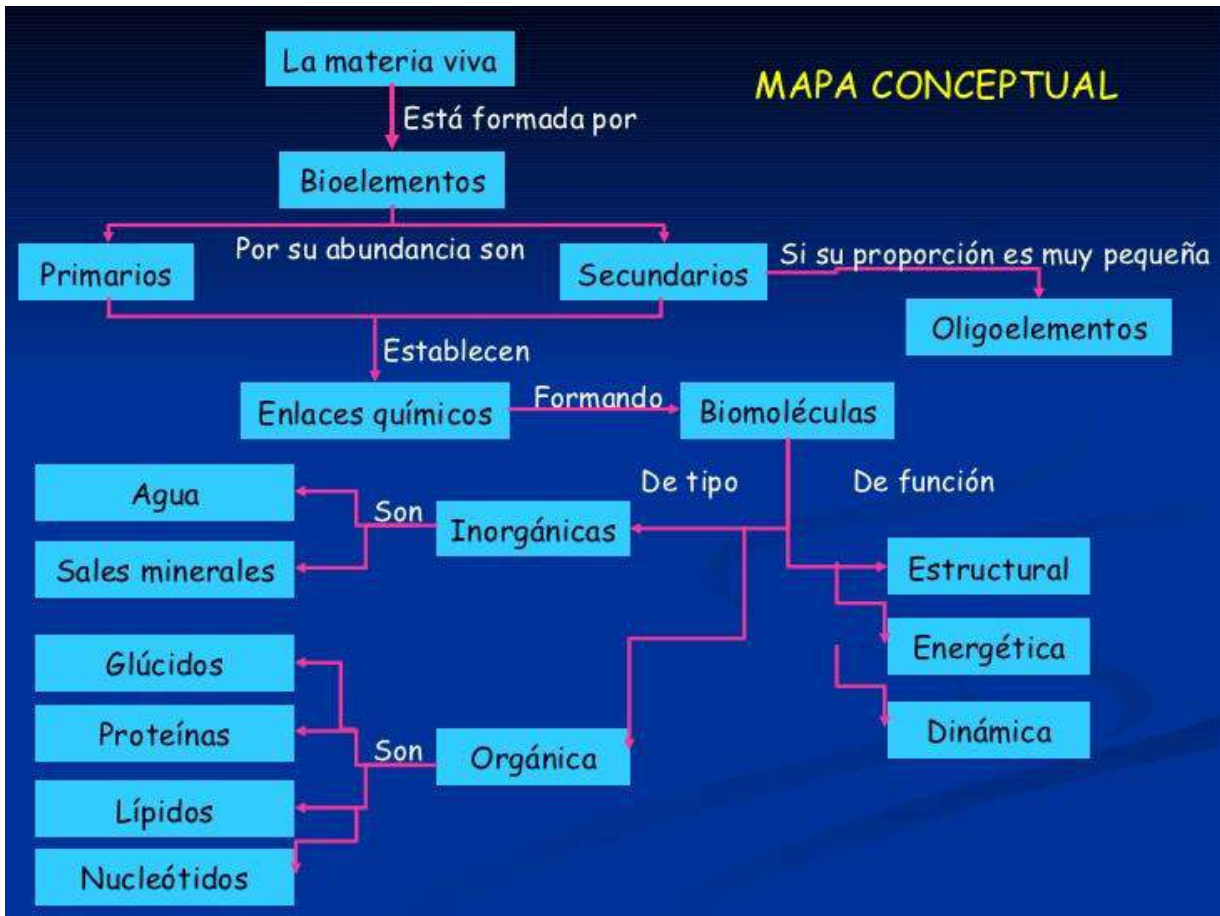


Figura 4.1. Principales compuestos bioquímicos que conforman las células humanas

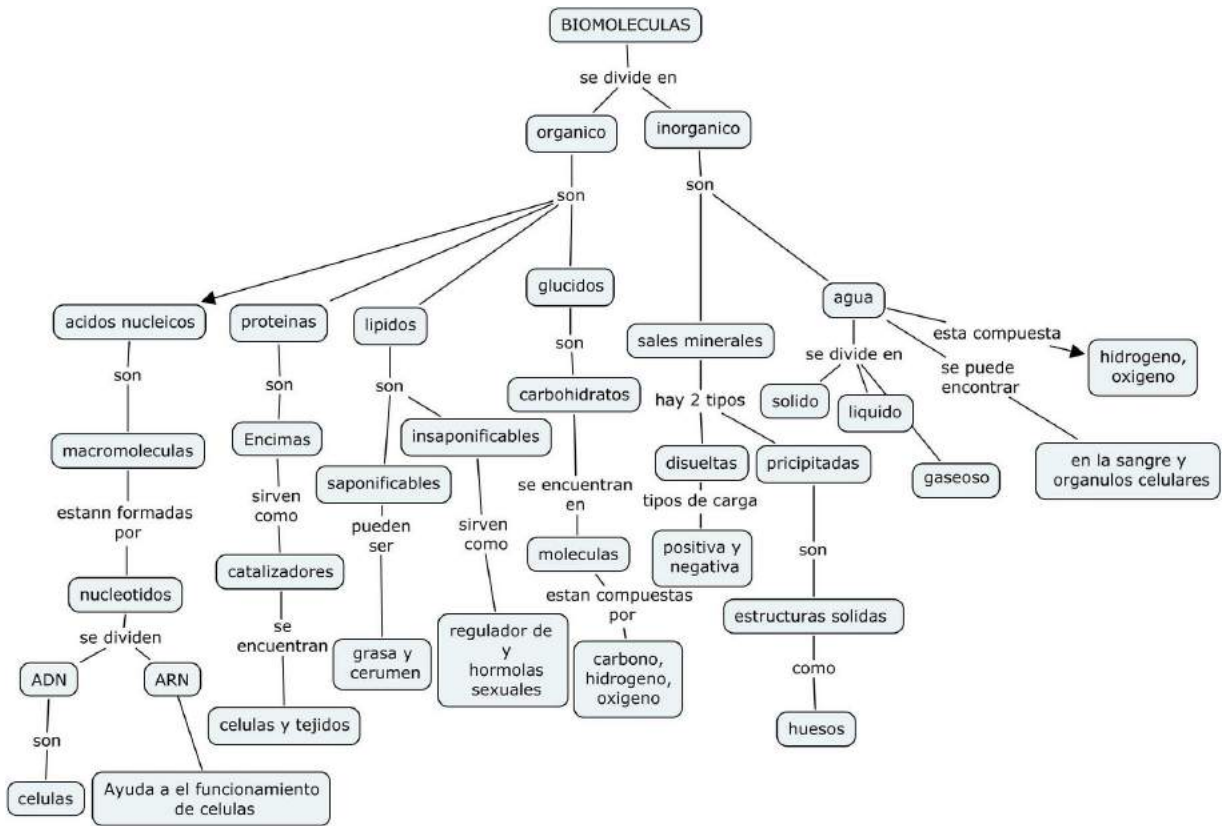


Figura 4.2. Diferentes biomoléculas son sintetizadas en las células procariotas y eucariotas, de ellas, las proteínas y los ácidos nucleicos son las más complejas.

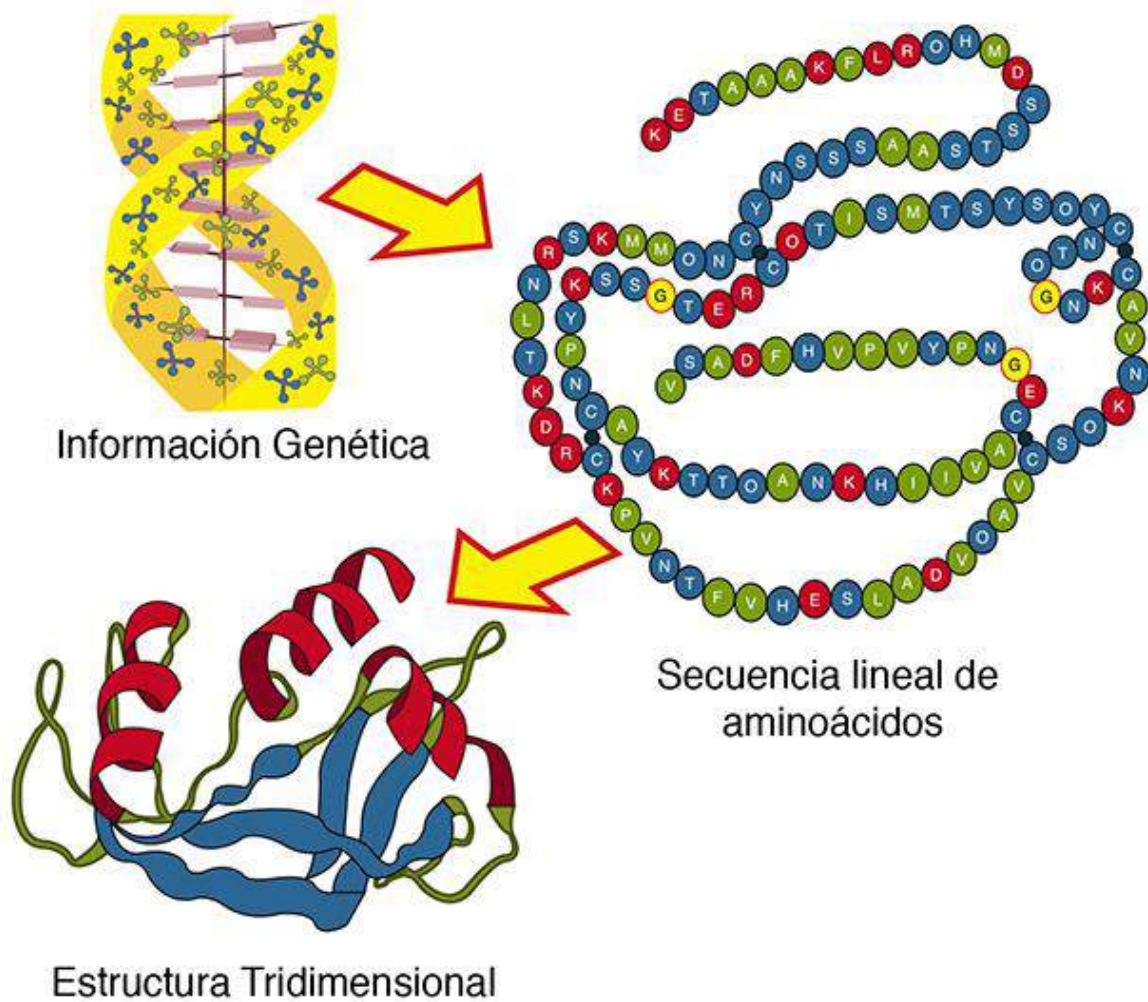


Figura 4.3. Esquema de la transcripción de un gen codificante de proteína, su estructura tridimensional se logra por el plegamiento conformacional de la cadena de aminoácidos. Disponible en Garza G. www.revista.unam.16-4.

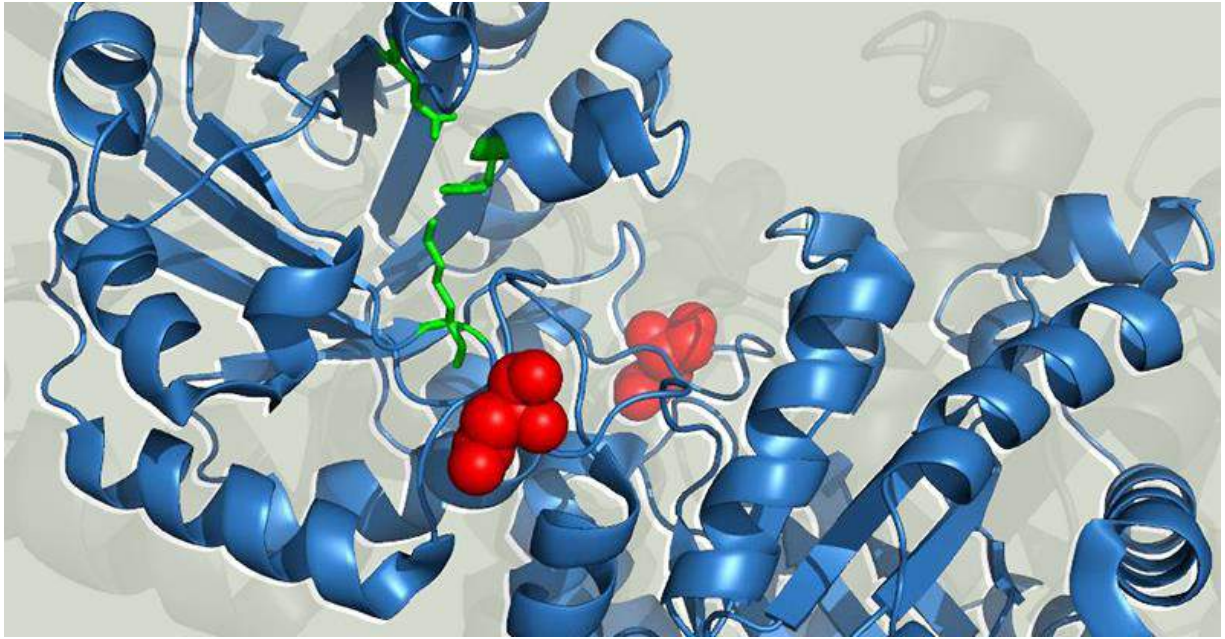
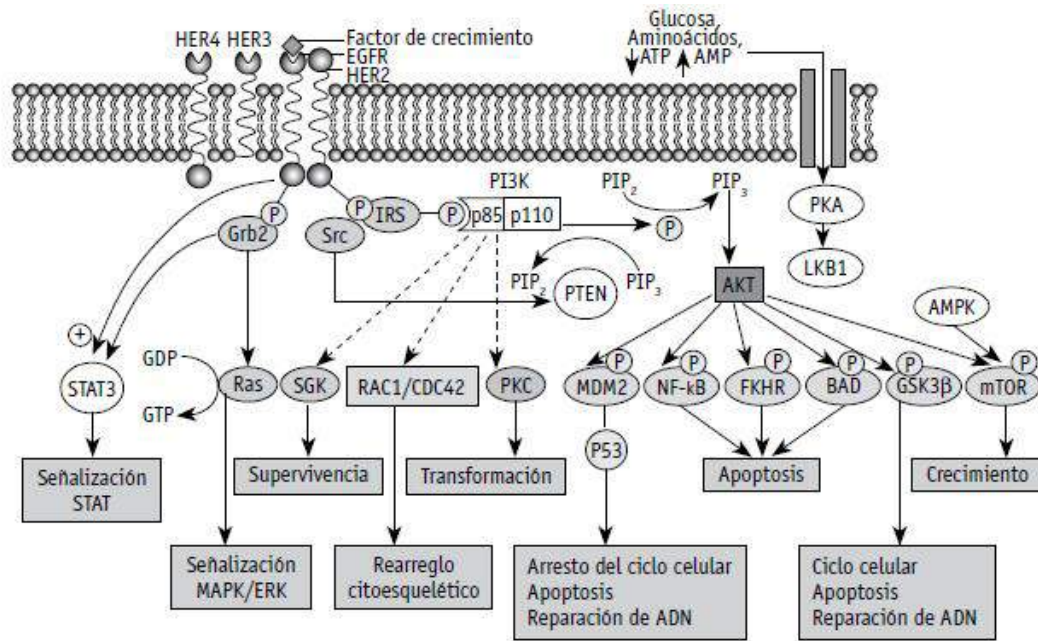


Figura 4.4. Estructura de la enzima triosafosfato isomerasa de conejo, que es un dímero (enzima que participa en la glucólisis. Los bucles separados por esferas (asparagina) corresponden a cada uno de los polipéptidos. Disponible en Garza G. www.revista.unam.16-4



Adaptado con permiso de Macmillan Publishers Ltd.: Exploiting the PI3K/Akt pathway for cancer drug discovery; Hennessy BT, Smith DL, Ram PT, Lu Y, Mills GB; Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery, Nature reviews, drug discovery. Vol 4, 988-1004; 2005.

Figura 4.5. Esquema de la vía de señalización intracelular de PI3K/Akt en células cancerosas.

Referencias

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Bioquímica. 6th ed. Reverté, 2008. Traducción de *Biochemistry*. New York: W.H. Freeman & Co, 2007; p1-1152.

Golbabapour S, Abdulla MA, Hajrezaei M. A concise review on epigenetic regulation: insight into molecular mechanisms. *Int J Mol Sci* 2011;12:8661-8694.

Hancock JT. Cell signaling. 3th ed. Oxford University Press Inc. New York; 2010; p1-334.

Karp G. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. 6th Ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765.

Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Scott MP, Bretscher A, Ploegh H, Matsudaira P. Molecular cell biology. 6th Ed. New York: W.H. Freeman & Co, 2008; p-1-1050.

Capítulo 5

Sistemas megacelulares. La estructuración de tejidos y órganos

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

Los tejidos corresponden a un nivel intermedio organizacional entre las células y los organismos completos. Un tejido corresponde al ensamblaje de células del mismo origen, no necesariamente idénticas, que realizan una función específica. Los órganos están formados por diferentes tejidos, los cuales realizan funciones particulares en beneficio del funcionamiento integral del organismo (Figura 5.1).

El estudio de los tejidos se conoce como histología, y su relación con la enfermedad, histopatología (Ross y Pawlina, 2011). La herramienta clásica para analizar los tejidos son los estudios histopatológicos, que consisten en fijar los tejidos, colocarlos en un bloque/cubo de parafina, realizar cortes micrométricos, teñirlos con colorantes y observarlos con el microscopio óptico (Figura 5.2). En las últimas décadas el estudio histopatológico clásico ha sido enriquecido por algunas variantes como el estudio de cortes de tejidos congelados, técnicas de inmunohistoquímica, y el estudio de cortes de tejido con el microscopio electrónico, que han aumentado el detalle o resolución observada en los tejidos. Con estas herramientas, la morfología e identificación molecular de algunos componentes celulares puede ser examinada en

los estados de salud y enfermedad, permitiendo aumentar la eficiencia del diagnóstico clínico y la identificación de biomarcadores de pronóstico (Alberts et al., 2008, De Vita et al., 2011).

Los tejidos animales pueden ser agrupados en cuatro tipos básicos: conectivo, muscular, nervioso y epitelial. Los tejidos epiteliales están formados por células que cubren las superficie externa (función protectora) de todo el organismo o de diferentes órganos en sus porciones intraluminales que mantienen contacto con el ambiente externo, como la piel, conductos aéreos, tracto urinario, reproductivo y digestivo. Las células epiteliales en los animales son derivados del ectodermo y del endodermo, mientras que las células endoteliales derivan del mesodermo. Los epitelios contienen una o varias capas formando una barrera permeable selectiva y se encuentran separados de otros tejidos por medio de una estructura laminar de la matriz extracelular (ECM), denominada lámina basal (Karp, 2010). Los tejidos conectivos generalmente están constituidos por la matriz extracelular, junto con células inmersas en ésta, y estructuran el esqueleto extracelular para darle forma y sostén a los diversos tejidos, ejemplos de ello son los tejidos óseo y cartilaginoso. El tejido muscular corresponde a un tejido contráctil, cuya función es el movimiento y locomoción del organismo o el movimiento de órganos internos; el tejido muscular presenta tres categorías: músculo esquelético, músculo liso o visceral y músculo cardiaco. Finalmente el tejido nervioso comprende al tejido del sistema nervioso central y el sistema nervioso periférico, su principal función es la integración y transmisión de los mensajes.

Los tejidos vegetales están organizados en tres tipos principales: el tejido epidérmico, el tejido vascular (xilema y floema), y el tejido de mantenimiento (células

menos diferenciadas que permiten el crecimiento). Los dos primeros corresponden a tejidos permanentes y el último al meristema. Las células de los tejidos meristemáticos pierden la capacidad de dividirse, realizan el proceso de diferenciación celular y posteriormente constituyen los tejidos permanentes, los cuales se clasifican en parénquima, colénquima, esclerénquima, epidermis, xilema y floema. Cada uno de estos tejidos vegetales, de manera similar a los animales, organizan estructuras morfofuncionales específicas.

Los tejidos son sistemas biológicos complejos constituidos por microambientes de matrices extracelulares (fibras de esqueleto tisular, distintos factores de crecimiento y de diferenciación, componentes bioquímicos semisolubles y biofísicos específicos), células del parenquima terminalmente diferenciadas, otras células en proceso de diferenciación, así como células *stem* unipotenciales, todas ellas predominantes del órgano específico, así mismo contienen diferentes tipos celulares estromales comunes a todos los tejidos (fibroblastos, células endoteliales, células de vigilancia inmunológica, etc.). Una nueva área denominada ingeniería tisular o ingeniería biológica o ingeniería biomédica emplea para la construcción de tejidos artificiales, todos los diferentes tipos de componentes celulares descritos, junto con las diversas condiciones biomiméticas (físico-químicas) parecidas de cada tipo de tejido (Badylak et al., 2012).

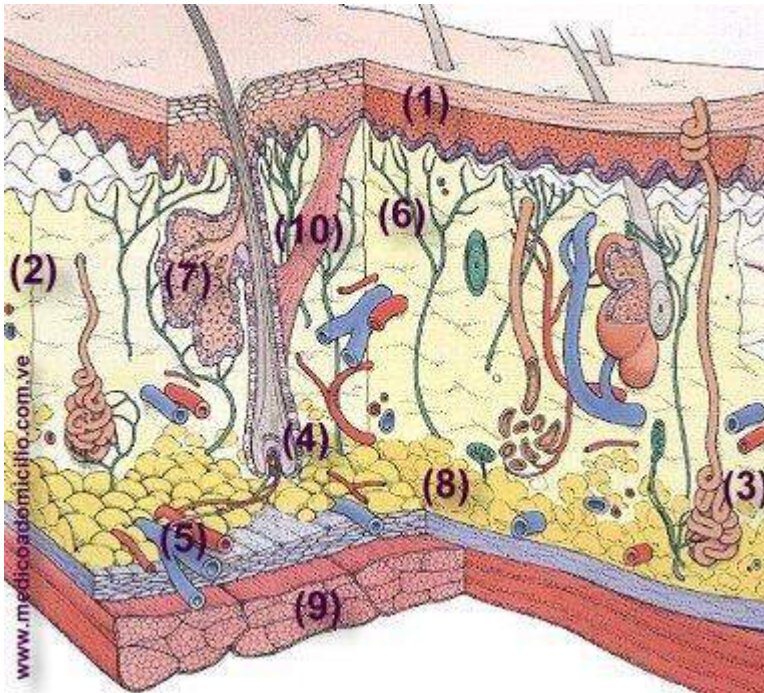


Figura 5.1 Esquema de los diferentes estratos de los tegumentos, tejidos celular subcutáneo y muscular. Tomado de Smith T. Atlas del cuerpo humano. Ed. Grijalbo. 1995.



Figura 5.2. Imagen microscópica de la piel humana formada por varios estratos celulares (100X). Hundin 2012, tuvidaesnuestra.blogspot.mx

Referencias

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.

Badylak SF, Weiss DJ, Caplan A, Macchiarini P. Engineered whole organs and complex tissues. Lancet 2012;379:943-951.

De Vita V T Jr, Lawrence T S, Rosenberg S A. Cancer. Principles & Practice of Oncology. 9th ed. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia; 2011;p1-2638.

Karp G. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. 6th Ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765.

Ross MH, Paelina W. Histology. A text and atlas with correlated cell and molecular biology. 6th Ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2011; p1-950.

Sección II- Viajando hacia el centro de las células

Capítulo 6

Vehículos y estrategias para la exploración de las células

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

De acuerdo al tamaño de las células de 7-30 micrómetros (μm) en su eje mayor, el estudio de la biología celular y molecular de las células eucariotas, dependen del desarrollo de instrumentos y tecnologías de nivel micro/nano/pico y femtométricos (Figura 6.1). La morfología y los compartimientos intracelulares pueden ser observados con el apoyo de diversos tipos de microscopios. Éstos, incluyen principalmente el microscopio óptico, el microscopio electrónico de transmisión, el microscopio electrónico de barrido, el microscopio de fluorescencia y el microscopio confocal.

El microscopio óptico (MO) contiene dos sistemas de lentes, el del objetivo y el del ocular, y una fuente de luz. La amplificación útil de este microscopio es de 500 a 1000 veces, y su límite de resolución es de $0.2 \mu\text{m}$ o 200 nm , que es suficiente para observar organelos celulares grandes como los núcleos y las mitocondrias. Los tejidos que se examinan con el MO, deben fijarse (formaldehído), colocarse en un material solidificable (parafina), cortarse en rebanadas (microtomo) y teñirse (frecuentemente hematoxilina y eosina). Mediante el MO podemos observar frotis

celulares o rebanadas de tejidos de 2-4 μm de grosor, pero como éstos son semi-translúcidos, se requiere teñirlos con algún colorante. La evaluación de las rebanadas de fragmentos de tejidos obtenidos se pueden emplear para diagnóstico médico, el cual es un procedimiento rutinario que se denomina genéricamente estudio histopatológico. El microscopio de contraste de fase hace más visibles tejidos transparentes.

Algunos MOs se integran con accesorios como videocámaras y procesadores de imágenes. El uso de videocámaras, imágenes electrónicas y procesamiento por computadora ha permitido en las últimas décadas el desarrollo del microscopio confocal de barrido láser, por el cual se obtienen imágenes de múltiples cortes submicrométricos de las rebanadas de 2-4 μm de grosor (Alberts et al., 2008).

Existen dos principales tipos de microscopios electrónicos (MEs), el de transmisión y el de barrido. Los ME de transmisión forman imágenes con los electrones que se transmiten a través de una muestra, mientras que los ME de barrido utilizan electrones que rebotan en la superficie de la muestra. Las imágenes examinadas con los diferentes tipos de ME pueden ser amplificadas hasta más de 200,000 veces. Los cortes de tejido para ser examinados en el ME de transmisión también son procesados como sucede con el MO, se emplea un fijador de tejidos (glutaraldehído y tetraóxido de osmio), se coloca en un material solidificable (resinas epóxicas), se cortan en rebanadas de 0.1 μm (ultramicrotomo) y se tiñen (soluciones de metales pesados); una alternativa para no fijar los tejidos es congelarlos con rapidez o criofijarlos, y se pueden fraccionar mediante criofractura. Por medio del ME de transmisión se examina la estructura interna de las células, mientras que con el ME

de barrido se examina las superficies de las células. El microscopio de fuerza atómica es un instrumento de barrido de alta resolución empleado en nanotecnología y biología molecular para observar estructuras nanométricas (Karp, 2011).

Cultivo celular. La clonación de las células a partir del cultivo de células fuera de un organismo es uno de los logros técnicos más valiosos en el estudio de la Biología Celular. La mayoría de los cultivos permiten crecer un solo tipo de células, y a partir de ellos se pueden obtener en grandes cantidades de células. Al contar con grandes cantidades de tipos específicos de células se pueden estudiar *in vitro*, muchas de sus funciones. Las células eucariotas requieren para su crecimiento *in vitro* una gran variedad de nutrimentos, hormonas, factores de crecimiento y cofactores; y a fin de prevenir la contaminación bacteriana, se deben tomar medidas estrictas para mantener condiciones estériles en el cultivo (Lodish et al., 2005). Las células cultivadas en los laboratorios, pueden ser obtenidas directamente de los tejidos de un organismo o de células previamente clonadas, cuyas características genéticas generalmente les permiten crecer por tiempo indefinido (células inmortales como las cancerosas), a este tipo de células se les conocen como líneas celulares. Muchas de las líneas celulares humanas suelen derivarse de tumores humanos (p.ej. células *HeLa*) o de células transformadas por virus o por sustancias carcinógenas (De Vita et al., 2011). Los sistemas de cultivo convencionales se denominan bidimensionales-2D, por que las células crecen sobre una superficie plana o una caja de cultivo, sin embargo, en los últimos años se pueden cultivar las células con sistemas tridimensionales-3D, los cuales contienen condiciones parecidas a las estructuras naturales de sus tejidos, como p.e. condiciones de vecindad con la matriz extracelular.

Fraccionamiento de los principales componentes contenidos en la célula mediante centrifugación diferencial. Todas las células contienen una variedad de organelos y suborganelos con tamaños y densidades diferentes. El aislamiento de los principales organelos y las principales macromoléculas se logra mediante la técnica de centrifugación diferencial, que depende del principio de que los organelos o partículas más densas, se desplazan hacia el fondo de un tubo centrifugado a distintas velocidades (10,000-75,000 revoluciones por minuto equivalentes a 70,000-500,000 veces la gravedad). El primer paso es la ruptura mecánica de las células con un homogeneizador mecánico, y luego esta suspensión celular se somete a centrifugaciones secuenciales cada vez con mayor fuerza centrífuga, obteniendo en cada ciclo de centrifugación, el sedimento correspondiente. Los organelos más grandes como los núcleos se sedimentan inicialmente, los relativamente grandes como mitocondrias, cloroplastos, lisosomas y peroxisomas después, y al final los suborganelos como microsomas (fragmentos de membrana vacuolados), y ribosomas.

Aislamiento, purificación y fraccionamiento de proteínas. Las células contienen miles a cientos de miles de proteínas diferentes, la purificación de una de ellas generalmente se realiza mediante la separación del resto. La purificación completa de una proteína determinada requiere el uso de técnicas sucesivas que aprovechan las diferentes propiedades biofísicoquímicas de las proteínas. Un primer paso es la precipitación de la proteína aprovechando las diferencias en la solubilidad (que dependen de sus dominios hidrófilos o hidrófobos de su superficie), el reactivo más utilizado para esto es el sulfato de amonio. Una vez que la proteína deseada se precipita se requiere separarla de las proteínas contaminantes. Esto se puede lograr

mediante cromatografía líquida en columna (HPLC). La cromatografía se designa a las técnicas en las que varias proteínas en solución se separan por medio de algún tipo de matriz porosa o de afinidad. El tipo de matriz porosa empleada depende directamente de las características de los componentes peptídicos que supuestamente componen la proteína de interés (Alberts et al., 2008; Karp, 2011). De acuerdo a ello, los principales tipos de cromatografías son de intercambio iónico, de filtración en gel, por afinidad, y de interacciones proteína-proteína. Cada una de ellas depende del establecimiento de enlaces iónicos de las proteínas con la matriz (p.e. celulosa con carga +), de la masa molecular (p.e. sephadex-G-150, que permite la entrada de proteínas globulares menores de 200 kDa), de afinidad de sus enlaces covalentes con una proteína receptora pegada a una cuenta de matriz inerte (agarosa) o su unión con un anticuerpo específico, respectivamente (Lodish et al., 2005).

Electroforesis en gel de poliacrilamida. Corresponde a una de las técnicas más clásicas para fraccionar proteínas, que depende de la capacidad de las moléculas cargadas para migrar cuando se colocan en un campo eléctrico. La separación electroforética de proteínas se realiza en geles de poliacrilamida (PAGE); la matriz gelatinosa se compone de polímeros de acrilamida. El movimiento relativo de las proteínas en un gel de PAGE depende de la densidad de carga (carga por unidad de masa) de las moléculas. Una variedad de esta técnica es la electroforesis bidimensional en gel, la cual permite analizar simultáneamente dos propiedades diferentes de las proteínas, su punto isoeléctrico y su masa molecular. Con esta técnica pueden identificarse más de mil proteínas diferentes (manchas o bandas); las

cuales pueden retirarse del gel, separarse de la matriz de poliacrilamida y analizarse mediante espectrometría de masas (Berg et al., 2008).

Espectrometría de masas. La espectrometría de masas (EM) es una de las técnicas analíticas emergentes de la proteómica en la cual se determinan y analizan la masa/comportamiento iónico de las moléculas. Los espectrómetros de masas realizan estas tareas mediante la conversión de sustancias de una muestra en iones gaseosos con cargas positivas, que se aceleran a través de un tubo hacia una placa con carga negativa. Para el análisis de proteínas, éstas se rompen con tripsina, y los péptidos resultantes se ionizan y se convierten en gases. Existen algunas variantes de la EM como la desorción ionizada asistida por matriz (MALDI) y la ionización de electroaerosol (ESI). La EM es una técnica potente para identificar una proteína específica dentro de una mezcla de cientos de otras proteínas, su aplicación requiere del uso de software bioinformáticos para analizar los aminoácidos de cada fragmento peptídico (Berg et al., 2008).

Cristalografía de rayos X. La cristalografía o difracción de rayos X permite identificar la estructura tridimensional de una o de un complejo de proteínas (p.ej. ribosomas), a resolución atómica. Una vez purificada la proteína, se cristaliza (repetición periódica de moléculas en tres dimensiones), se bombardea con un fino haz de rayos X y la dispersión o difracción es captada a través de una placa fotográfica. La mioglobina fue la primera proteína cuya estructura se identificó por difracción de rayos X. La combinación de los datos obtenidos con esta técnica junto con los de microscopía electrónica proporcionan información sobre las interacciones entre proteínas y sobre la estructura de complejos multisubunitarios (Alberts et al., 2008; Berg et al., 2008).

Existen una gran cantidad de software bioinformáticos que ayudan en el análisis integral de las proteínas.

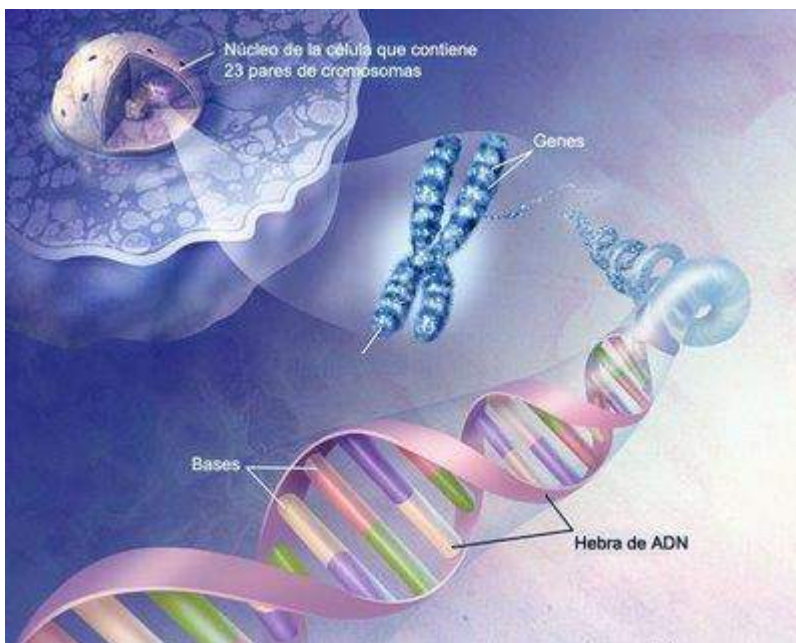


Figura 6.1. La célula corresponde a la unidad morfológica y funcional del estudio de los organismos vivos. Pelaez A. antoniopelaez.blogspot.mx 2012

Referencias

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Bioquímica. 6th ed. Reverté, 2008. Traducción de *Biochemistry*. New York: W.H. Freeman & Co, 2007; p1-1152.

De Vita V T Jr, Lawrence T S, Rosenberg S A. Cancer. Principles & Practice of Oncology. 9th ed. Wolters Kluwer/Lippincott Williams &Wilkins. Philadelphia; 2011;p1-2638.

Karp G. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. 6th Ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765.

Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Scott MP, Bretscher A, Ploegh H, Matsudaira P. Molecular cell biology.6th Ed. New York: W.H. Freeman & Co, 2008; p-1-1050.

Capítulo 7

Componentes solubles y no-solubles (estructurales). Identificación y manipulación de las biomoléculas

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

La bioquímica es el estudio de las diferentes sustancias químicas, biomoléculas, participantes en los procesos biológicos de los organismos vivos. La genética corresponde al estudio de los efectos de las diferencias genéticas en los organismos, particularmente compara los organismos *wild type* que presentan un genotipo/fenotipo normal, con organismos mutantes.

Una biomolécula o sustancia biogénica es cualquier molécula producida por un organismo vivo; incluyen una gran cantidad de moléculas grandes o poliméricas (muchos componentes) como proteínas, polisacáridos, lípidos y ácidos nucleicos; y moléculas pequeñas como metabolitos primarios y secundarios y productos naturales.

Las grandes biomoléculas o biopolímeros se encuentran constituidos por unidades individuales o bio-monómeros. Así, los polipéptidos o proteínas por policondensación de aminoácidos (unión peptídica); los polisacáridos por policondensación de monosacáridos (unión glicosídica); los politerpenos por poliadición de isoprenos, y los polinucleótidos por unión de puentes fosfodiéster de los nucleótidos. Particularmente los nucleótidos están formados por una ribosa, una nucleobase y tres grupos fosfato (Berg et al., 2008).

Los sacáridos, carbohidratos, o azúcares contienen un grupo aldehído (-OH intramolecular) o cetona (-OH en un extremo) en su estructura. Sus monómeros más comunes contienen de 5 o 6 carbonos, denominados pentosas (ribosa) y hexosas, como la glucosa, fructosa o galactosa. Cuando se unen estos dos monosacáridos, se forman los disacáridos como la sucrosa, maltosa y lactosa. Los polisacáridos mejor conocidos son el glucógeno, el almidón, la celulosa y la lignina.

Los lípidos corresponden principalmente a ácidos grasos, glicerolípidos, y esteroides, los primeros forman los bloques constitutivos principales de las membranas biológicas, y sirven de reservorio energético. La mayoría de los lípidos consisten en una porción hidrofílica (p.e. glicerol) y una porción hidrófoba (ácidos grasos). Los ácidos grasos están formados por una cadena no ramificada de átomos de carbono unidos por puentes de hidrógeno (saturados de hidrógeno) o adicionalmente por dobles enlaces entre los carbonos (insaturados de hidrógeno). Algunos lípidos más complejos corresponden a glucolípidos, fosfolípidos, esteroides, prostaglandinas, leucotrienos, etc. (Berg et al., 2008).

Las proteínas están formadas por cadenas grandes de numerosos aminoácidos, cada aminoácido contiene dos grupos amino, y carboxilo que participan en la

formación del enlace peptídico. La unión química entre los 20 diferentes aminoácidos biocelulares se realiza por enlaces peptídicos. Cada uno de los 20 aminoácidos contiene en su estructura grupos químicos distintos, los cuales les otorgan propiedades físico-químicas específicas, por lo que uno o dos aminoácidos predominantes en una proteína, le confieren características específicas relacionadas a su estructura tridimensional y carga eléctrica. La estructura integral de cada proteína es sumamente compleja, y se encuentra relacionada con el tipo y número de aminoácidos constitutivos, a sus atracciones intermoleculares, y a la influencia de otros diferentes componentes químicos que participan en su composición (p.e. cofactores, grupos prostéticos, coenzimas). Las proteínas intracelulares son generalmente biosintetizadas (traducción) y conjugadas (cambios postraduccionales) *in situ*, participan activamente en los procesos biológicos celulares y luego son degradadas (vida media funcional). Las proteínas corresponden a los obreros funcionales en las maquinarias de los procesos del trabajo biológico celular; y corresponden a las biomoléculas celulares más complejas y variadas (Alberts et al., 2008).

Las propiedades de las células y sus organelos son consecuencia directa de las actividades de las moléculas de las que están constituidas. Los átomos que conforman las moléculas se encuentran unidos por enlaces fuertes o covalentes y por enlaces débiles o no-covalentes. En los enlaces covalentes los átomos de C, O, N, S, P, e H comparten electrones (miden 0.15 nm de longitud), son más estables y su formación o ruptura, requiere o libera energía. Cuando se enlazan dos átomos desiguales, el núcleo de uno de ellos contiene mayor carga positiva y atrae con mayor fuerza a los electrones del otro átomo (enlace polar), y los hace hidrosolubles

o hidrofílicos. Los enlaces no-covalentes no dependen de electrones compartidos, sino de fuerzas de atracción entre átomos con carga contraria, miden de 0.25 a 0.35 nm de longitud, existen por lo menos cuatro tipos. Las moléculas que carecen de enlaces polarizados, se comportan como no polares o hidrófobos o insolubles al agua. El tipo de enlace entre los átomos determina la estructura de las moléculas. La mayoría de las macromoléculas producidas por la adición covalente de aminoácidos o nucleótidos, adquieren una conformación molecular tridimensional específica por atracciones débiles de sus componentes provocada por fuerzas no-covalentes, y esto último les permite establecer una posibilidad muy elevada de asociaciones bioquímicas con otras diferentes moléculas biológicas (Berg et al., 2008).

La proporción porcentual global de los compuestos bioquímicos que conforman una célula es de 70% de agua, 26% de macromoléculas (proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos), 1% de iones inorgánicos, 1% de azúcares y precursores, 1% de ácidos grasos y precursores 0.4% de aminoácidos y precursores, 0.4% de nucleótidos y precursores, y 0.2% de otras moléculas pequeñas. Los diferentes compuestos bioquímicos intra- y extracelulares se mantienen en solución acuosa. El agua, además de ser un excelente solvente, debido a sus propiedades estructurales, facilita el establecimiento de interacciones dinámicas entre muchos tipos de grupos químicos.

La química de la vida gira alrededor de la química del átomo de carbono. Los organismos vivos son autónomos y contienen sistemas bioquímicos propios; éstos contienen moléculas constituidas principalmente por carbono en configuraciones específicas dependientes de enlaces covalentes y no covalentes. Cada átomo de carbón es capaz de unirse con cuatro átomos, esta propiedad permite la formación

de grandes moléculas cuya columna central consiste en una cadena de átomos de carbono. La mayor parte de las moléculas biológicas contienen grupos funcionales que incluyen uno o más átomos electronegativos (convirtiéndolas en moléculas polares, hidrosolubles y reactivas). Los principales grupos de moléculas son los azúcares, lípidos, proteínas y polinucleótidos. Los azúcares corresponden a la fuente primaria de energía química; los lípidos a reservorio de energía y constituyen las membranas; las proteínas son las unidades funcionales moleculares del trabajo biológico, y los polinucleótidos participan como macromoléculas informacionales/respondedores y algunos de ellos en la transferencia de energía (Berg et al., 2008).

La formación de moléculas se debe a la unión de átomos por enlaces covalentes (los átomos comparten los electrones de su capa externa) y por enlaces no-covalentes (atracciones débiles, como enlaces iónicos, enlaces de hidrógeno y fuerzas de van der Waals). El agua es el solvente universal de las biomoléculas, ya que sus enlaces covalentes que conforman su molécula son muy polarizados, capaces de formar enlaces de hidrógeno con los iones y todas las moléculas orgánicas polares (hidrófilas). Todas las células contienen moléculas en solución acuosa; las sustancias que liberan iones hidrógenos son denominadas ácidas (débiles/fuertes), y aquellas que contienen escasos hidrogeniones y mayor cantidad de iones hidroxilo se denominan básicas. El pH o la acidez de una solución está definida por la cantidad de hidrogeniones que posee (Berg et al., 2008).

Biología molecular

La biología molecular es la rama de la biología que estudia las bases moleculares de la actividad biológica. En este campo se superponen las áreas de la bioquímica y de la genética, y se refiere principalmente al entendimiento de las interacciones del DNA, RNA, la biosíntesis, el funcionamiento e interrelaciones de las proteínas, y su regulación (Figura 7.1). La biología molecular analiza clásicamente los procesos de replicación, transcripción y traducción; y más recientemente también las áreas de proteómica y de las redes de señalización moleculares que controlan los diversos procesos celulares. La mayor cantidad de indicadores en los estudios con biología molecular son cuantitativos, por lo que en la última década su análisis es realizado mediante software computacionales específicos. Esta área de la ciencia de la computación en interfase con la biología molecular se denomina bioinformática. De manera similar la interfase de la biología molecular con los aspectos físicos, se denomina biofísica (Karp, 2011).

En los últimos años, el vocabulario de la biología ha incorporado recientes acepciones que contienen el sufijo “ómicas” (*omics*). En analogía de los términos **genoma**, que incluye los aspectos específicos de un **organismo**, los vocablos se integraron para denominar el campo de estudio de la **genómica** o *genomics*. Así han aparecido los términos *epigenomics* (estudio de la epigenómica), *metabolomics* (- de la metabolómica), *pharmacogenomics* (- de la farmacogenómica), *proteomics* (-de la proteómica), *transcriptomics* (- de la transcriptómica), *exomics* (- de la exómica), *glycomics* (- de la glicómica), *kinomics* (- de la cinámica), *metagenomics* (- de la metagenómica), etc (Ng y Surani, 2011). La proteómica se refiere al estudio de todas las proteínas expresadas en un momento dado, en condiciones específicas (Figura 7.2).

Técnicas empleadas en los estudios de biología molecular

Diversos procedimientos y tecnologías son actualmente utilizados en los estudios de biología molecular, algunos se encuentran en fase de desarrollo y otros ya han sido abandonados. La medicina molecular y las terapias génicas, investiga moléculas dirigidas a blancos moleculares participantes de las enfermedades.

La purificación, fraccionamiento, hibridación y síntesis de ácidos nucleicos. La obtención de los núcleos celulares ha sido descrita en el capítulo anterior; los núcleos son fracturados por medio de su exposición a un detergente, el SDS, el cual permite liberar el DNA. Este DNA contiene otros materiales “contaminantes” como RNA y proteínas. La cantidad de proteínas es proporcionalmente mayor al del DNA y estas se eliminan con una mezcla de un agente desnaturizante (fenol/cloroformo o su equivalente). De la mezcla de DNA/RNA, se puede purificar el DNA (empleando ribonucleasa para retirar el RNA), o RNA (empleando DNA-asa para eliminar el DNA). Otros métodos alternativos de purificación son: el uso de matrices de afinidad para atrapar a alguno de estos ácidos nucleicos. A semejanza de la electroforesis de proteínas, se puede separar el DNA/RNA a partir de electroforesis en gel de agarosa o de poliacrilamida, empleando como colorante el bromuro de etidio (Alberts et al., 2008).

La hibridación de ácidos nucleicos se basa en el principio de que dos moléculas de ácido nucleico de cadena sencilla con secuencia de bases complementarias pueden formar un híbrido de doble cadena. En muchos casos una de las cadenas del DNA/RNA colocado en un gel, debe de traspasarse empleando una membrana de transferencia (nitrocelulosa), la cual se incuba con sondas de DNA (o RNA) marcadas con un isótopo radiactivo; la hibridación se corrobora a través de

autorradiografía. Por otra parte la síntesis química de DNA/RNA es una tecnología de apoyo para muchos procedimientos, ésta se ha automatizado y la síntesis de oligonucleótidos se realiza mediante máquinas controladas por computadora conectadas a depósitos de reactivos. Se pueden ensamblar hasta 100 nucleótidos, a los cuales es posible incorporar moléculas marcadoras como biotina y fluoróforos (Berg et al., 2008).

Tecnologías para construir DNAs recombinantes. El avance más sobresaliente en el análisis de los genomas eucariotas comenzó cuando los biólogos moleculares construyeron moléculas de DNA-recombinante, que es un segmento grande de genoma al cual se le anexa otro segmento pequeño que codifica un polipéptido determinado. Ésto último fue logrado por el empleo de endonucleasas de restricción o enzimas de restricción, las cuales fueron aisladas de organismos procariotas y que reconocen más de 100 secuencias de 4-6 nucleótidos diferentes (que tienen simetría interna con la secuencia de la cadena complementaria o palíndromo), que las cortan de manera específica. El uso de las enzimas de restricción permite disecar el DNA del genoma humano, o de cualquier otro organismo, en un conjunto bien definido de fragmentos específicos. Una vez que el DNA de un individuo es cortado con una de estas enzimas, los fragmentos obtenidos pueden separarse por medio de electroforesis en gel. Algunas enzimas de restricción son *EcoRI*, *HindIII*, *HpaII*, etc. Los fragmentos de DNA de interés pueden recombinarse con otras moléculas de DNA de varias maneras. La recombinación de segmentos de DNA es el primer paso para la clonación de genes (Lodish et al., 2005).

Dos de las formas más comunes que permiten producir grandes cantidades de un segmento de DNA específico es insertar este segmento en un vector o vehículo para

transportalo a una célula hospedadora que presente elevado potencial de duplicación, para que posteriormente se obtengan elevadas cantidades del segmento de DNA , a partir de cada una de las células hospedadoras (fabricas de clonación de DNA). Los vectores contienen secuencias que les permiten replicarse dentro de la célula hospedadora. Los principales vectores son diversos plásmidos, o el virus bacteriano lambda, empleados en células bacterianas. Los plásmidos contienen sitios de replicación y sitios marcadores (p.e. genes que otorgan resistencia a un antibiótico). En un ejemplo típico de clonación de DNA con plásmidos bacterianos, el DNA se extrae de células humanas cortado con una enzima de restricción (p.ej. *EcoRI*), los fragmentos se unen al plásmido por medio de una DNA-ligasa, luego se incuban las células bacterianas bajo condiciones que capten los plásmidos del medio (solamente un pequeño porcentaje de las bacterias es competente para captar y retener el plásmido recombinante), enseguida se cultivan las células en presencia de antibiótico, creciendo solo las bacterias que han integrado a su maquinaria genómica los genes exógenos correspondientes a aquellos que codifican las proteínas de resistencia/segmento de DNA de interés. Tras alcanzar la amplificación deseada, se cosechan las células, se extrae el DNA total, el DNA del plásmido recombinante se separa, luego los segmentos de DNA de interés son aislados empleando la misma enzima de restricción que es utilizada en su formación. Este método puede también dirigirse para la producción de proteínas, con la diferencia de emplear células eucariotas (p.ej. de *D. melanogaster*), con las cuales se pueden obtener proteínas con modificaciones postraduccionales requeridas para su funcionamiento (Karp, 2011).

A menudo la clonación del DNA se usa para producir genotecas o bibliotecas de fragmentos de DNA clonados. Los segmentos de DNA mayores de 25 kb solo pueden insertarse en vectores grandes como los cromosomas artificiales de levaduras o los cromosomas artificiales bacterianos. Asimismo otra variedad de clonación del DNA genómico es la clonación del cDNA, que corresponde a la información de RNA mensajeros, y dicha plantilla es tratada con la enzima transcriptasa inversa, la cual forma una población de híbridos DNA-RNA, y finalmente con RNA-asa que elimina al RNA para formar cDNA bicatenario (Berg et al., 2008).

Clonación de un gen para su expresión. Una de las técnicas básicas para estudiar la función de una determinada proteína es clonar o amplificar su gen para que exprese elevadas cantidades de dicha proteína. La clonación, es obtener copias semejantes de moléculas, células u organismos. Con esta técnica el DNA que codifica a la proteína de interés es clonado a través de insertarlo en un pequeño conjunto de células, las cuales en un segundo paso son expandidas en cultivo, y finalmente el DNA clonado es obtenido bajo algún proceso de purificación. Esta técnica implica diversos pasos y principios, emplea amplificación y selección del segmento del DNA por medio de PCR y corte con enzimas de restricción (endonucleasas), el pegado del mencionado segmento del DNA a un vehículo genético (plásmido o virus) para ser introducido a las células que posteriormente crecerán por medio de cultivo celular. Las principales células empleadas para este fin, son bacterias o células animales; en las primeras la introducción del DNA exógeno y su expresión (transformación) es relativamente fácil, en cambio su introducción en las células eucariotas requiere modificar las condiciones físicas o químicas de la membrana celular por cambios

específicos de permeabilidad, como electroporación, transfección con liposomas, transfección con fosfato de calcio, etc. La integración del DNA-plásmido en las células en proceso de amplificación puede colocarse en el genoma nuclear (transfección estable o permanente), o fuera de él (transfección transitoria). En cualquiera de los casos la proteína será expresada permanente o transitoriamente, respectivamente; con lo cual grandes cantidades de la proteína de interés pueden ser extraídas de las células transfectadas expandidas. Por medio de la transfección, un material genético extraño (principalmente DNA) puede ser introducido artificialmente a las células. Si este DNA extraño no se integra al DNA del genoma, el efecto es transitorio, pero si lo hace, la expresión del gen extraño es persistente o estable (Berg et al., 2008).

Reacción en cadena de la polimerasa. Esta técnica denominada brevemente PCR es extremadamente versátil para amplificar o clonar copias de segmentos de DNA (contenidos en un gen específico). La PCR permite que una secuencia de DNA única sea copiada millones de veces. Esta técnica se ha empleado en estudios de investigación desde hace más de 25 años y presenta muchas subvariedades, como la PCR de transcripción reversa, para la amplificación del RNA (RT-PCR) y más recientemente la PCR en tiempo real, por medio de la cual se miden el número de moléculas amplificadas de DNA y RNA. Generalmente estos son identificados gruesamente por medio de sus pesos moleculares comparándolos con patrones pre-establecidos de fragmentos de DNA. Los diferentes fragmentos de DNA o RNA amplificados son colocados en geles de agarosa inmersos en soluciones electrolíticas, y su desplazamiento es favorecido por el empleo de un campo eléctrico, el conjunto de esta instrumentación se denomina comúnmente

identificación DNA en geles de electroforesis. Por tanto, los fragmentos de DNA y RNA son separados de acuerdo a la cantidad de nucleótidos en geles de agarosa; mientras que las proteínas son separadas de acuerdo a la cantidad de aminoácidos y a su carga neta en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) (Alberts et al., 2008; Lodish et al., 2005).

Identificación de moléculas específicas mediante sondas. Sondas moleculares específicas pueden identificar secuencias de DNA dentro de un gran conjunto de segmentos de DNA a partir del principio de unión o complementariedad de las bases que conforman los monómeros del DNA: A-T y C-G. Una sonda de identificación para un segmento del DNA conocido, se puede diseñar empleando el código de complementariedad anotado, junto con un marcador o etiqueta físico-químico, como un radioisótopo, un fluorocromo, etc. Por ejemplo el segmento de DNA amplificado e identificado en el gel de electroforesis puede ser transferido a una membrana, por medio del principio de capilaridad y luego agregarle la sonda construida y con ello se puede determinar si hibrida o no. Estos principios se emplean para identificar segmentos de RNA, con lo cual se puede identificar en que tiempo y bajo que condiciones, diferentes células expresan sus genes. Principios parecidos se llevan a cabo en la identificación de proteínas, sin embargo la complementariedad se realiza mediante la adición de anticuerpos específicos previamente establecidos; los cuales son marcados por unión a otras proteínas indicadoras para ser identificados, por ejemplo, por medio de cambios colorimétricos, quimioluminiscencia o autoradiografías. Cada una de las tres técnicas descritas en la identificación de macromoléculas es denominada *Southern blotting* para el DNA, *Northern blotting* para el RNA, y *Western blotting* para la identificación de proteínas. Más

recientemente la *Eastern blotting* que detecta las modificaciones postraduccionales o postraslacionales de las proteínas (Hancock, 2010).

Microarreglos, *microarrays* o *biochips* de DNA. En los últimos años los principios de la PCR que habitualmente exploran la identificación de un solo segmento génico, se han aplicado para identificar en un mismo experimento, centenas o miles de segmentos diferentes de DNA, por que se denominan ensayos de amplia cobertura y logran explorar con un enfoque sistémico una gran cantidad de eventos génicos normales y modificados en un mismo evento experimental (Figura 7.3). Ello ha permitido explorar simultáneamente casi todo el genoma de un organismo en una sola determinación experimental. Los microarreglos de DNA se basan en la colocación en una lámina microscópica una sustancia sólida (sílice) que contiene multicompartimientos nanométricos en los cuales se depositan sondas de oligonucleótidos de secuencias específicas de DNA (picomoles), para valorar su hibridación a semejanza de la técnica de *Southern blotting*. Los actuales chips de DNA logran explorar hasta casi un millón de eventos. Una variación de esta tecnología, permite la determinación de la expresión génica del mRNA a semejanza del *Northern blot*, en el cual el RNA es inicialmente convertido en cDNA, y luego éste último es hibridado con la sonda complementaria e identificado por un compuesto-etiqueta químico incluido. Los microarreglos de RNA son empleados para comparar el perfil génico de dos poblaciones relacionadas, como las células cancerosas y sus correspondientes células sanas. En semejanza a la técnica de *western blotting*, los microarreglos de proteínas emplean anticuerpos específicos como moléculas identificadoras. Otra subvariedad de los microarreglos de DNA es el empleo de sondas alelo-específicas. Cada uno de nuestros genes contiene en el genoma dos

copias génicas o alelos. La técnica de detección con oligonucleótidos alelo-específicos permite identificar mutaciones de una base, e identificar su patrón de metilación (Berg et al., 2008).

Secuenciación de la cadena del DNA. En la última década, el proceso de secuenciación del DNA se efectúa por medio de una serie de procedimientos automatizados que incluyen métodos moleculares para la secuenciación basados en el uso de enzimas de restricción (endonucleasas que cortan en sitios específicos el DNA), tecnologías de clonación, automatización de la PCR, el uso de dideoxidonucleótidos (ddNTP), electroforesis en gel en capilares, junto con software para análisis de datos. Recientemente los secuenciadores de segunda y tercera generación, identifican los nucleótidos en tiempo real mientras la polimerasa los incorpora, no se requiere amplificar el DNA previamente, e identifican los nucleótidos a través de su paso por un nanoporo; dicha tecnología es menos costosa y más rápida (Ng y Surani, 2011).

Un tipo de microarreglo de DNA que compite con la técnica de secuenciación del DNA son los microarreglos que determinan polimorfismos de nucleótidos individuales (SNPs), los cuales determinan variaciones de secuencias de DNA (oligonucleótidos que los hibridan) que se presentan en el genoma entre los miembros de una especie biológica, incluso entre los dos alelos de un gen. Los SNPs son variaciones genéticas individualizadas y la determinación de algunos de ellos se han asociado a fenotipos de riesgo al desarrollo de enfermedades o de respuesta a los tratamientos, con lo cual en humanos, ha permitido iniciar la plataforma del concepto de medicina personalizada. Recientemente el número de dbSNPs explorados en humanos es del orden de 180 millones, y pueden ser aplicados como herramienta diagnóstica. Los

datos obtenidos por los estudios con biochips o mediante secuenciación del DNA son analizados necesariamente por medio de software bioinformáticos específicos (Figura 7.1).

En los últimos años han sido desarrollados diferentes combinaciones de tecnologías de biología molecular junto con nuevos marcadores epigenéticos, como la inmunoprecipitación de la cromatina, combinada con microarreglos de DNA (ChIP-chip), la inmunoprecipitación de DNA metilado combinada con microarreglos de DNA (MEDIP-chip) y la secuenciación del DNA tratado con bisulfito para determinar su patrón de metilación (The ENCODE Project Consortium, 2012)

Combinación de técnicas de biología molecular con técnicas de biología celular en el estudio integral celular

Transferencia de genes a células eucariotas y a embriones de mamífero. Los genes pueden introducirse a las células eucariotas, para que transcriban y traduzcan. En este proceso se emplean sistemas mediados por virus u otros sistemas. La transferencia de genes mediada por virus se conoce como transducción, dependiendo del virus que se utilice, el gen exógeno se expresa en forma transitoria o permanente (retrovirus modificados). La transferencia de genes puede realizarse introduciendo DNA desnudo, denominado transfección. Ésta puede realizarse modificando la permeabilidad de la membrana celular con sustancias químicas (empleando fosfato de calcio o DEAE-dextrano), o mediante electroporación, en la cual se aplica un pulso eléctrico breve; otro tipo de transfección es la lipofección, donde el DNA se combina con lípidos de carga positiva (liposomas catiónicos)

capaces de fusionarse con la bicapa lipídica de la membrana. Otra opción es microinyectar directamente al núcleo, el DNA exógeno (Berg et al., 2008).

La utilización de transferencia de los genes con estos sistemas en oocitos de ratón recién fertilizados o en otros organismos, permite la generación de animales transgénicos (Chin et al., 2009). Los animales o plantas que se modifican mediante ingeniería genética corresponden a este grupo. En el aspecto práctico los animales, plantas o células *stem* transgénicas constituyen un mecanismo para crear modelos de enfermedades, para la realización de estudios experimentales.

Valoración de la función de los genes eucariotas por su eliminación o desactivación.

Los fenotipos celulares normales corresponden a la función normal de los genes, en cambio los fenotipos celulares anormales corresponden a función anormal de los genes y productos. Se conoce la estructura de muchos genes, y sin embargo su función se desconoce; por ello en las últimas décadas se ha desarrollado la genética inversa, que es el proceso de identificación del fenotipo y exploración del efecto de los genes participantes. Para ello se pueden provocar mutaciones y bloqueos totales o parciales de la expresión de genes específicos.

El procedimiento clásico para mutar *in vitro* un gen es la mutagénesis dirigida a un sitio, éste permite modificar una secuencia de DNA, como la sustitución de una base por otra. Posteriormente se han logrado generar ratones genéticamente modificados, con eliminación de un gen (*knockout*) o con su inserción (*knockin*), que son el resultado de una serie sucesiva de procedimientos experimentales: aislamiento de células primordiales embrionarias (totipotenciales), transfección/eliminación de un gen exógeno mutante, las células que captan el DNA

son implantadas en hembras adultas, que se desarrollan para formar el embrión/feto, obtención y verificación de los ratones quiméricos recién nacidos. Los ratones con bloqueo/adición génica representan una estrategia laboriosa y costosa, por lo que en los últimos años se han empleado otras alternativas experimentales menos complejas como la interferencia del RNAm (efecto *knockdown*) por medio de desactivar la expresión génica con RNA pequeños (aproximadamente fragmentos de 20 nucleótidos). La degradación del RNAm por microRNAs corresponde a uno de los mecanismos fisiológicos de regulación de la expresión génica en células eucariotas, identificados en los últimos años. La aplicación de la interferencia del RNA lleva pocos años en la investigación de las ciencias de la naturaleza, y se considera que representa un estrategia terapéutica potencial contra diversos estados patofisiológicos de múltiples enfermedades (Golbabapour et al., 2011).

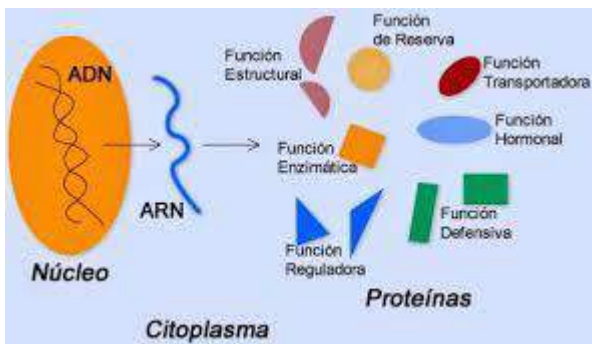


Figura 7.1 Esquema del blanco de estudio molecular en las células humanas. Turing A. Elsevier store. deproteins.com 2015

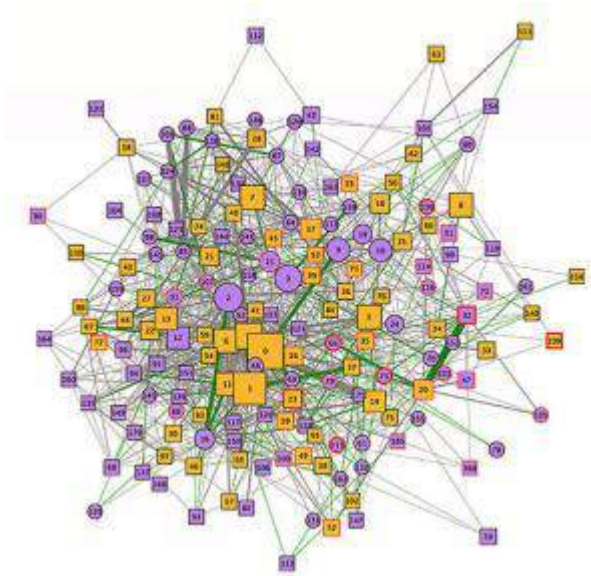


Figura 7.2 Panorama de la red de proteínas-proteínas en la Enfermedad de Alzheimer, en ella interactúan más de 200 proteínas. Tomado de Lopez M et al. Investigación y Ciencia. 2011.48

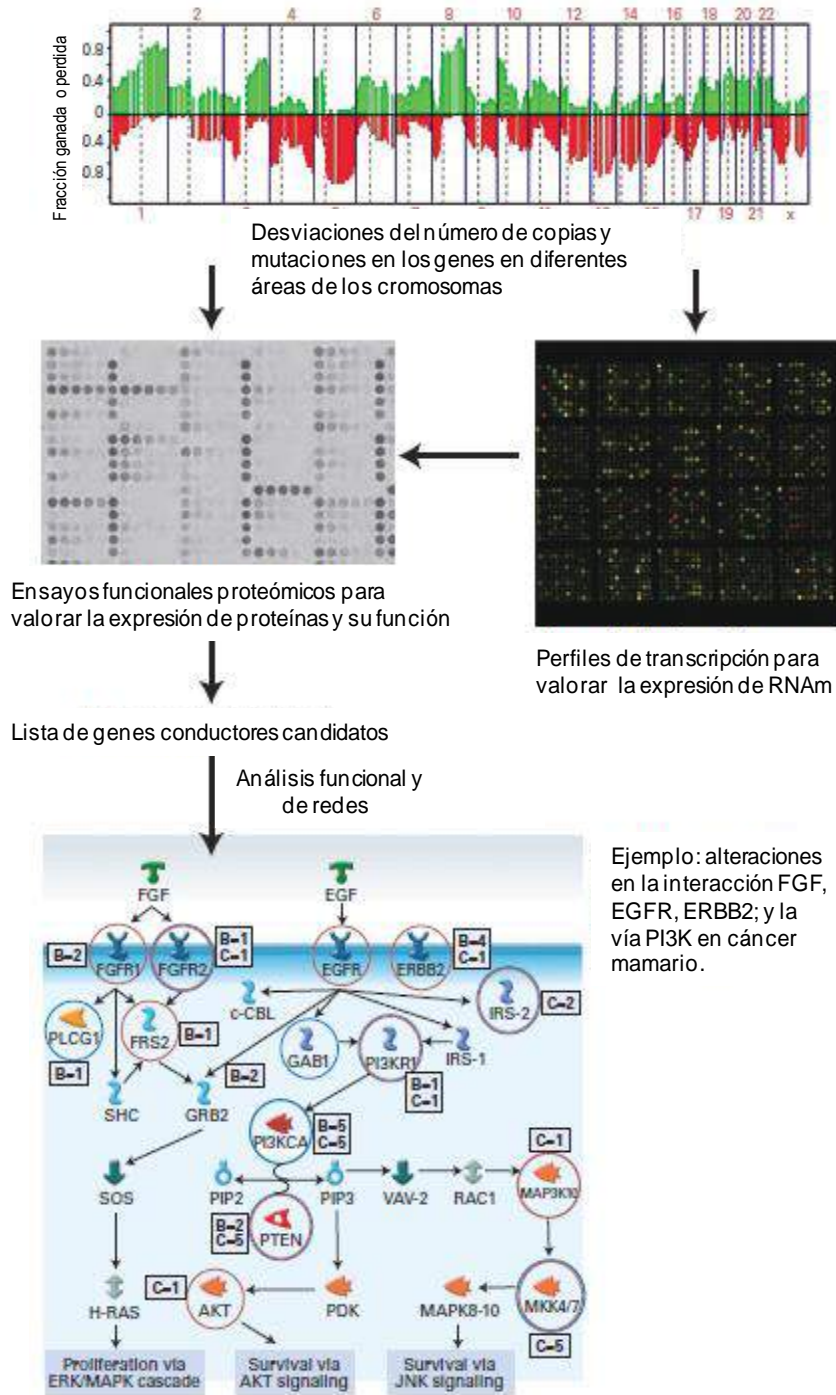


Figura 7.3 Estudio sistematizado que integra los datos genómicos y proteómicos funcionales del tumor para identificar racionalmente las estrategias de tratamiento en un caso de paciente con carcinoma mamario. En la parte superior se identifican las desviaciones de los genes relacionadas al número de copias y de su secuencia. En la parte inferior se identifica un diagrama de las principales redes de vías de señalamiento intracelulares frecuentemente alteradas en este tipo de cáncer.

Referencias

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Bioquímica. 6th ed. Reverté, 2008. Traducción de *Biochemistry*. New York: W.H. Freeman & Co, 2007; p1-1152.

Bernstein BE, Meissner A, Lander ES. The mammalian epigenome. *Cell* 2007;128:669-681.

Chin MH, Mason MJ, Xie W, et al. Induced pluripotent *stem* cells and embryonic *stem* cells are distinguished by gene expression signatures. *Cell Stem Cell* 2009;5:111-123.

Golbabapour S, Abdulla MA, Hajrezaei M. A concise review on epigenetic regulation: insight into molecular mechanisms. *Int J Mol Sci* 2011,12:8661-8694.

Hancock JT. Cell signaling. 3th ed. Oxford University Press Inc. New York; 2010; p1-334.

Karp G. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. 6th Ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765.

Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Scott MP, Bretscher A, Ploegh H, Matsudaira P. Molecular cell biology. 6th Ed. New York: W.H. Freeman & Co, 2008; p-1-1050.

Ng HH, Surani MA. The transcriptional and signaling networks of pluripotency. *Nat Cel Biol* 2011;13:490-496.

The ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 2012;489:57-72.

Capítulo 8

Membrana celular, organelos y suborganelos

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

Parecido a lo que sucede en el cuerpo humano que contiene muchos órganos diferentes, los cuales realizan diferentes funciones, la célula contiene pequeños órganos llamados organelos que realizan las diferentes funciones celulares relacionadas entre sí, y con la membrana plasmática. Las células procariotas contienen primitivos organelos o pro-organelos, mientras que las eucariotas contienen eu-organelos, los cuales son generalmente más complejos y sus compartimientos se limitan por una o dos membranas. Existen diversos organelos en la célula eucariota, algunos de ellos son únicos, como el núcleo y el aparato de Golgi, y otros pueden ser muy numerosos (cientos a miles) como las mitocondrias, peroxisomas y lisosomas. El citosol es la matriz citoplásmica donde se encuentran inmersos la mayoría de los organelos.

El citoplasma de la célula está envuelto por una membrana, adicionalmente en las células vegetales y en la mayoría de las procariotas se encuentra cubierta por una pared. La membrana celular sirve para separar y proteger a la célula del ambiente que la rodea y está constituida predominantemente por una capa doble de fosfolípidos. Dentro de esta doble capa de lípidos, se insertan una gran variedad de

proteínas que actúan como canales y bombas para movilizar diferentes moléculas hacia dentro y fuera de la célula. La membrana celular es semipermeable a la mayoría de las sustancias que viajan a través de ella. Además también contiene proteínas que funcionan como receptores, por medio de los cuales las células detectan señales moleculares externas como hormonas (Lodish et al., 2005).

Las membranas celulares o plasmáticas están constituidas por una bicapa de lípidos y complejos multiproteicos que participan en funciones específicas. Cada capa de lípidos contiene en su espesor millones de moléculas de distribución vertical constituidas por cadenas de ácidos grasos (hidrófobos) en su porción interna transmembranal y grupos polares como fosfatos o azúcares (hidrófilos); estas moléculas por contener doble grupo químico funcional, se denominan anfipáticas. Las proteínas de la membrana son globulares, forman pequeñas unidades moleculares funcionales, y por su ubicación en la membrana, pueden ser integrales o ancladas a la membrana. Muchas proteínas integrales tienen sitios en su superficie externa o interna que actúan con ligandos extracelulares o con proteínas intracitoplásmicas vecinas a la membrana (p.e. citoesqueleto). Este conjunto de proteínas interviene en las vías de traducción de señales intracitoplasmáticas (Hancock, 2010).

La membrana plasmática es una barrera con permeabilidad selectiva al paso de solutos, a través de mecanismos como difusión simple por la bicapa lipídica o por difusión facilitada y transporte activo a través de conductos constituidos por complejos proteicos especializados (Figura 8.1). Los pequeños solutos como el O_2 , CO_2 y el H_2O , junto con solutos con alta solubilidad en lípidos penetran con facilidad la capa; en cambio los iones y solutos orgánicos polares como azúcares y

aminoácidos, requieren ser conducidos por transportadores proteínicos especiales para entrar o salir de la célula. El agua se desplaza a través de la membrana celular por cambios de concentración del soluto o presión osmótica. La difusión facilitada o el transporte activo implican que las proteínas integrales de la membrana reciban una señal externa, se combinen de manera específica con el soluto a transportar (cambio conformacional de la proteína), requieren aporte de energía para su activación, y movilizan iones y solutos contra un gradiente de concentración. El sistema fisiológico celular de transporte activo del gradiente electroquímico mantiene en las células nerviosas y musculares un potencial de reposo de -70mV (interior negativo) que en condiciones de activación, correspondiente a la fase de despolarización cambia en fracciones de segundo a $+40\text{mV}$ (entra sodio al interior) (Alberts et al., 2008).

Algunas proteínas de la membrana celular funcionan como receptores para señales externas a ligandos específicos o como muestrario de material bioquímico estructural propio o extraño, formando complejos antígeno-receptor). Dentro de este último grupo, se encuentran las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), las cuales transportan y presentan fragmentos de proteínas propias o extrañas en la superficie de una célula a los linfocitos, que son células vigilantes pertenecientes al sistema inmunológico, los que distinguen entre lo propio y lo ajeno. Todas las proteínas intracelulares al envejecer son degradadas por los proteosomas en fragmentos peptídicos de 8-10 o 10-15 aminoácidos los cuales son presentados en la superficie de la membrana celular por las moléculas del MHC clase I y clase II, respectivamente para ser evaluados por los linfocitos T, los cuales los reconocen como marcadores propios. En cambio, cuando una célula es infectada, las proteínas codificadas por el microorganismo sufren el mismo proceso de presentación, dichos

fragmentos peptídicos no-propios son presentados en la superficie celular por las moléculas MHC, y los linfocitos T los reconocen como extraños, iniciando su activación para generar una respuesta inmunológica adaptativa (Karp, 2011).

El núcleo celular (solo en eucariotas) es un centro de información y control de la mayoría de las funciones celulares; es el organelo mas sobresaliente, alberga al DNA, cromosomas y cromatina, y participa en la replicación del DNA y en la transcripción del RNA (copia efectora del DNA). El núcleo es esférico y está separado del citoplasma por una membrana de doble capa denominada envoltura nuclear, la cual aísla y protege al DNA de moléculas que lo podrían dañar accidentalmente o interferir en su mecanismo de acción fisiológica. Durante su funcionamiento, el DNA es transcrito o copiado para constituir el RNA mensajero (mRNA). Este mRNA es luego transportado fuera del núcleo, donde es traducido en una molécula de proteína específica. El nucléolo es una región especializada dentro del núcleo donde son ensambladas las subunidades de los ribosomas. En las células procariotas el funcionamiento integral del DNA se lleva a cabo en el citoplasma.

El núcleo de una célula eucariota es una estructura compleja limitada por la envoltura nuclear, que controla el intercambio de materiales entre el núcleo y el citoplasma, particularmente por complejos de proteínas localizados en los poros nucleares. Generalmente las proteínas que residen en el núcleo contienen un grupo de aminoácidos denominados señales de localización nuclear; el transporte de las moléculas a través de la membrana nuclear corresponde a un proceso especializado de difusión facilitada (Karp, 2011).

Los cromosomas del núcleo contienen un complejo de DNA y proteínas histonas que forman los filamentos nucleoproteínicos, cuya estructura básica es el nucleosoma, el cual está estructurado por cuatro pares de histonas rodeadas por casi dos lazadas de DNA. Las modificaciones covalentes de los aminoácidos de las colas de las histonas, como metilación, acetilación y fosforilación, modifican el estado de compactación de la cromatina y su regulación transcripcional. Los cromosomas mitóticos representan el estado más compactado de la cromatina. Fuera de la etapa de la mitosis, en la interfase la cromatina permanece en estado compactado o heterocromatina, la cual puede ser constitutiva o facultativa (puede desenrollarse) y en estado no-compactado o eucromatina (Alberts et al., 2008).

Las mitocondrias y cloroplastos solo se encuentran en células eucariotas, y funcionan como generadores de energía bioquímica. Las mitocondrias son organelos grandes, formados por una membrana externa porosa y una membrana interna muy impermeable, formada por pliegues que contienen la maquinaria molecular de la respiración aeróbica. Las mitocondrias son organelos que pueden autoreplicarse, y se presentan en números y tamaños diferentes. La mitocondria es el centro del metabolismo oxidativo en la célula y convierte los productos del catabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas en unidades de energía química almacenada en ATP. La mitocondria genera la energía bioquímica de la célula a través de la fosforilación oxidativa, empleando oxígeno para liberar ATP a partir de la energía intrínseca de los nutrientes celulares (preferentemente glucosa). La mitocondria contiene un genoma circular, que corresponde a una cadena de DNA, la cual codifica 13 proteínas, a tRNAs y a RNA-no codificantes involucrados en la producción de la energía (Alberts et al., 2008).

El retículo endoplásmico (ER) (solo en eucariotas) corresponde a una red de conductos, cisternas y vesículas cerca del núcleo, en la cual diferentes moléculas son sintetizadas, modificadas o marcadas bioquímicamente para indicar su destino y su actividad biológica. El ER presenta dos compartimientos, ER-rugoso, que contiene ribosomas en su superficie y secreta proteínas hacia el citoplasma, y el ER-liso, el cual carece de ribosomas y participa en la retención y liberación del ión calcio (particularmente en sarcoplasma de las células musculares). La adición de azúcares a las proteínas (modificaciones postraduccionales) se inicia en el ER y continúa en el aparato de Golgi. La mayor parte de los lípidos de las membranas celulares son también sintetizados en la cara citosólica del ER.

El aparato de Golgi (solo en eucariotas) (Figura 8.2) corresponde a una segunda red de conductos vecinos al ER y cercana a la membrana citoplasmática, que funciona empaquetando las macromoléculas como proteínas y lípidos para ser secretados por las células. El aparato de Golgi es como una oficina postal; reciben las proteínas del ER, las empaquetan, las marcan para luego enviarlas a su destino (diferentes subcompartimientos intracelulares o a la membrana para ser transportados fuera de ella). Entre el ER y el aparato de Golgi se mantiene un flujo semi-constante de proteínas a través de vesículas cubiertas con señales de direccionamiento a diferentes compartimientos, entre los cuales pueden ser al núcleo, a las mitocondrias y a los lisosomas (Karp, 2011). Las vesículas que se desprenden de un compartimiento donador poseen secuencias de proteínas específicas en su membrana que son reconocidas en el compartimiento receptor. En algunas células especializadas el transporte de proteínas se realiza por medio de vesículas cubiertas

a través de rutas pre-establecidas de filamentos del citoesqueleto, como en los axones de las neuronas.

Los lisosomas son organelos que contienen hidrolasas ácidas capaces de degradar cualquier tipo de macromolécula biológica. Pueden degradar bacterias y detritos que llegan a la célula por fagocitosis u organelos citoplásmicos viejos o deteriorados, mediante un proceso llamado autofagia. También pueden digerir macromoléculas extracelulares obtenidas por fagocitosis y endocitosis mediada por receptores de la membrana celular.

Pequeñas y medianas estructuras intracitoplásmicas

El citoesqueleto actúa para estructurar y mantener la forma de la célula, ancla los organelos y ayuda a colocar a las macromoléculas en sus compartimientos, interactúa amplia e íntimamente con la membrana celular, participa en los procesos de endocitosis tomando los materiales externos, participa en la citocinesis o separación de las células al terminar la división celular, y en la movilidad celular. El citoesqueleto eucariótico está compuesto por proteínas organizadas en microfilamentos, filamentos intermedios y microtúbulos (Abelere et al., 1996). Existen una gran cantidad de proteínas asociadas a éstos, que controlan su estructura al direccionar, alinear y agrupar los filamentos.

Los microfilamentos están constituidos por polímeros de actina que se unen a moléculas de miosina formando unidades contráctiles, su activación es controlada por un grupo de proteínas pequeñas que se unen a GTP. Los filamentos de actina (8nm de diámetro) están formados por un polímero helicoidal doble de la proteína actina y participa funcionalmente en todos los tipos de contractilidad y motilidad celular. Los filamentos intermedios miden en promedio 10 nanómetros y

dependiendo del tipo celular pueden estar formados por vimentinas, queratinas, lamininas o neurofilamentos; todos ellos funcionan como vigas intracelulares. A diferencia de los microtúbulos, los filamentos intermedios están formados por bloques de construcción asimétrica, resisten fuerzas de tensión alta y son poco solubles. Los microtúbulos son polímeros dinámicos, cilindros huecos de 23 nanómetros que se ensamblan de las proteínas tubulina alfa/beta, asociados a dineínas y kinesina, participan en el transporte intracelular, y forman el huso mitótico. Algunas células eucariontas presentan cilios, los cuales se componen de un conjunto de microtúbulos. Los cilios participan en la locomoción celular y en los procesos de quimiosensación, mecanosensación y termosensación. Los cilios pueden ser vistos como antenas sensoriales de la célula, los cuales coordinan una gran cantidad de vías de señalización intracelulares, que intervienen en la motilidad, división celular y diferenciación (Lodish et al., 2005). Otras células eucariotas pueden moverse empleando cilios móviles o flagelos, los cuales estructuralmente son más complejos que los pertenecientes a las células procariotas.

Los ribosomas son unidades compuestas por dos subunidades que actúan como unidades de ensamblaje para sintetizar proteínas a partir de sus unidades monoméricas, los aminoácidos. Los ribosomas son unidades complejas de RNA y proteínas, los cuales se pueden encontrar flotando libremente en el citosol o mantenerse unidos a la membrana del ER o a la membrana citoplásmica (en procariotas).

Lisosomas y peroxisomas (solo en eucariotas) (Figura 8.2). Los lisosomas contienen enzimas hidrolíticas (hidrolasas), las cuales digieren diferentes sustratos

intracelulares como organelos (autofagia), partículas de alimentos o virus y bacterias fagocitados. Los peroxisomas contienen enzimas que eliminan los compuestos peróxidos tóxicos (Karp, 2011).

Centrosomas (solo en eucariotas). El centrosoma corresponde a un centro organizador del huso mitótico; cada centrosoma está compuesto por dos centriolos que organizan el huso mitótico a través de la polimerización de microtúbulos y permiten la división celular simétrica o asimétrica.

Las vacuolas engloban alimentos o desechos celulares, son observadas como espacios llenos de material soluble rodeado de membrana endoplásmica. Las vacuolas de las células eucariotas son generalmente de mayor tamaño en las células vegetales.

Algunas células presentan estructuras no membranosas por fuera de la membrana citoplásmica, las cuales generalmente le otorgan funciones de protección. Muchos tipos de células procariotas y eucariotas presentan pared celular, la cual las protege de cambios mecánicos y químicos ambientales. La pared celular está constituida predominantemente en las células vegetales de pectina, en las células fúngicas de quitina y en las bacterias de peptidoglicanos. Por otra parte, las bacterias pueden presentar además de membrana citoplásmica y pared, una cápsula gelatinosa constituida por polisacáridos, polipéptidos, y/o ácido hialurónico (Iozzo, 2005).

Los flagelos son organelos empleados en la movilidad celular comúnmente encontrados en células bacterianas, aunque ocasionalmente en células animales.

Los pilis son delgados filamentos externos responsables del anclaje de las bacterias

en receptores de células animales y están involucrados en el proceso de la conjugación (pilis sexuales) (Alberts et al., 2008).

Las diferentes proteínas biosintetizadas al interior de las células presentan una actividad funcional variable en su duración, de minutos-horas o días y posteriormente son degradadas por los proteosomas. Las proteínas o polipéptidos incorporadas a las células por endocitosis cursan con similares procesos y son degradadas por los lisosomas.

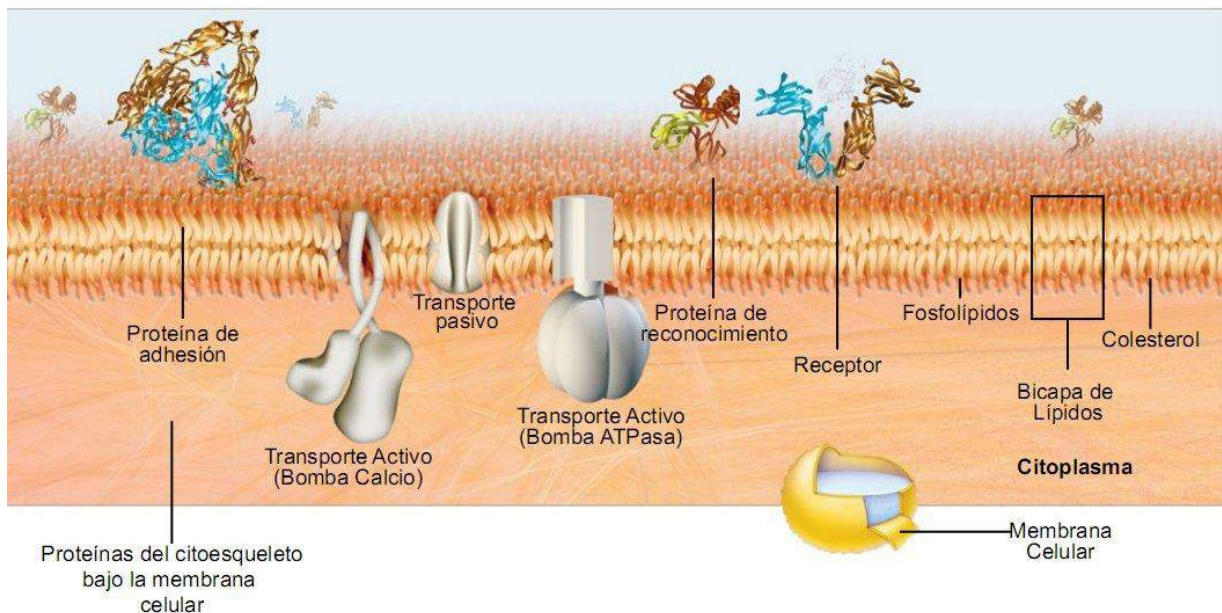


Figura 8.1. Modelo de un corte transversal de la membrana celular humana. Disponible en Muñoz A et al.. membranapl. blogspot.mx 2011

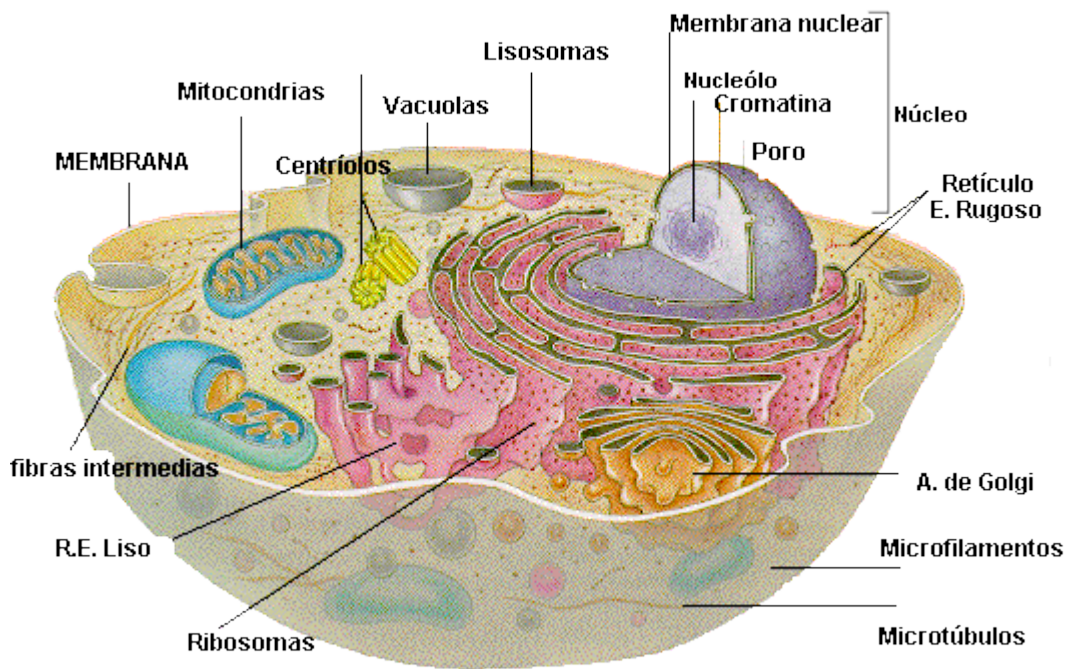


Figura 8.2 Modelo de una célula humana, donde se muestran sus principales organelos. Disponible en Ignacioheras.jimdo.com

Referencias

Aberle H et al. Cadherin-catenin complex: protein interactions and their implications for cadherin function. *J Cell Biochem* 1996;61:514-523.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. *Molecular biology of the cell*. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Bioquímica*. 6th ed. Reverté, 2008. Traducción de *Biochemistry*. New York: W.H. Freeman & Co, 2007; p1-1152.

Hancock JT. Cell signaling. 3th ed.Oxford University Press Inc. New York; 2010; p1-334.

Iozzo RV. Basement membrane proteoglycans: from cellular to ceiling. Nat Rev Mol Cell Biol 2005;6:646-656.

Karp G. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. 6th Ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765.

Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Scott MP, Bretscher A, Ploegh H, Matsudaira P. Molecular cell biology.6th Ed. New York: W.H. Freeman & Co, 2008; p-1-1050.

Capítulo 9

Frontera celular o matriz extracelular

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

La matriz extracelular (ECM) corresponde a la parte inmediatamente externa ubicada en la vecindad de cada una de las células, en la que se identifican dos elementos, el medio intersticial contiguo denominado matriz intersticial y el medio intersticial menos cercano que incluye proteínas fibrosas del tejido conectivo, la membrana basal y otros múltiples componentes del tejido conectivo (Figura 9.1).

Diferentes geles de polisacáridos y algunas proteínas fibrosas llenan el espacio intersticial y actúan como amortiguadores mecánicos y bioquímicos. Las membranas celulares basales o dentro de los tejidos se anclan con las fibras de la ECM (p.e. estratos epiteliales y endoteliales). Muchos conjuntos de fibras elásticas y algunos tipos de fibras colágenas conforman un esqueleto extracelular, que aloja el tejido conectivo compuesto por proteoglicanos, glicoproteínas, diferentes proteínas fibrosas y diferentes células como fibroblastos, macrófagos, capilares, terminaciones nerviosas, etc.

Debido a la gran diversidad de los componentes contenidos en la ECM, ésta participa en muchas funciones como proveedor de sustancias, como regulador de la

comunicación intercelular, como unidad estructural facilitadora de la colocación de las células, etc. (Figura 9.2). La ECM le permite un comportamiento dinámico a las células que rodea, ya que participa como un depósito de diferentes mediadores bioquímicos como por ejemplo, diferentes factores de crecimiento, que pueden ser liberados cuando diversas modificaciones en la actividad de proteasas locales permiten su liberación. Esto permite que las células puedan ser activadas rápidamente por estos factores de crecimiento, al no requerir su síntesis *de novo*. La formación de la ECM es esencial en los procesos fisiológicos de crecimiento tisular y reparación de heridas, y en algunos procesos patofisiológicos como la invasión y metástasis tumorales.

Los principales componentes moleculares de la ECM son producidos por sus células residentes, o secretados por células distantes, y se ubican dentro de una malla de proteínas fibrosas. Corresponden a polímeros de carbohidratos conjugados (p.e. unidos a proteínas, denominados proteoglicanos); los proteoglicanos son compuestos con carga negativa neta que atraen a moléculas con carga positiva, éstos atrapan y almacenan factores de crecimiento. Los diferentes proteoglicanos de la EMC son los sulfatos de heparán, de condroitina y de keratán; dos o tres cadenas de sulfato de heparán se sitúan en las proximidades de la célula y modulan actividades biológicas como angiogénesis y coagulación sanguínea, y el sulfato de condroitina contribuye a la fuerza tensional del cartílago, tendones y ligamentos. El principal compuesto de la ECM no derivado de proteoglicanos, es el ácido hialurónico, polisacárido que se compone de residuos de ácido glucurónico alternados con n-acetilglucosamina, permite resistir la compresión mecánica al

absorber cantidades significativas de agua, y se encuentra abundantemente en la ECM de las articulaciones.

Las principales proteínas fibrilares de la ECM son las colágenas, la elastina, la fibronectina y la laminina. Las colágenas son las fibras más abundantes en la ECM, en el tejido óseo corresponden al 90% de su ECM, existen por lo menos trece tipos de ellas. La elastina le otorga la propiedad de elasticidad a los tejidos, como en la piel y las arterias, y es altamente insoluble. Las fibronectinas son glicoproteínas que se conectan con las colágenas en la ECM y con las integrinas/citoesqueleto de las células, facilitando la motilidad celular (p.e. durante la reparación de heridas). Las lamininas forman parte de la lámina basal, y se unen a componentes de la ECM como colágenas, y entactinas. Los fibroblastos son las células más comunes contenidas en el tejido de la ECM, y sintetizan la mayoría de las proteínas fibrilares y otros factores solubles.

Muchas células se unen a los componentes de la ECM, así la adhesión celular se realiza por medio de adhesiones focales, que conectan las fibras de la ECM con los filamentos de actina de las células y los hemidesmosomas, unidos a los filamentos intermedios como queratina. Estas uniones célula –EMC son reguladas por moléculas de adhesión conocidas como integrinas, localizadas en la superficie celular y que se unen a fibronectinas y lamininas, o a la superficie de otras células. A su vez las fibronectinas se unen a otras macromoléculas de la ECM, y a la actina del citoesqueleto; todos estos componentes constituyen frecuentemente la parte inicial de algunas vías de señalamientos intracelulares.

Las células contenidas en las ECM conducen el crecimiento y la reparación tisular. En la reparación del daño tisular y en la ingeniería tisular, la ECM participa en la modulación de la respuesta inmunológica para que ante el daño tisular no se produzca una respuesta de inflamación severa, y facilita que las células vecinas reparen el daño del tejido en lugar de formar tejido cicatricial. Diferentes preparaciones de ECM de aloinjertos o xenoinjertos han demostrado su efecto conductor en la reparación de tejidos como piel, vejiga, etc. Asimismo, las proteínas de la ECM son empleadas en algunos sistemas de cultivo celular para mantener a las células *stem* en estados indiferenciados durante su cultivo.

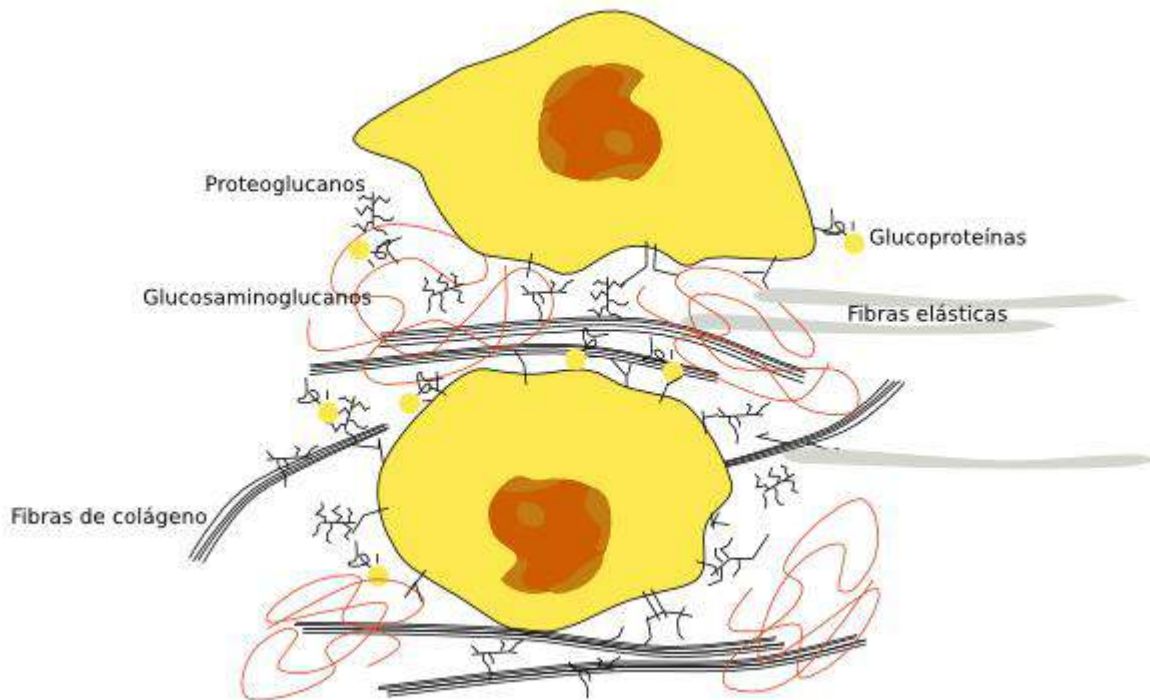


Figura 9.1 Esquema de la matriz extracelular de un tejido conectivo. Tomado de Megias M. et al Atlas de histología vegetal y animal. Universidad de Vigo.2014.

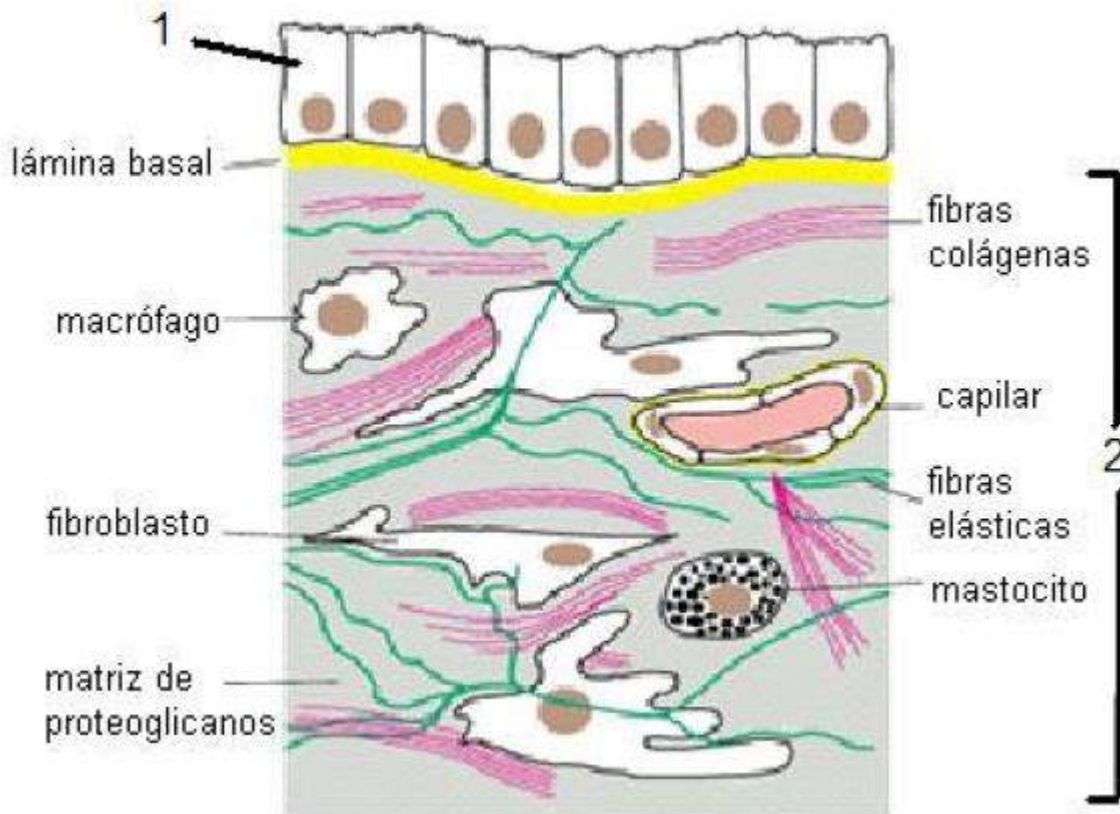


Figura 9.2 Matriz extracelular de tejido conectivo, contiene una sustancia fundamental, amorfa (color gris), donde se ubican los componentes fibrosos. 1: epitelio, 2 tejido conectivo. Disponible en www.genomasur.com

Referencias

Aberle H et al. Cadherin-catenin complex: protein interactions and their implications for cadherin function. *J Cell Biochem* 1996;61:514-523.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. *Molecular biology of the cell*. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Bioquímica*. 6th ed. Reverté, 2008. Traducción de *Biochemistry*. New York: W.H. Freeman & Co, 2007; p1-1152.

Hancock JT. *Cell signaling*. 3th ed. Oxford University Press Inc. New York; 2010; p1-334.

Iozzo RV. Basement membrane proteoglycans: from cellular to ceiling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6:646-656.

Karp G. *Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments*. 6th Ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765.

Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Scott MP, Bretscher A, Ploegh H, Matsudaira P. *Molecular cell biology*. 6th Ed. New York: W.H. Freeman & Co, 2008; p-1-1050.

Capítulo 10

Organización estructural del genoma

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

Existen dos diferentes clases de material genético, el ácido desoxiribonucleico (DNA) y el ácido ribonucleico (RNA). Todas las células utilizan al DNA para conservar su información (algunos virus utilizan el RNA). La información biológica contenida en un organismo es codificada por la secuencia del DNA. Los diferentes tipos de RNA son empleados como transcriptores de la información genética (RNA mensajero), como activadores estructurales enzimáticos (RNA ribosomal), o como transportadores de aminoácidos durante la síntesis de proteínas (RNA de transferencia). La larga molécula lineal del material genético de las células eucariotas se organiza en cromatina y cromosomas, los cuales se ubican dentro del núcleo. La cromatina es un complejo macromolecular constituido por DNA, proteínas y RNA, cuya función principal es empaquetar el DNA en pequeños volúmenes, sus proteínas más abundantes son las histonas; ésta puede mantenerse como heterocromatina (más compacta) o eucromatina (menos compacta). Un cromosoma es una fracción de la cromatina en una estructura muy condensada. Por ejemplo la célula humana contiene 23 pares de cromosomas, de ellos 22 corresponden a autosomas y uno corresponde a un par sexual.

El DNA eucariótico está organizado a través de varios niveles de empaquetamientos macromoleculares de disposición lineal, llamados cromosomas, los mayores niveles de compactación del DNA se deben particularmente a su enrollamiento en los nucleosomas, que son conjuntos globulares formados por la unión de ocho unidades proteicas, organizadas en pares, llamadas histonas (2 H2a, 2 H2b, 2 H3 y 2 H4), la histona H1 se encuentra por fuera del octámero sellando el nucleosoma y se mantiene unido al DNA *linker* (Alberts et al., 2008). Sin las histonas, el DNA sería una maraña desorganizada de nucleótidos, y su función excede con mucho el de mero soporte estructural, ya que también participan en la regulación de la expresión del material genético. Todo el DNA cromosomal se ubica en el núcleo, sin embargo algunos organelos como las mitocondrias también contienen pequeñas cantidades de DNA. Los **genes** son segmentos específicos de DNA de miles de nucleótidos, y funcionan como unidades informacionales (de herencia) para codificar la biosíntesis de proteínas específicas. En promedio, un cromosoma es portador de aproximadamente 1000 genes. Los genes permanecen unidos dentro de los cromosomas, y actúan como si estuvieran ligados o interconectados en pequeños grupos. Cada gen se encuentra ubicado en diferente cromosoma (haploide) y la célula contiene un número doble de cromosomas (diploide), correspondiente a dos copias del mismo gen (alelos) (Levy et al, 2007). Los alelos que controlan un rasgo fenotípico permanente dependen de la relación del alelo dominante y el alelo recesivo. Cada gen codifica virtualmente todas las proteínas, como las globinas, actinas y miosinas. Muchas regiones de la cadena larga del DNA dentro del genoma de células eucariotas se repiten, así, existen regiones altamente repetidas, otras

moderadamente y otras no repetidas (Schadt y Chang, 2012). Dentro de las secuencias de DNA repetidas, éstas pueden tener funciones codificantes (como aquellas que codifican proteínas requeridas en grandes cantidades, como las histonas y RNAs ribosómicos y de transferencia) o sin funciones codificantes (como regiones dispersas en el genoma o como elementos interpuestos largos o cortos, que participan en la regulación de la expresión génica).

La versión terminada de la secuencia del genoma humano después de haber sido secuenciado de 7 a 10 veces demostró, en el año 2004, que los seres humanos tienen aproximadamente 20-25000 genes codificadores de proteínas (Figura 10.1), casi el número similar al de la mayor parte de los vertebrados (como el ratón o el pollo). Ciertos segmentos de DNA son capaces de moverse eventualmente dentro del genoma de forma aleatoria, como los denominados elementos trasponibles o trasposones, ejemplo de ellos son la familia Alu y LINE (Figura 10.2). Las grandes diferencias en la complejidad de los organismos se explican por las diferencias entre el corte y empalme alternativo de RNA mensajero, en las regiones reguladoras de genes, en RNAs no codificantes y en genes de linaje humano (Lewin, 2008). El genoma humano no solo codifica 20-25000 proteínas, sino más de cien mil proteínas a través de actividades combinadas de amplificación de genes y de procesamiento alternativo del RNA (Stamatoyannopoulos, 2012)

Las variaciones genéticas dentro de la población humana, de alrededor de 0.1%, se deben principalmente a variaciones de nucleótidos individuales en múltiples regiones del DNA, denominados polimorfismos de nucleótidos individuales (SNP), a la variación en el número de copias de secuencias génicas (copias adicionales de uno o más genes), y a modificaciones epigenéticas del genoma. Los SNP ocurren más

frecuentemente tanto en regiones no codificantes como en regiones codificantes; particularmente en las regiones no codificantes de proteínas, pueden afectar los patrones de corte y empalme del RNA, a los de unión con los factores de transcripción, por la degradación del mRNA o en la secuencia de los RNAs no codificantes. Las variaciones en la secuencia del DNA humano puede asociarse al desarrollo de enfermedades, o responder diferencialmente a patógenos, sustancias químicas, medicamentos, vacunas, etc. (Raphael, 2012). La organización de la secuencia del genoma es capaz de cambiar con lentitud en el curso de la evolución.

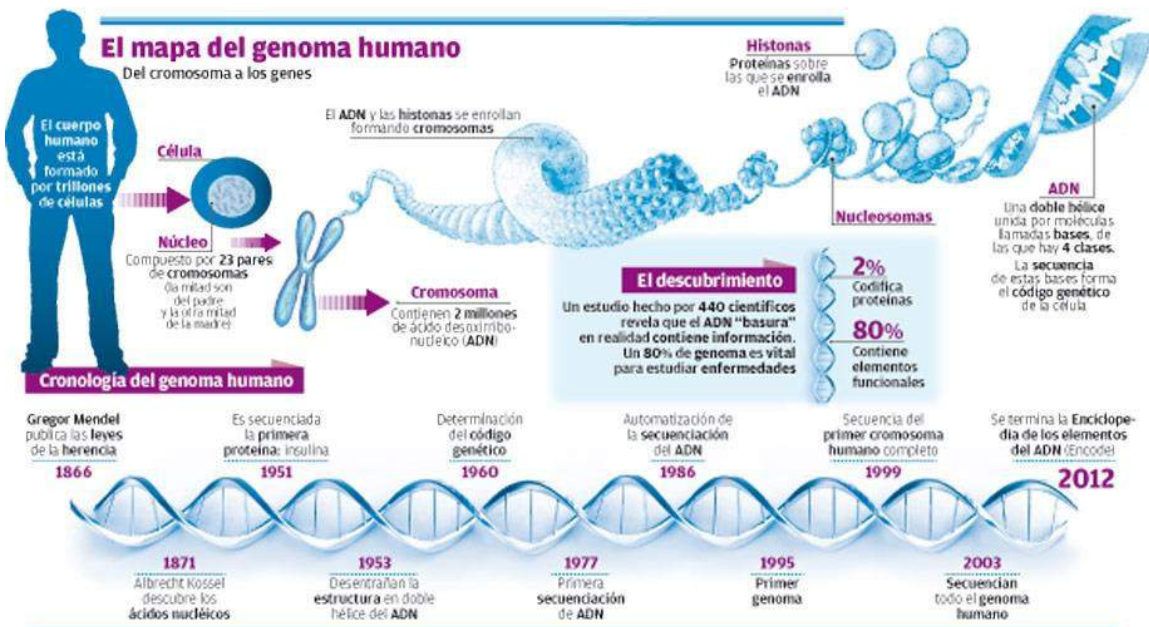


Figura 10.1 Organización del genoma humano. Disponible en

www.vi.cl/foro/topic/1389410-genoma-apuntes/

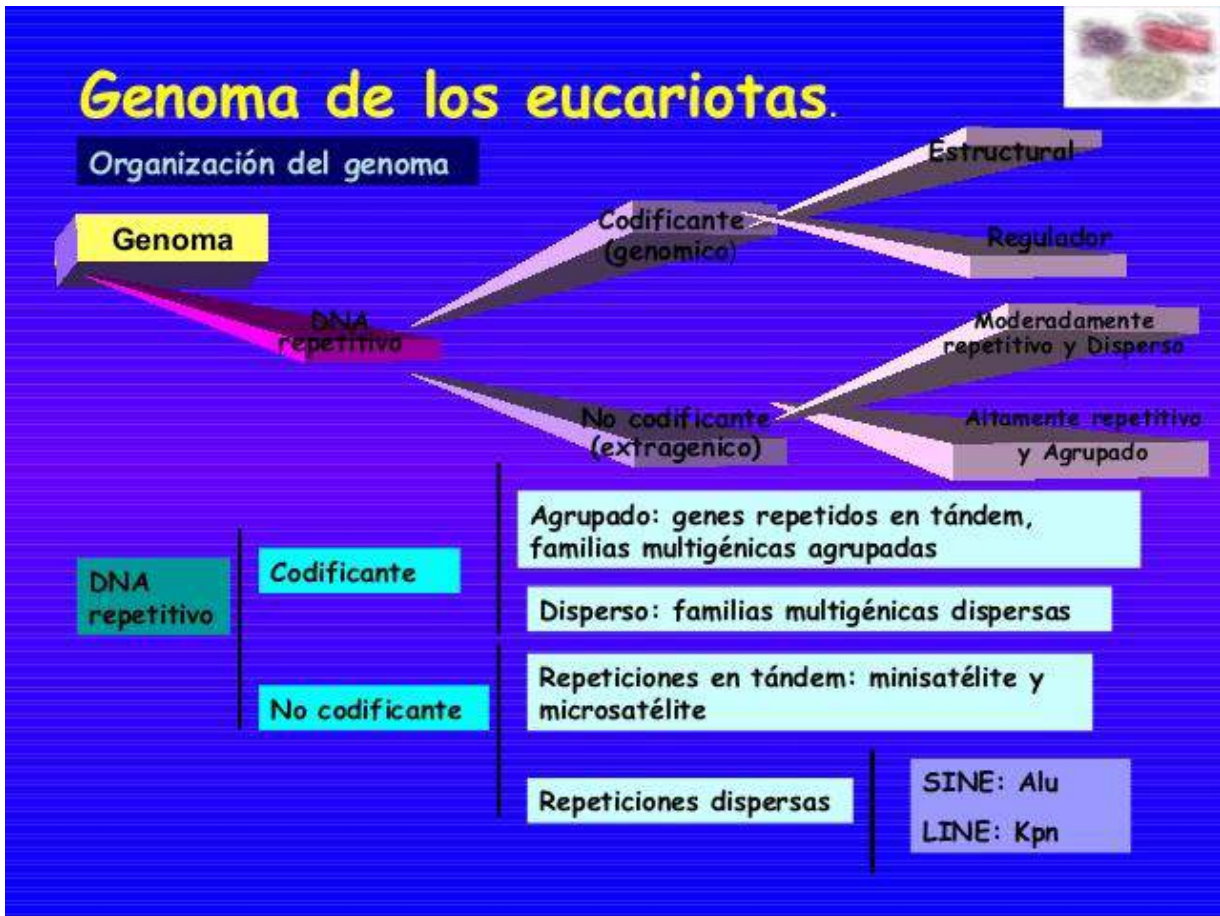


Figura 10.2 Organización del genoma humano codificante y no codificante. Martínez CB. Introducción al genoma humano.2005. es.slideshare.net.

Referencias

1. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.
2. Levy S, Sutton G, Ng PC, Feuk L, Halpern AL, Walenz BP, et al. The diploid genome sequence of an individual human. Plos Biology 2007;5:e254.
3. Lewin B. Genes IX. Boston. Jones and Bartlett Publishers; 2008; p.640-666.
4. Raphael BJ. Chapter 6: Structural variation and medical genomics. PLoS Comput Biol 2012; 8(12)e10002821.
5. Stamatoyannopoulos JA. What does our genome encode? Gen Res 2012;22:1602-161.
6. Schadt E, Chang R. A GPS for navigating DNA. Science 2012;337:1179-1180.

Capítulo 11

Integración de la respuesta de los genes por cambios genómicos y epigenómicos

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

La expresión de los genes está regulada principalmente a nivel de su transcripción, la cual, puede ser constitutiva o regulada. La activación de los genes en las células eucariotas requiere un estrecho control temporal de factores activadores que se unen a diferentes secuencias génicas. El mecanismo prevalente de regulación es a nivel de su transcripción, particularmente por los denominados factores de transcripción, los cuales se unen a elementos reguladores cercanos al sitio 5' de iniciación de la transcripción. Los factores de transcripción corresponden a proteínas con capacidad de interaccionar con secuencias específicas de DNA y activar su actividad transcripcional. La mayoría de los factores transcripcionales contienen diferentes dominios que participan en aspectos distintos de la función de la proteína, en general contienen dos dominios: un dominio que se enlaza a secuencias específicas del DNA y un dominio de activación que regula la transcripción al interactuar con otras proteínas. Los dominios de unión al surco mayor del DNA corresponden a segmentos de tipo hélice α y presentan tres estructuras relacionadas (*motifs*): estructura de dedos de zinc (p.e. TFIIIA), de hélice-asa-hélice (p.e. MyoD) y de cremallera de leucina (p.e. bZIP). Los factores transcripcionales pueden dividirse en dos clases

funcionales: factores transcripcionales generales que se unen a los sitios promotores y factores transcripcionales específicos de secuencia que se unen a varios sitios reguladores de genes específicos (Lewin, 2008). En la regulación de la transcripción génica, además de los factores de transcripción, participan moléculas co-activadoras y co-represoras, las cuales se unen a ellos, modificando su actividad en un sentido positivo o negativo. Cada tipo de célula tiene un patrón característico de transcripción de genes, que está determinado por la unión de combinaciones de factores de transcripción a las regiones reguladoras de un gen. Las células expuestas a diferentes estímulos responden intrínsecamente mediante la síntesis de diferentes factores de transcripción. Del 5 al 10% del genoma humano codifica los diferentes factores transcripcionales.

Cualquier proceso celular implica un profundo cambio de expresión génica (Ng y Surani, 2011). Así por ejemplo el proceso que convierte un cigoto fecundado a más de 310 tipos celulares en un recién nacido, corresponde a una programación genética ordenada en espacio/tiempo y en los tejidos de miles de genes que se activan o que se inactivan. Este proceso de desarrollo y diferenciación celular es controlado por un conjunto numeroso de genes que codifican diferentes factores de transcripción, que responden a señales extracelulares o de contacto célula-célula.

Todos los genes que codifican proteínas son transcritos por la RNA polimerasa II (RNAPII). La transcripción depende sobre todo de la tasa de su inicio, es decir la tasa de unión de la RNAPII con los factores transcripcionales generales y específicos al sitio de iniciación de la transcripción en el gen (región promotora y primer exón). Las proteínas que activan o reprimen la transcripción provocan

cambios en la topología del DNA, tanto como modificaciones postraduccionales de las histonas, remodelación de la cromatina y metilación de citosinas del DNA.

Se han identificado cuatro diferentes regiones reguladoras dentro del gen que interaccionan con los factores de la transcripción en el proceso de la iniciación de la expresión génica: el promotor básico, el promotor proximal, el promotor distal y otras regiones modificadoras de la transcripción como aumentadores o *enhancers*, silenciadores o *silencers* y aisladores o *insulators*. Estas regiones se localizan cercanas al primer exón, en general el promotor básico se ubica a 30 pb de distancia, los promotores proximal y distal a 0.1-10 kb y las regiones modificadoras a 10-100kb; a la región del promotor básico se une el complejo de la RNAPII (Lewin, 2008).

El proceso de transcripción se inicia por la unión de factores de transcripción a secuencias del promotor proximal y distal, esto provoca una apertura de la cromatina y el reclutamiento de otros factores de transcripción llamados genéricamente co-activadores (p.e. TFIID y el complejo modificador de histonas). Este último actúa acetilando/metilando la cola N-terminal de las histonas y desmetilando citosinas del DNA, con lo cual modifican el estado de compactación de la cromatina. A continuación un complejo proteico llamado *Mediador*, enlaza los factores generales de transcripción (TFIID, TFIIA, TFFIIB, etc.) con la RNAPII y posicionan a la RNAPII en el sitio de inicio de la transcripción del gen (Figura 11.1).

Mientras más genes se examinan, se encuentra mayor variabilidad en la localización y constitución de los elementos promotores y reguladores. Casi un 50% de los genes

de células de mamíferos tienen más de un promotor (promotores alternativos), lo que permite que la iniciación de la transcripción de un gen ocurra en más de un sitio en el genoma (Levy et al., 2007).

Una vez generado el transcrito por medio el corte y empalme alternativo de los distintos segmentos del RNA codificados de los distintos exones del gen, inicia la expresión génica; donde un solo gen puede codificar dos o más proteínas relacionadas. Un ejemplo de este tipo de corte y empalme alternativo tiene lugar durante la síntesis de la fibronectina, una proteína que se encuentra tanto en el plasma como en la matriz extracelular, que es sintetizada por hepatocitos y por fibroblastos, respectivamente, las cuales difieren en la cantidad de péptidos. Más del 70% de los genes humanos están sujetos a corte y empalme alternativos, y tiene el potencial de generar un gran número de polipéptidos relacionados a partir de un solo gen.

El control de la expresión génica a nivel traduccional comprende tres principales mecanismos: ubicación del mRNA en ciertos sitios de la célula, su traducción o no (y su frecuencia) y la vida media/estabilidad del transcrito. La información que regula la localización citoplásmica de un mRNA reside en su segmento no codificante (UTR)3', el cual está mediado por proteínas específicas que reconocen esas secuencias. Diferentes mecanismos afectan la traducción del mRNA, así como diferentes señalamientos intra y extracelulares. La vida media de los mRNA eucariotas es muy variable y depende de la constitución propia del RNA (colas de poliA), p.e. la degradación del mRNA comienza en su extremo 5' seguida de la

remoción de la cola de poli A en el extremo 3'; y del programa celular de requerimiento de la proteína correspondiente (Lewin, 2008).

En las células eucariotas existe un mecanismo llamado RNA de interferencia que conlleva la destrucción de los mRNA. En este proceso participan diferentes RNAs no codificantes, principalmente los microRNAs (miRNA) que modulan la transcripción génica y las modificaciones epigenéticas. Los miRNAs suprimen la expresión génica a través de degradar el mRNA a nivel post-transcripcional, modulando la degradación del mRNA blanco. Los genomas eucariotas codifican grandes cantidades de miRNA, que están constituidos de 20-25 nucleótidos. Diferentes genes en las células pluripotentes y diferenciadas se encuentran bajo el control de los miRNAs. Los factores OCT4, SOX2 y NANOG regulan a los promotores de muchos miRNAs en las células pluripotentes, uno de ellos, el mir290 regula la expresión de las metiltransferasas DNMT3a y DNMT3b (Abollo-Jimenez, et al., 2010)

Organización y generación epigenética de las órdenes que reciben las células

En la biología y particularmente en el campo de la genética, la epigenética corresponde al estudio de los cambios heredados en la expresión génica o en el fenotipo celular, provocados por modificaciones diferentes a los de las secuencias del DNA. El sufijo epi-, puede significar sobre, fuera, arriba, de la genética. Se refiere a las modificaciones funcionales del genoma que involucran otros cambios diferentes al de la secuencia nucleotídica, y que corresponden principalmente a cambios en la metilación del DNA y a modificaciones bioquímicas de las histonas. Estos cambios

regulan la expresión de los genes sin alterar la secuencia del DNA, y pueden heredarse a varias generaciones celulares después de la división celular, o eventualmente perderse o transmitirse parcialmente (Marx, 2012) (Figura 11.2). Un ejemplo del efecto epigenético en la biología de las células eucariotes es el proceso de diferenciación celular. Durante la morfogénesis, una célula *stem* totipotencial genera diferentes líneas celulares pluripotentes en el embrión humano, las cuales sufren otros procesos de diferenciación y generan finalmente más de trescientos tipos de células terminalmente diferenciadas.

La epigenética corresponde al estudio de los mecanismos temporo-espaciales del control de la activación o de la expresión génica que suceden más evidentemente durante el desarrollo embrionario. En los últimos años se ha demostrado que estos cambios aunque más discretos suceden durante toda la vida de un organismo. Particularmente estos cambios son propiciados por señalamientos bioquímicos generados por las condiciones ambientales en las cuales habitan los organismos. De manera paralela al contexto de genómica, el término epigenómica corresponde a todas las características epigenéticas que acontecen en las diferentes células para permitirles los diferentes fenotipos. La epigenómica se refiere al código epigenético, mapa epigenético, etc., relacionados a las modificaciones en la expresión génica; particularmente los perfiles de metilación del DNA y el estado de modificaciones de las histonas de una región genómica (Bernstein et al., 2007). Los cambios epigenéticos pueden ser valorados a partir de la medición de los patrones de metilación del DNA de genes específicos, junto con la identificación de sus modificaciones covalentes de las histonas vecinas; ambos cambios bioquímicos conducen a modificaciones en la expresión de los genes. Se ha considerado que los

cambios epigenéticos para entender la naturaleza del comportamiento biológico de los seres vivos son tan trascendentes, que en los siguientes años el 50% de investigaciones biológicas de manera directa o indirecta estarán relacionados con la epigenética.

Las bases moleculares de la epigenética son complejas, y aunque mucho se ha avanzado en su estudio, gran cantidad de cuestionamientos faltan por resolver. Las modificaciones en la activación o silenciamiento de la mayoría de los genes es regulado por mecanismos genéticos descritos clásicamente en los párrafos anteriores. La regulación epigenética de la expresión génica depende de dos principales mecanismos, de la modificación del patrón de metilación del gen y de la modificación en los patrones de interacción del gen con el grado de empaquetamiento de la cromatina cercana, el cual a su vez, es influido por los cambios covalentes de las histonas que conforman los nucleosomas (Barroso, 2012). Particularmente la adición de grupos metilo en la citosinas de los dinucleótidos CpG (islas de CpG) ubicadas en el promotor, disminuyen la transcripción del gen; de igual manera sucede con la adición de grupos metilo, acetilo, fosfato, etc., que modifican la reactividad química de las histonas, y con ello el desenrollamiento o empaquetamiento de la cromatina. Un patrón de menor metilación a nivel del gen (promotor) o de su interacción con una cromatina extendida, conduce a la activación en la expresión génica; por el contrario en condiciones de un promotor génico altamente metilado junto con una cromatina compacta, conduce al silenciamiento del gen. Recientemente se ha identificado que la metilación del mRNA corresponde a otro mecanismo de regulación epigenético, particularmente en la homeostasis energética en las células humanas.

Algunos procesos biológicos normales o patológicos en donde la regulación epigenética es el participante fundamental identificado, son la impronta genética, la inactivación del cromosoma X en las hembras de mamíferos, la memoria epigenética en la reprogramación celular, la carcinogénesis de algunos tumores malignos, y recientemente en el proceso del envejecimiento y en distintas enfermedades relacionadas a este. (Bernstein et al., 2007; Brunet y Berger, 2014).

La determinación de los cambios epigenéticos se lleva a cabo a través de técnicas de biología molecular especializadas como la inmunoprecipitación de la cromatina (ChIP) junto con algunas variantes de microarreglos y o secuenciación de DNA (ChIP-on-chip), empleo de enzimas de restricción para sitios de metilación, identificación de DNA-metiltransferasas y secuenciación del DNA tratado con bisulfito (The ENCODE Project Consortium, 2012).

Los principales sistemas que participan en la memoria epigenética de las células son la metilación del DNA, el remodelado de la cromatina y el perfil de RNAs no codificantes (Marx, 2012). La metilación del DNA puede ocurrir en todo el genoma, particularmente en los nucleótidos constituidos por citosina que integran la secuencia dinucleótida CpG. Frecuentemente estas regiones o islas de CpG se localizan en las regiones promotoras de los genes y en regiones génicas repetidas. La 5-metilcitosina de los CpG puede espontáneamente desaminarse y mutar a timidina, lo cual aumenta la frecuencia de mutación genética. Los patrones de metilación del DNA son establecidos y modificados en respuesta a los cambios ambientales por medio de la activación de tres enzimas DNA-metiltransferasas, la DNMT1, la DNMT3A y la DNMT3B. Como hemos anotado, la mayor metilación conduce a que el DNA sea transcripcionalmente menos activo. El patrón de la metilación del DNA de las células

diferenciadas es diferente al de sus células progenitoras. La DNMT1 es la metiltransferasa más abundante en las células somáticas y es esencial en el desarrollo embrionario. Los patrones de metilación anormal del DNA se asocian con gran cantidad de neoplasias malignas humanas, tanto en su inicio como en su progresión.

El segundo mecanismo epigenético para regular la expresión génica es debido al remodelado de la cromatina. La cromatina es un sistema complejo de las proteínas histonas asociado al DNA. Las histonas son pequeñas moléculas esféricas, que se asocian (H2A, H2B, H3 y H4; dobles) para formar el nucleosoma, mientras que la H1 es una histona individual cilíndrica que ayuda a estabilizar la fibra de 30nm de la cromatina. El DNA se empaqueta dentro del núcleo enrollándose alrededor de los nucleosomas, por lo que los diferentes cambios postraduccionales que sufren las histonas modifican el enrollamiento de la cromatina y secundariamente la expresión del gen local. Las histonas son proteínas globulares que estructuralmente presentan una cola a nivel de su extremo N-terminal. Particularmente sobre estas colas, diferentes enzimas realizan modificaciones postraduccionales que incluyen acetilación, metilación, ubiquitinización, fosforilación, entre las más importantes. La modificación de las histonas más estudiada es la acetilación (agregan un grupo acetilo: $\text{CH}_3\text{-CH}_3$), por ejemplo la acetilación del aminoácido lisina en las posiciones 9 y 14 de la cola de la histona 3 (H3K9acK14ac) es realizado por las enzimas histona-acetiltransferasas (HATs).

En general la acetilación de las histonas se asocia con el desenrollamiento biofísico de la cromatina y la transcripción activa del gen, particularmente porque la lisina (con carga positiva) puede unirse fácilmente al fósforo (negativo) del esqueleto del DNA.

Todo esto permite que diferentes factores de transcripción y el complejo SWI/SNF se una al DNA y se realice la transcripción génica (modelo bioquímico lineal o en “cis”) (Golbabapour et al., 2011).

La acetilación de las colas de las histonas también puede influir indirectamente en las interacciones sobre el DNA a través del modelo “trans”, al unirse a un complejo de proteínas remodelador de la cromatina, compuesto por diferentes enzimas y el complejo proteico de la maquinaria basal para la transcripción. Otras posiciones de acetilación de las lisinas en las histonas, alternativamente se pueden reprimir la expresión génica. Efectos parecidos se pueden obtener debido a la metilación de las histonas, la metilación de la lisina 9 de la H3 se asocia al silenciamiento transcripcional constitutivo, a través de su unión a la proteína represiva HP1. No obstante la trimetilación de algunas histonas provoca la activación de la transcripción. A semejanza de las HATs, se han identificado las lisina-metiltransferasas (KMT), las cuales son las responsables de la metilación de las histonas H3 y H4. A su vez, las H3 y H4 son desmetiladas a través de las lisina-histonas desmetilasas (KDM). Los patrones de los múltiples y dinámicos cambios covalentes que suceden en las histonas relacionados con la regulación de la transcripción génica son llamados genéricamente código de histonas.

El código de histonas también está mediado por el efecto de RNA pequeños, constituidos de 21 a 26 nucleótidos no codificantes, por lo que la regulación epigenética de la expresión transcripcional se realiza a través del proceso de interferencia por RNA, y como hemos mencionado previamente, interviene también la metilación del mRNA.

Los distintos mecanismos epigenéticos que regulan la expresión génica interactúan entre sí, y frecuentemente en combinación con los mecanismos moleculares genéticos de modulación de la transcripción, así por ejemplo, los señalamientos del RNA, como sus formas de corte-empalme y su difusión influyen en el reclutamiento de diferentes complejos remodeladores de la cromatina y de DNA metiltransferasas que provocan el encendido o apagado de la transcripción (Ng y Surani, 2011).

La epigenética tiene una gran cantidad de aplicaciones en la medicina, y nos permite explicar las variaciones fenotípicas entre gemelos monocigotos, y algunas enfermedades congénitas causadas por la inactivación de genes específicos, a través de la impronta genómica. Igualmente nos permite entender el proceso de diferenciación celular que modulan el desarrollo de tejidos, a partir de algunos factores denominados morfógenos (p.ej. TGF β , EGF y FGF) y el proceso de adaptación que sufren las especies a corto o largo plazo al modificar su fenotipo, o al expresar o reprimir genes particulares. Cuando la secuencia del DNA no es mutada, dicho cambio es reversible. La epigenética de la evolución, considera que uno de sus enfoques que el desarrollo estructural y funcional depende de la bidireccionalidad del determinismo epigenético con las interacciones con el medio ambiente. Han sido registrados más de 100 fenómenos de herencia epigenética transgeneracional, en los cuales el efecto de una condición restrictiva significativa ambiental (como hambruna) modificó los patrones de metilación del DNA, y se asoció con la presencia de menor tasa de incidencia de enfermedad cardiovascular en los descendientes de esos individuos.

Algunas sustancias químicas que se asocian a la carcinogénesis y a la teratogénesis no muestran actividad mutagénica, y corresponden a epimutágenos o epiteratógenos; ejemplos de ellos son el dietilestilbestrol, el hexaclorobenceno y algunos compuesto de arsénico y de níquel (De Vita et al., 2011).

Por contraparte algunas sustancias que modifican la metilación del DNA o la acetilación de las histonas han sido aprobadas por la FDA como medicamentos antineoplásicos en algunos tipos de cáncer, dentro de de este tipo, se encuentran algunos inhibidores de enzimas que participan en algunos cambios sobre la acetilación y la metilación de las histonas.

Por la importancia de su participación en diferentes eventos biológicos relacionados con la salud, a partir del 2008, los Institutos Nacionales de Salud en U. S. A. destinaron elevadas cantidades de dólares para apoyar proyectos de investigación en epigenética, particularmente en investigaciones relacionadas en los mecanismos del envejecimiento, del desarrollo humano y de la mayoría de las enfermedades crónico-degenerativas.

Relación entre genes y proteínas. Síntesis de proteínas o traducción/traslación de la información genética.

En el proceso de biosíntesis de proteínas celulares en el ribosoma, la información para la generación o incorporación de aminoácidos en la formación de un polipéptido, se codifica en la secuencia de tripletes de nucleótidos (codones) del mRNA. El código de tripletes constituido por cuatro diferentes nucleótidos puede generar 4^3 o 64 codones diferentes, así muchos de los 20 aminoácidos diferentes necesarios para la síntesis protéica están representados por más de un codón (código degenerado).

Tres de estos 64 codones se emplean como señales de inicio y terminación de la transcripción. La síntesis de proteínas implica la participación de diferentes componentes: los RNA de transferencia (RNAt, uno por cada tipo de aminoácido), los 20 aminoácidos, los ribosomas (subunidad pequeña y subunidad grande), el mRNA, proteínas (reguladoras), cationes y GTP (fuente de energía). Este proceso se divide en tres actividades: inicio, elongación y terminación. En el proceso de traducción, una cadena de mRNA se une simultáneamente a varios ribosomas, denominados polirribosomas o polisomas.

La comprensión de la relación entre los genes y las proteínas ha sido el resultado de múltiples investigaciones/observaciones (Figura 11.3) (Raphael, 2012, Maurano et al., 2012; Stankiewicz y Lupski, 2012). En 1902, Archibald Garrod demostró que las personas con enfermedades metabólicas hereditarias carecen de enzimas específicas (alcaptonuria). En 1941 Beadle y Tatum en un modelo con neuroesporas, indujeron mutaciones en genes, con lo cual se produjeron alteraciones en algunas reacciones metabólicas específicas. Estos y otros estudios condujeron al concepto clásico de un gen-una enzima, sin embargo esta asociación ha sido actualizada en el concepto de un gen-una cadena polipeptídica; ya que un gen genera frecuentemente varios polipéptidos (por corte y empalme alternativos). En 1950, Ingram describió que la drepanocitosis (anemia de células falciformes) se debía a la sustitución de un solo aminoácido en una cadena de la proteína globina. La fibrosis quística se debe a la mutación del gen CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) que codifica la proteína que regula la conductancia transmembranal de los iones cloruro, ésta se encuentra mutada, bloqueada o plegada en forma incorrecta, provocando que en los pulmones de estos pacientes el moco no se hidrate

adecuadamente, se espese, no se expulse y retenga bacterias, lo cual obstruye las vías respiratorias y se favorece la infección local. En el caso de la fibrosis quística, o en enfermedades por defectos de enzimas metabólicas o proteínas de transporte, las estrategias de tratamiento son corregir la mutación del gen codificante o corregir la estructura funcional conformacional de la proteína alterada. Diferentes medicamentos prometedores se han diseñado para modificar en estos pacientes las alteraciones específicas del gen o de la proteína (Ratien y Grasemann, 2012).

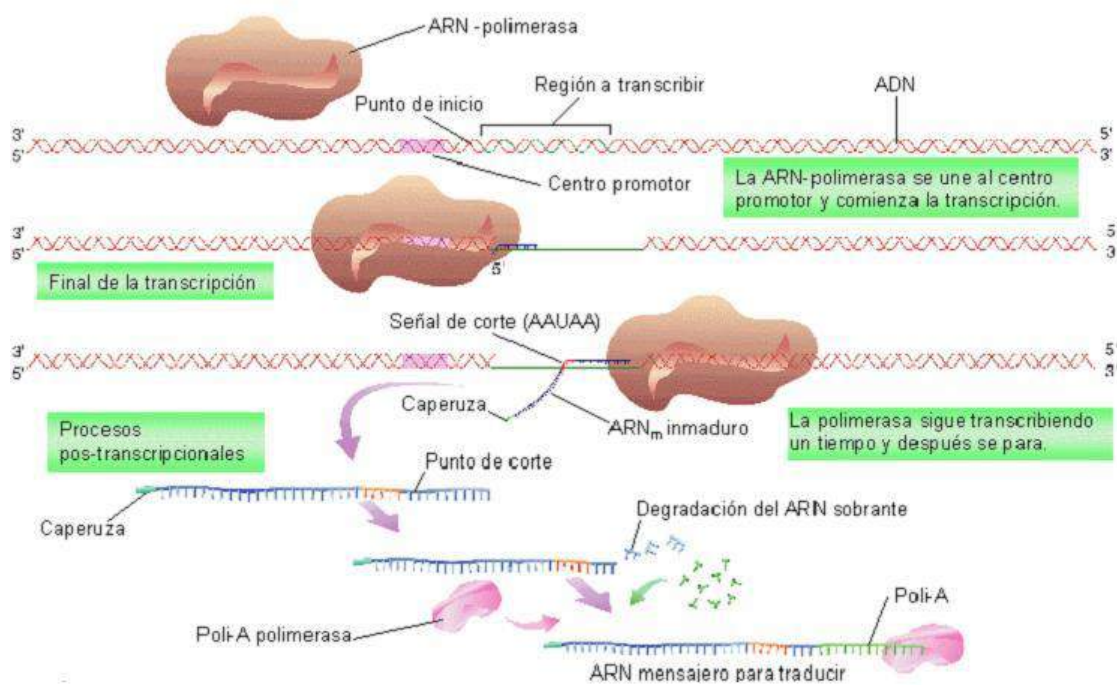


Figura 11.1 La transcripción es el inicio de la expresión génica. En ella intervienen la RNA-polimerasa, múltiples factores de transcripción (que no son esbosados en el

esquema), el promotor y la porción codificante y no codificante del gen estructural.
Jimenez MA. La expresión del mensaje genético. Disponible en www.biogeo.iespedrojimenezmontoya.es.

Epigenética

- **Definición:**

- Cambios heredables de la expresión génica que ocurren sin que se presenten modificaciones en la secuencia de DNA



Rodríguez-Dorantes M, et al. *Rev Invest Clin* (2004) 1: 56-71

Figura 11.2 Los cambios en la expresión génica se deben a regulaciones génicas y epigenéticas.

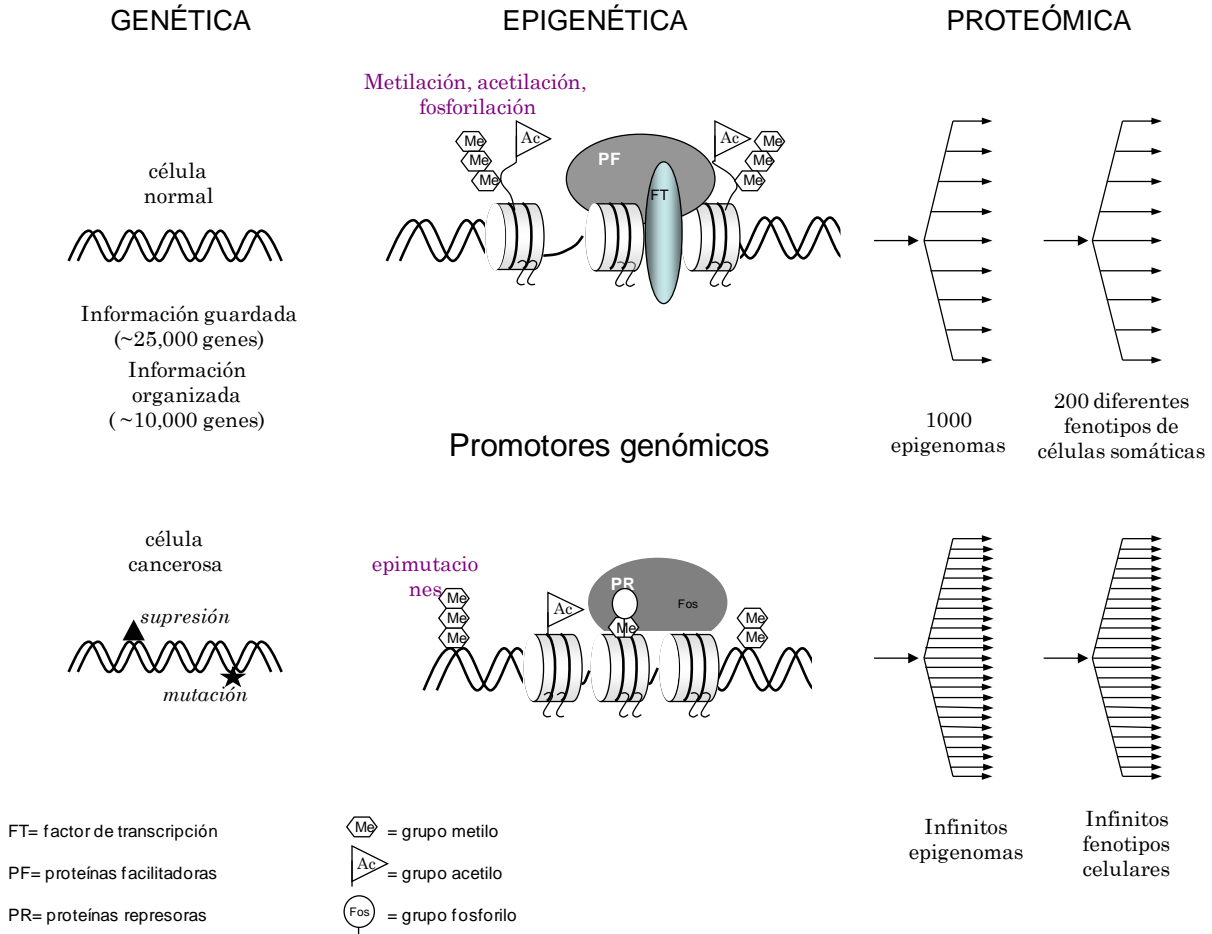


Figura 11.3 Factores genéticos y epigenéticos de una célula normal y una célula enferma (cancerosa). En este diagrama se remarcan los epigenéticos que suceden a nivel de los promotores de un gen supresor tumoral y la repercusión de ellos en los cambios proteómicos y del fenotipo celular (Valdespino et al., 2008)

Referencias

1. Abollo-Jimenez F, Jimenez R, Cobaleda C. Physiological cellular reprogramming and cancer. *Sem Cancer Biol* 2010;20:98-106.
2. Barroso I. Non-coding but functional. ENCODE explained. *Nature* 2012;489:54.
3. Bernstein BE, Meissner A, Lander ES. The mammalian epigenome. *Cell* 2007;128:669-681.
4. Brunet A, Berger SL. Epigenetics of aging and aging-related disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2014;69:S17-20.
5. De Vita V T Jr, Lawrence T S, Rosenberg S A. *Cancer. Principles & Practice of Oncology*. 9th ed. Wolters Kluwer/Lippincott Williams &Wilkins. Philadelphia; 2011;p1-2638
6. Golbabapour S, Abdulla MA, Hajrezaei M. A concise review on epigenetic regulation: insight into molecular mechanisms. *Int J Mol Sci* 2011,12:8661-8694.
7. Levy S, Sutton G, Ng PC, Feuk L, Halpern AL, Walenz BP, et al. The diploid genome sequence of an individual human. *Plos Biology* 2007;5:e254.
8. Lewin B. *Genes IX*. Boston. Jones and Bartlett Publishers; 2008; p.640-666
9. Marx V. Reading the second genomic code. *Nature* 2012;491:144-147.
10. Maurano MT, Humbert R, Rynes E, Thurman RE, Haugen E, Wang H et al. Systematic localization of common disease-associated variation in regulatory DNA. *Science* 2012;337:1190-1195.
11. Raphael BJ. Chapter 6: Structural variation and medical genomics. *PLoS Comput Biol* 2012; 8(12)e10002821.
12. Ration F, Grasemann H. New therapies in cystic fibrosis. *Curr Pharm Des* 2012;18:614-27.
13. Schadt E, Chang R. A GPS for navigating DNA. *Science* 2012;337:1179-1180.
14. Stamatoyannopoulos JA. What does our genome encode? *Gen Res* 2012;22:1602-161.
15. Stankiewicz P, Lupski JR. Structural variation in the human genome and its role in disease. *Annu Rev Med* 2010;61:437-455.
16. The ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 2012;489:57-72.
17. Valdespino V, Valdespino Castillo P. Mecanismos epigenéticos celulares y sus alteraciones en cáncer. *GAMO* 2008;7:80-92.

Capítulo 12

Organización y ejecución de respuesta de las señales que le llega a las células. Entendiendo cómo trabajan las células

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

La biología celular es una disciplina científica que estudia en las células a nivel microscópico y molecular, sus propiedades fisiológicas, su estructura, los organelos que contiene, las interacciones con su ambiente, su ciclo de vida, su división y su muerte. Las investigaciones de la biología celular incluyen el estudio de organismos unicelulares como bacterias y protozoarios, y de organismos multicelulares especializados como los humanos. El conocimiento de los componentes estructurales y del funcionamiento celular es fundamental en todos los tipos celulares. La comparación de las similitudes y diferencias entre los tipos celulares es particularmente importante en los campos de la biología molecular con importantes aplicaciones biomédicas relacionadas con la salud y la enfermedad. Esto permite identificar los principios biológicos universales, los cuales pueden ser extrapolados y generalizados a otros tipos celulares. La investigación en la biología celular está estrechamente relacionada con la genética, la bioquímica, la biología molecular, la inmunología y la biología del desarrollo.

Las principales técnicas para estudiar las células son su expansión por cultivo, la identificación de componentes moleculares empleando anticuerpos específicos, la identificación de los cambios en la estructura, la expresión y funcionamiento de los genes con el apoyo de diferentes variedades de técnicas genómicas o de biología molecular como hibridación *in situ*, PCR, transfección, la eliminación o disminución de la expresión de un gen o varios genes (*knockout* o *knockdown*), y la exploración simultánea de genes múltiples en un solo evento (microarreglos o *microarrays*) (Hancock, 2010).

Para seleccionar poblaciones celulares específicas en tejidos sólidos se emplean microdisecciones de las rebanadas de tejido empleando cortes selectivos de las poblaciones de interés, o en tejidos líquidos o células en suspensión empleando la separación de poblaciones celulares mediante citometría de flujo, técnica en la cual se conjuntan los dominios del uso de anticuerpos monoclonales conjugados con colorantes fluorescentes. Para separar los diversos subcomponentes celulares se emplean técnicas de fraccionamiento celular por medio de ruptura celular y separación de los diversos organelos por medio de centrifugación diferencial.

Señalización celular o vías de señalización intracelulares.

Las vías de señalización intracelulares le proporcionan las diferentes células un camino de tránsito para identificar la organización de la información molecular que viaja al genoma de forma aferente y eferente, para detectar cambios microambientales externos e internos y responder a ellos. Es una condición similar a la manera en que el sistema nervioso central en un ser multicelular recibe, dirige la

información hacia los diferentes órganos del cuerpo y responde para mantener la homeostasis. La respuesta de la mayoría de células dependen de un complejo proceso de señalización molecular que generalmente inicia en la membrana plasmática, que se transmite hacia el interior y muchas veces termina en el núcleo celular (genes blanco) (Figura 12.1). Las respuestas pueden variar para provocar un cambio fenotípico celular a partir de modificaciones por ejemplo en la expresión génica, en la actividad de enzimas metabólicas, en la reconfiguración del citoesqueleto, en la permeabilidad iónica, en la activación de la síntesis del DNA o en la muerte de la célula. Esta traducción y transmisión de señales dentro de la célula viaja por vías o circuitos de señalización molecular, que incluye proteínas cinasas y proteínas fosfatasas que activan o inhiben sus sustratos mediante pequeños cambios covalentes que modifican su estructura conformacional (Hancock, 2010)

La mayoría de los estímulos extracelulares (primer mensajero) inician las respuestas celulares mediante la interacción con un receptor unido con una proteína G en la membrana, y el estímulo (ligandos: diferentes señales de hormonas, neurotransmisores, y estímulos sensoriales) se transmite por un segundo mensajero dentro de la célula. Las proteínas G, se denominan así debido a que estas proteínas heterotriméricas para su activación se unen a un nucleótido de guanina trifosfatado (GTP), cientos de receptores membranales se encuentran unidos a las proteínas G. Particularmente las proteínas G pueden activar a la fosfolipasa C que separa al PIP₂ y libera dos segundos mensajeros diferentes, el IP₃ y el DAG; el IP₃ es una pequeña molécula hidrosoluble que se difunde al citoplasma y activa a los receptores de la

membrana del ER-liso para abrir los conductos de Ca^{2+} . La elevación rápida del Ca^{2+} citosólico, inducida por la abertura de los conductos iónicos en las membranas endoplasmáticas o plasmática, inicia una gran variedad de reacciones celulares. Algunas corresponden a la activación o inhibición de varias enzimas (p.e. calmodulina), sistemas de transporte, o funciones contráctiles o del citoesqueleto. Otro ejemplo de participación de los receptores unidos a proteínas G es la movilización de la glucosa y otras respuestas endócrinas inducidas por la liberación de cAMP (Berg et al., 2008).

Muchos otros estímulos extracelulares inician la respuesta celular a través de su unión con un receptor constituido como una proteína tirosina cinasa (RTK) o unido a una enzima de este tipo, que activa el dominio tirosina cinasa (TK) mediante transautofosforilación, localizado en la superficie interna de la membrana plasmática. Ejemplos de ligandos de estas vías son los diferentes factores de crecimiento celular como PDGF, EGF, y FGF, los cuales regulan diversas funciones como el crecimiento, proliferación, diferenciación y supervivencia celulares (Alberts et al., 2008). Estos ligandos activan algunas vías de señalización, una de las más conocidas es la llamada cascada de cinasa de MAP que incluye a Ras (un tipo de proteínas G), Sos (activador de Ras), Raf que inicia una cadena ordenada de reacciones de fosforilación corriente abajo, como MEK, ERK, y factores de transcripción como Elk-1. Estos factores de transcripción una vez fosforilados, se unen y activan a genes específicos como *Fos* y *Jun*, los cuales transcriben y traducen proteínas específicas para el crecimiento celular, lo que inicia la síntesis del DNA y la división celular. Igualmente el receptor para insulina corresponde a una

RTK, el receptor formado por cuatro subunidades, al llegar el ligando se ensambla y se une con otras proteínas de acoplamiento denominadas sustratos del receptor para insulina (IRS), que contiene varias tirosinas fosforiladas que sirven como sitios de unión para otras proteínas como cinasas de lípidos (PI3K) y Ras, las cuales activan diferentes cinasas. Una de estas cinasas claves en muchas vías de señalización es la PKB o AKT; entre ellas la vía que estimula el movimiento de los transportadores de glucosa (GLUT4) a la membrana celular y la activación de los factores de transcripción de los genes blanco de la insulina relacionadas a la síntesis del glucógeno (GSK-3). La diabetes mellitus se debe a defectos de la señalización de la insulina (resistencia a la insulina).

Las diferentes vías de señalización molecular con frecuencia se interconectan y forman redes muy complejas de comunicación cruzada, y de convergencia y divergencia de señales (Figura 12.2) (Hancock, 2010; Karp, 2011). Las señales pueden ser transmitidas por un receptor unido con una proteína G, con una integrina y una RTK y converger en Ras, para ser transmitidos a lo largo de la cascada de cinasas de MAP. Un ejemplo de comunicación cruzada entre dos vías principales de señalización, es la movilización intracelular de la glucosa, por medio de activar la vía de cinasa dependiente de cAMP (PKA), y fosforilar e inhibir a Raf, en la cascada de las cinasas MAP.

Las principales vías de señalización en las cuales los ligandos se unen a sus receptores y el mensaje es transmitido por segundos mensajeros son: la vía MAPK/ERK, la vía dependiente del cAMP y la vía IP₃/DAG. Algunas de las vías relacionadas en el desarrollo embrionario son la vía del factor de crecimiento

transformante β , la vía de Notch, la vía Hedgehog, la vía Wnt, y la vía de los receptores parecidos a *toll* (Ng y Surani, 2011).

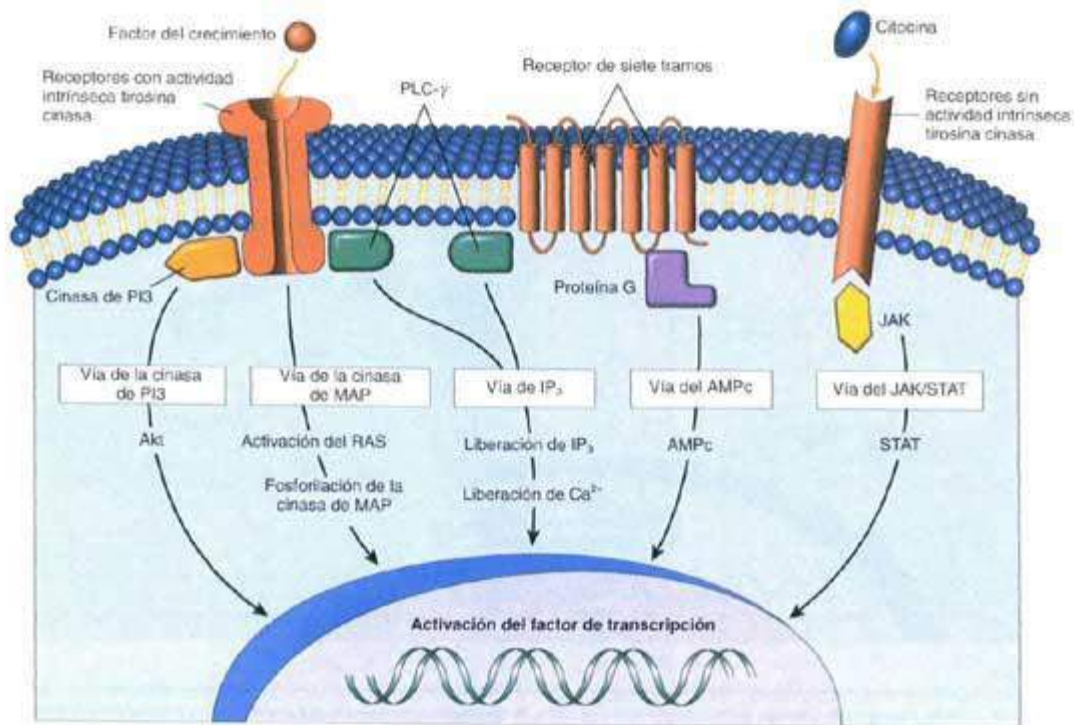


Figura 12.1 Tipos de receptores de la superficie celular y vías de transmisión de la señal. Disponible en www10.uniovi.es/anatopatodon/modulo5

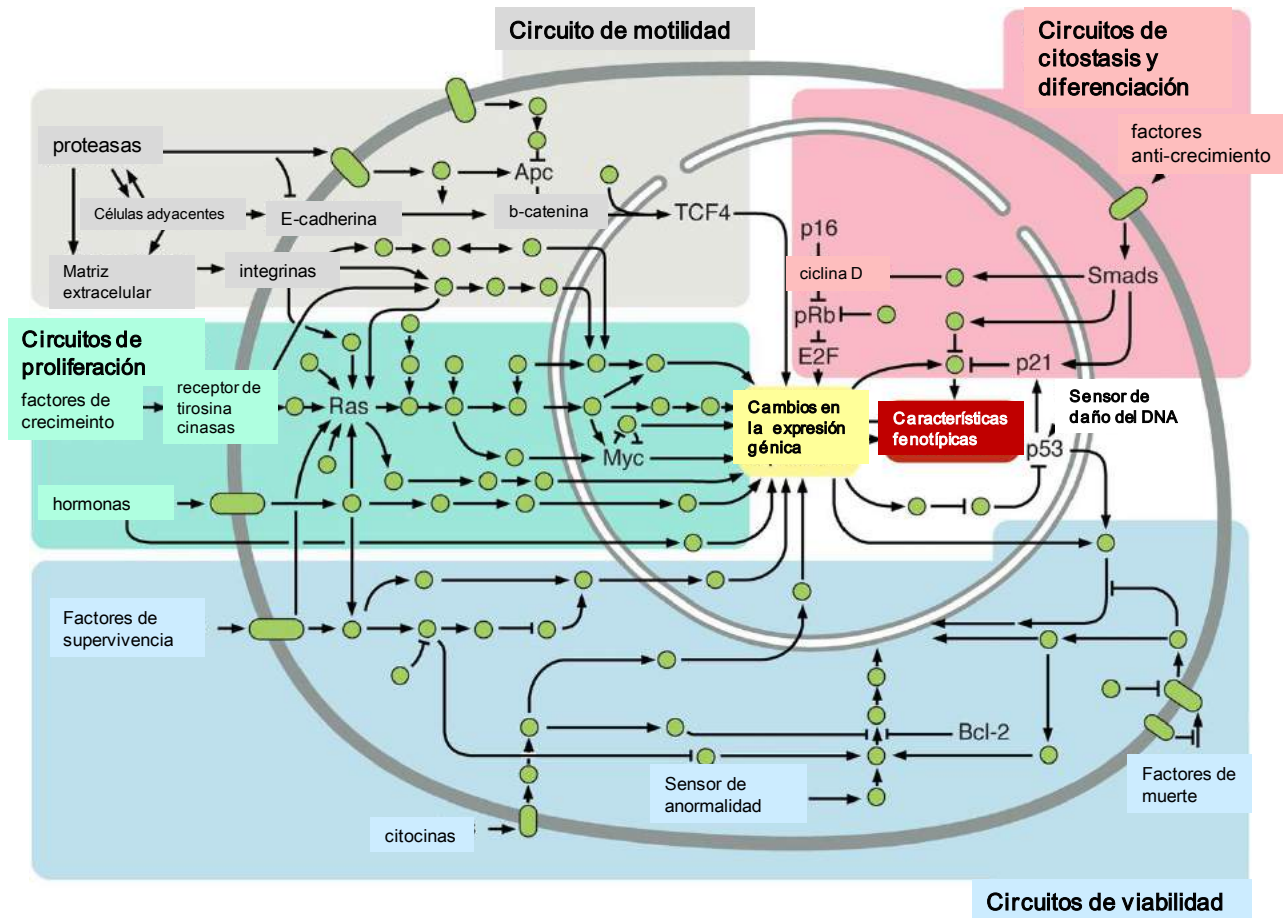


Figura 12.2 Principales circuitos de redes de señalamientos que participan en el desarrollo de la célula cancerosa, todos ellos se encuentran interconectados (Modificado de Hanahan y Weinberg, 2011).

Referencias

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Bioquímica. 6th ed. Reverté, 2008. Traducción de *Biochemistry*. New York: W.H. Freeman & Co, 2007; p1-1152.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-674.

Hancock JT. Cell signaling. 3th ed. Oxford University Press Inc. New York; 2010; p1-334.

Karp G. Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos. 6th ed. McGraw-Hill, 2011. Traducción de *Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments*. New York: John Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765.

Ng HH, Surani MA. The transcriptional and signaling networks of pluripotency. *Nat Cel Biol* 2011;13:490-496.

Sección III. Funciones celulares básicas y complejas

Capítulo 13

Nutrición y metabolismo celular

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

Entre las divisiones celulares, las células crecen a través del metabolismo celular. El metabolismo celular es el proceso por el cual, las células transforman sus moléculas nutritivas. El metabolismo presenta dos grandes procesos, el catabolismo, en el cual, las células rompen macromoléculas para producir ATP y pequeñas moléculas reducidas (a las cuales se les añaden átomos de hidrógeno); y anabolismo en las cuales las células utilizan dicha energía y poder reductor para realizar el trabajo biológico, particularmente construir biomoléculas complejas (síntesis de proteínas). Los diversos azúcares consumidos por los organismos, pueden romperse en moléculas pequeñas constituidas por seis carbonos, llamada glucosa; a su vez la glucosa puede ser rota y oxidada a través de dos vías: la primera corresponde a la glicólisis, la cual no requiere oxígeno, por lo que es anaeróbica, y solo produce la reducción química de algunas sustancias intermediarias. Las células procariotas utilizan solamente a la glicólisis para obtener energía bioquímica. La segunda vía se denomina ciclo de Krebs o ciclo del ácido cítrico, la cual ocurre dentro de la mitocondria y genera comparativamente a la glicólisis una gran cantidad de ATP.

La síntesis de proteínas inicia dentro del núcleo a través de la transcripción de RNA del gen específico. La transcripción es el proceso donde la información genética del DNA es empleada para producir una cadena complementaria de RNA. Este RNA es modificado después de la transcripción por enzimas particulares, recortándole selectivamente zonas no codificadoras y empalmando sus porciones, para formar el RNA mensajero definitivo, el cual es expulsado fuera del núcleo. El mRNA actúa como codificador de la traducción y síntesis de las proteínas en los ribosomas, al traducir la señal específica de un codón, unidad de tres nucleótidos a la adición de un correspondiente aminoácido. Los aminoácidos requeridos en esta construcción son transportados al ribosoma por medio de RNAs de transferencia específicos, donde son ensamblados en la secuencia polipeptídica. El nuevo polipéptido se pliega para adquirir una estructura tridimensional molecular. Una vez sintetizada la cadena polipeptídica, puede sufrir modificaciones bioquímicas adicionales en el RE para lograr su activación y/o su direccionalidad (Alberts et al., 2008).

Las células son capaces de sintetizar nuevas proteínas para renovar la planta de proteínas activas, y así modular y mantener el funcionamiento de las distintas actividades de la célula. La síntesis de dichas proteínas ocurre a partir de la información codificada por el DNA/RNA, traducida para la adición de secuencias de los 20 aminoácidos diversos. Cada proteína es generalmente enviada a un sitio particular intracelular, o son secretadas.

La mayoría de las proteínas son sintetizadas por los ribosomas en el retículo endoplásmico rugoso (RER). Los ribosomas contienen RNA, el cual se ensambla y une los aminoácidos para formar o biosintetizar proteínas. La biosíntesis de proteínas

es un proceso anabólico catalizado por enzimas. Por ejemplo, algunas proteínas sintetizadas que serán incorporadas a la membrana celular son transportadas dentro del RER y luego por el aparato de Golgi, en donde las proteínas son procesadas y preparadas para su integración en el sitio específico de la membrana.

El metabolismo es el conjunto de reacciones bioquímicas que ocurren dentro de la célula (Figura 13.1). Estas reacciones pueden agruparse en vías metabólicas que contienen una secuencia de reacciones químicas en las que cada una está catalizada por una enzima diferente. Las vías metabólicas se dividen en dos grandes tipos: catabólicas, en las que los compuestos son degradados y se libera energía (ATP), y las vías anabólicas que conducen a la síntesis de compuestos más complejos y utilizan energía almacenada en la célula para ello. Ambos tipos de vías incluyen reacciones de oxidación-reducción, en las que los electrones se transfieren de un sustrato a otro, lo que aumenta el estado de reducción de un compuesto, e incrementa el estado de oxidación del otro, o viceversa. El estado de reducción de una molécula orgánica, medida por el número de hidrógenos por átomo de carbono, brinda un indicador general del contenido energético de la molécula (Berg et al., 2008).

Las vías catabólicas de los lípidos, proteínas y azúcares convergen en su proceso degradativo común para formar metabolitos comunes (piruvato, acetil-CoA) y conducen a la síntesis de ATP. Un gramo de glucosa al oxidarse por completo hasta CO_2 y H_2O libera 4 kcal (glucólisis y ciclo del ácido tricarboxílico). Los compuestos que se usan como combustibles químicos son compuestos orgánicos muy reducidos, como los lípidos (un gramo al oxidarse produce 9 kcal.) y los carbohidratos.

Las vías anabólicas inician con unos cuantos precursores y utilizan ATP para sintetizar una gran variedad de biomoléculas. En condiciones celulares fisiológicas las reacciones anabólicas y catabólicas son altamente ordenadas y colaboran estrechamente, para mantener un equilibrio energético continuo a pesar de los cambios del medio externo.

Los animales obtienen su energía al consumir moléculas orgánicas y oxidarlas a través de una serie de reacciones catalizadas por enzimas, y forman ATP y NADH. Para mantener este equilibrio la hidrólisis del ATP es acoplado a las reacciones energéticamente desfavorables, como la biosíntesis de macromoléculas. Tres ciclos metabólicos principales actúan en serie (el producto de un ciclo es el sustrato de inicio del siguiente) la glicólisis (ocurre en el citosol), el ciclo del ácido cítrico (matriz mitocondrial) y la fosforilación oxidativa (membrana interna mitocondrial). Los productos intermediarios de la glicólisis y ciclo del ácido cítrico son usados como fuentes de energía metabólica y simultáneamente algunos de ellos son materia prima para la biosíntesis (Berg et al., 2008). Las células almacenan moléculas de glucógeno/almidón y lípidos como reserva alimenticia. Cada gramo de azúcares, grasas y proteínas corresponde a un índice de conversión energético en kilocalorías dentro de las reacciones catabólicas.

El equilibrio energético a nivel celular en un organismo humano se encuentra directamente relacionado con la proporción y cantidad de azúcares, grasas y proteínas que consume diariamente (cantidad en kilocalorías), junto con el consumo energético realizado tanto por su metabolismo basal (0.9 kcal/kg de peso x hora) como por su actividad física realizada (medido en equivalentes metabólicos o METs).

Las enzimas de los lisosomas, además de hidrolizar todo tipo de macromoléculas biológicas que llegan a la célula desde el ambiente externo (bacterias, etc), también tienen una función clave en el recambio de organelos y de macromoléculas, o sea en la destrucción regulada de ellos, este proceso se denomina autofagia. Se ha estimado que una mitocondria puede ser sometida a la autofagia cada 10 minutos en los hepatocitos. Las funciones de la autofagia mantienen la homeostasis energética en condiciones de aporte bajo de nutrientes, lo cual le permite a la célula sobrevivir. Se han identificado algunos genes que modulan diferentes aspectos de la autofagia (ATGs), como los que codifican a las proteína-quinasas ULK1-2, las cuales son inhibidas por mTOR. Los trastornos en el proceso de autofagia se asocian al desarrollo de cáncer y de algunas enfermedades neurodegenerativas (p.e. por almacenamiento de esfingolípidos) (Bronchud et al., 2008).

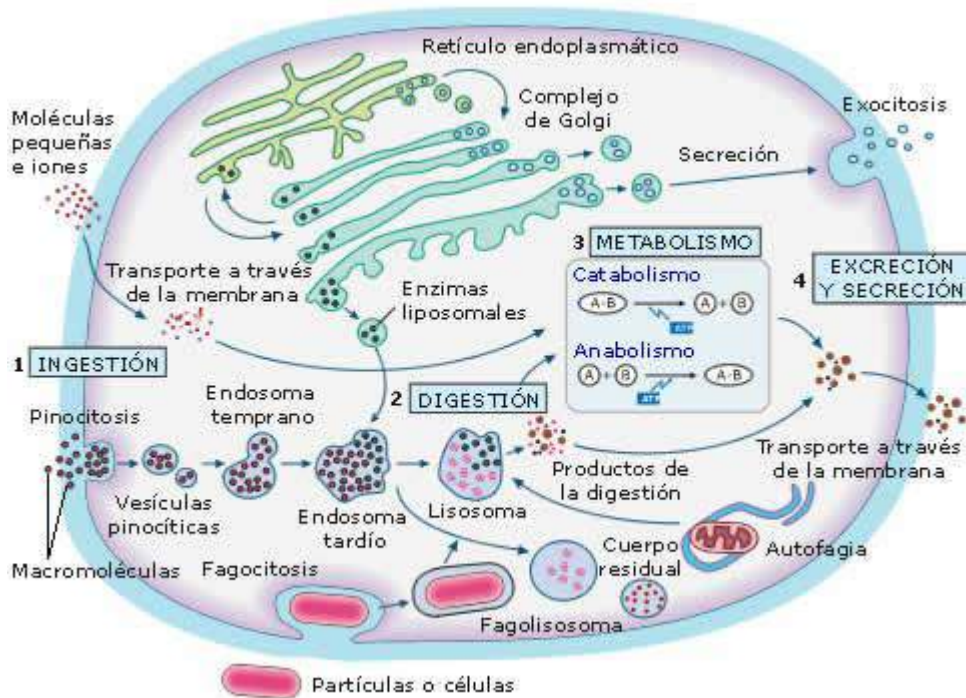


Figura 13.1 Esquema de los procesos de nutrición en una célula eucariota. Disponible en recursos.cnice.mec.es

Referencias

- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.
- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Bioquímica. 6th ed. Reverté, 2008. Traducción de *Biochemistry*. New York: W.H. Freeman & Co, 2007; p1-1152.
- Bronchud MH, Foote MA, Giaccone G, Olofade O, Workman P. Principles of molecular oncology. 3th ed. Humana Press Inc. New Jersey; 2008: p1-398.

Capítulo 14

Reproducción y renovación celulares. Células *stem* y su participación en la homeostasis tisular

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

La división celular implica que una célula original (denominada célula madre o célula *stem*), se divida en dos células descendientes (células hijas). En los organismos multicelulares, la división o crecimiento celular sucede en los tejidos. Las células procariotas se dividen por fisión binaria, mientras que las células eucariotas lo realizan a través de mitosis. Las células eucariotas somáticas en general contienen doble copia de información genética (diploide), mientras que las células eucariotas germinales (gametos) contienen solo una copia de material genético (haploide), y se dividen por el proceso denominado meiosis. Los gametos de dos organismos eucariotas complejos se fusionan en la reproducción sexual (fecundación) para formar una célula *stem* diploide que por medio de los procesos de división celular y diferenciación conduce a la construcción de un organismo eucariota complejo teracelular (10^{12-15} células).

Las células eucariotas pueden o no reproducirse, en general la mayoría de ellas lo hace y esto es extraordinariamente activo durante el desarrollo embrionario y en la fase de crecimiento de los organismos mega/teracelulares. El proceso de división

celular requiere diferentes momentos o fases para su realización, y este proceso puede ser repetitivo o cíclico. Esto ha implicado identificar las fases secuenciales progresivas por las que transita una célula en un ciclo de reproducción o ciclo celular. En el ciclo celular se distinguen dos principales fases (Figura 14.1), la fase activa reproductiva o fase M (mitosis) y la fase menos activa denominada interfase. La interfase es mucho más larga en duración que la fase M y se subdivide en G1 o G0 (las células terminalmente diferenciadas se estacionan en esta fase). En G1 la célula crece y los organelos se duplican (quiescencia), en fase S (fase inicial preparatoria para la duplicación celular), donde se replica el DNA y las proteínas, y la fase G2 que corresponde al periodo siguiente a la S, y previo al inicio de la mitosis. La mitosis se divide en profase, metafase, anafase y telofase; en la profase se forman los cromosomas, durante la metafase los cromosomas individuales se unen con los microtúbulos del huso, en la anafase, las cromátidas hermanas (porciones longitudinales de los cromosomas) se separan y se desplazan hacia los polos para constituir los cromosomas de las células hijas (diploides), y en la telofase se restablece la envoltura nuclear y una serie de redes citoplásmicas membranosas. Finalmente la citocinesis es la constricción de la célula a través de la formación y operación de un anillo contráctil de filamentos de actina. Las fases G1, S, M y G2 se caracterizan por la activación de diversas enzimas que fosforilan sustratos (quinasas) y que dependen para su función de otras proteínas denominadas ciclinas. Las cinasas dependientes de ciclinas (Cdks) son de varios tipos y trabajan secuencialmente, en las células de mamíferos por lo menos ocho ciclinas y seis Cdks distintas participan en la regulación del ciclo celular.

A diferencia de lo que suceden en la mitosis, la meiosis es un proceso de división celular, en el cual al final se obtienen cuatro células haploides, que contienen solo una cromátida de cada par de cromosomas homólogos (Alberts et al., 2008).

Los mecanismos de regulación del ciclo celular están directamente relacionados con controles de retroalimentación de los procesos de replicación del DNA, compactación de cromosomas, duplicación de organelos y de complejos proteicos. Todos estos mecanismos regulan la decisión de duplicación celular en tres puntos principales de regulación del ciclo celular, el tiempo final de G1 e inicio de S, en G2/M y en metafase (control en la mitosis), esto, por la acción de señales intrascelulares y su ejecución mediante un balance estricto de moléculas activadoras e inhibidoras (Figura 14.1). Al finalizar la mitosis, los núcleos de las células hijas reciben una cantidad de material genético íntegro diploide.

Replicación del DNA

Las células para replicarse requieren un proceso complejo de duplicación de la mayoría de los elementos constitutivos estructurales y de los programas genómicos y proteómicos para su funcionamiento. En la división celular cada una de las células hijas recibe una copia del DNA de la célula original. La replicación del DNA corresponde al funcionamiento de una máquina fotocopidora que emplea diferentes enzimas que abren la doble cadena del DNA original y copian una de ellas, al sintetizar una nueva cadena por medio de polimerasas específicas, esto se realiza de manera simultánea en muchos sitios a lo largo de la cromatina, conocidos como sitios de replicación. Al tiempo que la nueva cadena de DNA es sintetizada, es

empaquetada por nucleosomas formados por histonas heredadas de los cromosomas de la cromatina progenitora y por moléculas de histona recién sintetizadas (Delgado-Villar, 2009).

Células stem y su participación en la embriogénesis y en la renovación/reparación tisular

Las células *stem* se encuentran en todos los organismos multicelulares, particularmente en elevada proporción en la embriogénesis (células *stem* embrionarias) y escasa proporción en la adultez (células *stem* en tejidos adultos). Las células *stem* (células madres o troncales o progenitoras) pueden dividirse por mitosis simétrica (dos hijas *stem*), manteniéndose en estado indiferenciado, o mitosis asimétrica (una hija *stem* y una hija en proceso de diferenciarse) con capacidad de formar células especializadas (Figura 14.2). Las dos principales propiedades de las células *stem* son su autorenovación (crear copias de sí mismas) y su capacidad para diferenciarse en células especializadas; por su potencialidad de diferenciación (constitución de células adultas) se denominan, totipotentes (células embrionarias y de la placenta), pluripotentes (células de las tres capas germinales), multipotentes (células de una capa germinal), oligopotentes (tipos de células de un tejido) y unipotentes (solo un tipo de célula) (Li y Clevers, 2010)

Las células *stem* embrionarias pluripotenciales son generalmente aisladas de la masa celular interna del blastocisto. Las células *stem* en tejidos adultos se han aislado de la médula ósea, del tejido adiposo y de la sangre; pero también de la sangre del cordón umbilical y del líquido amniótico.

El estudio de las células *stem* se ha facilitado por la generación de líneas celulares, cuyo cultivo requiere condiciones que impidan su diferenciación. La mayoría de las líneas celulares de células *stem* embrionarias (ESC) son pluripotentes, obtenidas en la etapa del blastocisto (constituido por 50-150 células, a 4-5 días posfecundación), y pueden diferenciarse de todas las células adultas (del ectodermo, endodermo y mesodermo). Las ESC humanas son identificadas por la expresión de diferentes factores de transcripción (p.e. OCT-4, Nanog, y SoxX2) los cuales suprimen los genes que conducen a la diferenciación celular, y por algunas proteínas en la membrana celular (SSEA3-4, y Tra 1-80).

A las células madre de tejidos adultos se les llama células *stem* somáticas (SSC), se encuentran en niños y en adultos, y se emplean para mantener la homeostasis tisular, sustituyendo a las células muertas por apoptosis o por lesiones externas. Las SSC comparativamente a las células en procesos de diferenciación (multipotenciales, oligopotenciales) son difíciles de distinguir. Las SSC corresponden a células pluripotentes las cuales son muy escasas en los tejidos, incluso en la sangre del cordón umbilical. La mayoría de las SSC son multipotentes con capacidad de diferenciación a células de una sola capa germinal o de sólo un tejido, como las células *stem* mesenquimales, las células *stem* de adipocitos, etc. Un tipo de SSC, las células *stem* hematopoyéticas (HSC) son empleadas como tratamiento médico desde hace más de cuatro décadas, a través del trasplante de médula ósea (Gratwohl et al., 2013).

El uso de las ESC en proyectos de investigación y en protocolos de tratamiento se encuentra impedido por objeciones éticas, ya que la obtención de estas células

implica la destrucción de un embrión humano. La alternativa para ello en los años recientes ha sido el empleo de una fuente alternativa de células *stem* autólogas obtenidas a partir de células somáticas diferenciadas. Éstas se pueden obtener al inducir la generación de células *stem* pluripotentes a partir del empleo de métodos que reprogramen genéticamente el fenotipo de células terminalmente diferenciadas (fibroblastos) a células *stem* pluripotentes/multipotentes, y una vez obtenidas, dirigirlas *in vitro* hacia su diferenciación de las células especializadas requeridas, por medio de la exposición de condiciones selectivas (Takahashi y Yamanaka, 2006; Takahashi et al., 2007). Este proceso complejo representa grandes potencialidades para mejorar diferentes enfermedades crónico-degenerativas o condiciones patofisiológicas humanas; sin embargo, actualmente presenta varios limitantes y riesgos.

La identificación de células madre neuronales y su neurogénesis en el cerebro adulto marcó un hito biológico en el concepto de la posibilidad de regeneración celular (Breuning et al., 2011).

El ciclo celular

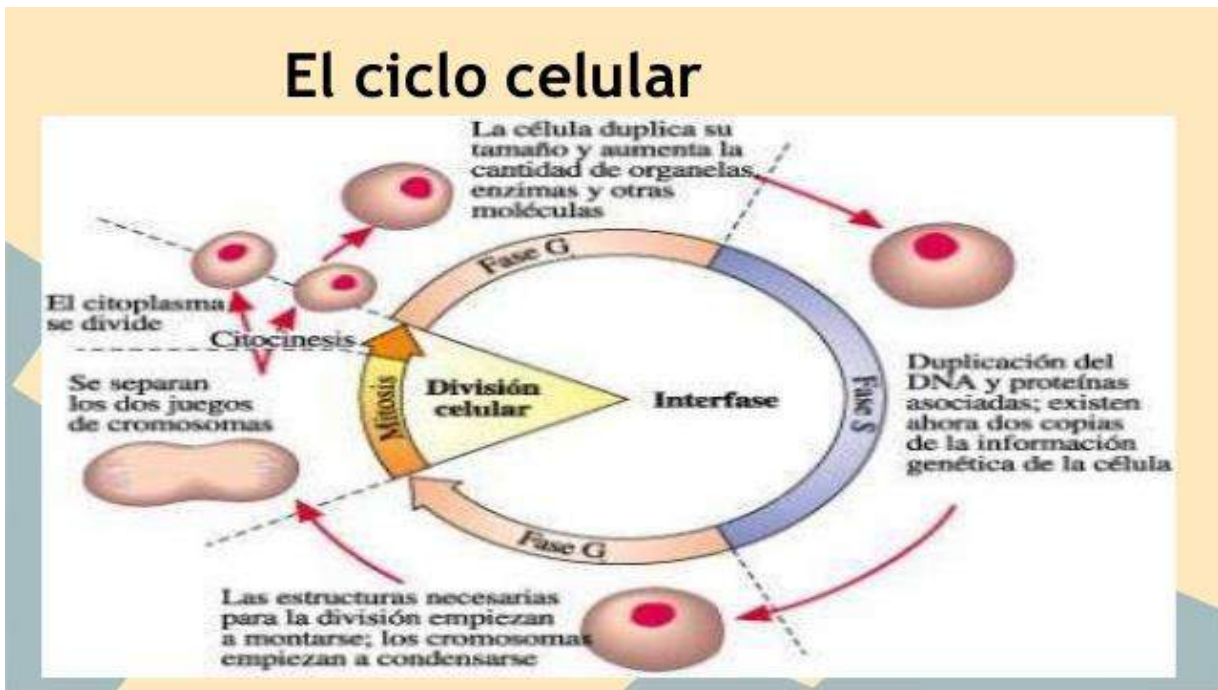


Figura 14.1 Esquema del ciclo celular en las células eucariotas. Lerebous C-2014.

Disponible en es.slideshare.net

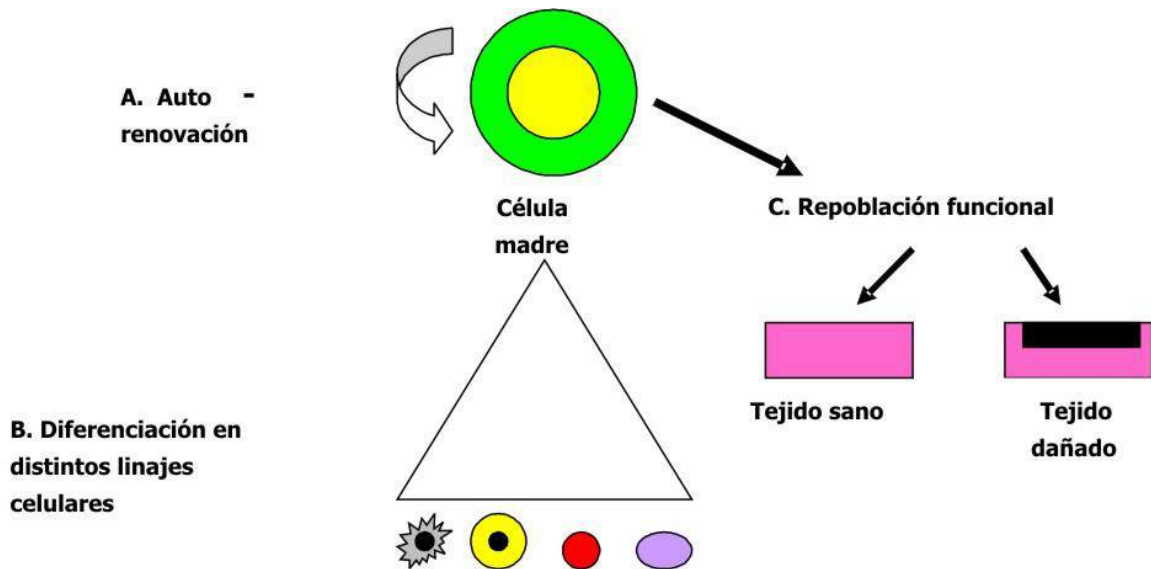


Figura 13.2 Esquema de las principales propiedades de las células madre o *stem cells* somáticas; son células multipotentes capaces de autorenovarse o diferenciarse a distintos linajes celulares. Disponible en lacelulaborracha.blogspot.mx

Referencias

Breunig JJ, Haydar TF, Rakic P. Neural stem cells: Historical perspective and future prospects. *Neuron* 2011;70:614-625.

Delgado-Villar MD. Modificaciones de la cromatina, regulación génica y cáncer. En Ortiz Melon JM, cascales MA, editores. *Redes de señalización y estrategias terapéuticas*. Madrid: Real academia Nacional de Farmacia 2009;pp. 139-160.

Gratwohl A, Baldomero H, Passweg J. Hematopoietic stem cell transplantation activity in Europe. *Curr Opin Hematol* 2013;20:485-493.

Li L, Clevers H. Coexistence of quiescent and active adult *stem* cells in mammals. *Science* 2010 ;327:542-545.

Takahashi K., Yamanaka S. "Induction of pluripotent *stem* cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors." *Cell* 2006; 126:663-676.

Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., Narita M., Ichisaka T., Tomoda K., Yamanaka S. "Induction of pluripotent *stem* cells from adult human fibroblast by defined factors." *Cell* 2007; 131(5):861-872.

Polaridad, adhesión, y migración celular

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

La propiedad de polarización de moléculas y suborganelos dentro de una célula es activada por señales externas como sustancias quimiotácticas o por el contacto con otras células. Los mecanismos moleculares de la maquinaria de polarización han sido estudiados en el proceso de formación de brotes de apareamiento de las levaduras, en donde grupos de receptores asociados a proteínas G (p.e. CDC42), y proteínas cinasas se colocan en el sitio del brote y modulan la extensión de microfilamentos del citoesqueleto. La asimetría o polaridad de las células es una característica de distintos tipos celulares, esto es evidente en las células epiteliales y en sus correspondientes células cancerosas. En las células epiteliales se demuestra polaridad en la membrana celular (polaridad apicobasal y basolateral) y en la distribución de organelos (aparato de Golgi, centrosoma o cilio primario) (Figura 15.1). Las uniones celulares (uniones estrechas y uniones adherentes) se distribuyen diferente en la membrana apical (contacto con el exterior del cuerpo) que en la membrana basal-lateral (conectan a las células epiteliales entre si y con la lámina basal subyacente); asimismo los complejos protéicos como PAR y Crumbs se ubican en la región apical y los Scribble en la porción basolateral. La polaridad de las células epiteliales depende de la distribución de los filamentos de actina,

intermedios y microtúbulos unidos a diferentes moléculas de adhesión celular (Ray y Lechler, 2011) (Figura 15.2). Además de las células epiteliales, la importancia de polaridad de moléculas y suborganelos se ha demostrado en protusiones neuronales, y en el proceso de la motilidad celular.

Particularmente las sustancias químicas que impiden la polarización de la tubulina para formar los microtúbulos, o que destruyen la actina, alteran la polaridad de muchas células. Esto se debe en parte, a que diferentes vesículas y moléculas (PIP3, PTEN y CDC42) son transportadas a través de esos filamentos y modifican su distribución en la parte interna de la membrana celular y en los receptores específicos de señales para la adhesión y migración celular. Estudios recientes han determinado que las moléculas que participan en mantener la polaridad celular, regulan también la división celular de las células madre epiteliales, a través de orientar el eje mitótico; por lo tanto las alteraciones de esta maquinaria molecular, conduce a trastornos de diferenciación celular y carcinogénesis (Yamashita, 2010) (Figura 15.3).

Las células pueden desplazarse durante diferentes procesos fisiológicos y patofisiológicos, como en el desarrollo de los organismos multicelulares, para reparar una herida, en la respuesta del sistema inmunológico o en el proceso de diseminación a distancia de células que componen un tumor maligno (metástasis), o en algunas condiciones asociadas de retardo mental. Las células a menudo migran en respuesta o hacia señales microambientales, proceso conocido como quimiotaxis; por ejemplo la ameba *Dictyostelium discoideum* tienen quimiotaxis hacia el AMP cíclico.

La migración de las células es generalmente lenta, de aproximadamente pocos micrómetros por minuto. En la reparación de una herida, los glóbulos blancos y las células que fagocitan las bacterias (macrófagos), se desplazan al sitio de la herida para destruir a los microorganismos que causan la infección; inmediatamente después las células del tejido conectivo, principalmente los fibroblastos se dirigen para remodelar las estructuras dañadas. En el caso del proceso de diseminación metastásica, algunas células del tumor primario se separan de éste y se diseminan en el cuerpo por las vías linfáticas y venosas (Katto y Mähknecht, 2011).

En la motilidad de las células participan una gran variedad de moléculas que conforman receptores y vías de señalización, las cuales modifican las propiedades de adhesión celular y motilidad a partir de cambios en la localización y activación de los microfilamentos del citoesqueleto junto con moléculas de anclaje a la membrana celular, como integrinas/cadherinas. En general, el proceso de motilidad implica tres pasos cíclicos: protusión de un borde frontal de desplazamiento (por polimerización de actina), adhesión de este borde a las estructuras tisulares hacia adelante a partir de la contracción del citoesqueleto, y separación a estas estructuras tisulares. Cada paso está conducido por las fuerzas físicas generadas por la coordinación en la contracción de diferentes segmentos del citoesqueleto que interaccionan extensa e íntimamente con la membrana celular. Por lo general el arrastramiento celular se efectúa mediante una proyección aplanada, similar a un velo, llamada lamelipodio, que se forma en el borde de avance de la célula. Cuando el lamelipodio sobresale de la célula, se adhiere al sustrato subyacente en puntos específicos y esto brinda sitios de anclaje temporal para que la célula se arrastre

entre ellos. La protusión del lamelipodio se acompaña de nucleación y polimerización de los filamentos de actina (Yamashita, 2010).

Las células pueden migrar también por medio de su capacidad de nadar, como el caso de los neutrófilos en el torrente sanguíneo (Royer y Lu, 2011). Estos pueden asimismo, migrar en superficies sólidas dirigidos por señales de sustancias que los atraen (p.e. IL-8, INFgama, C5a y leucotrieno B4). Las bacterias y los espermatozoides nadan a través de impulsarse y desplazarse por medio de flagelos, y los paramecios lo hacen por medio de cilios.

La contracción de las fibras del músculo esquelético se debe al deslizamiento de filamentos delgados de actina sobre los filamentos gruesos de miosina en el centro de las sarcómeras.

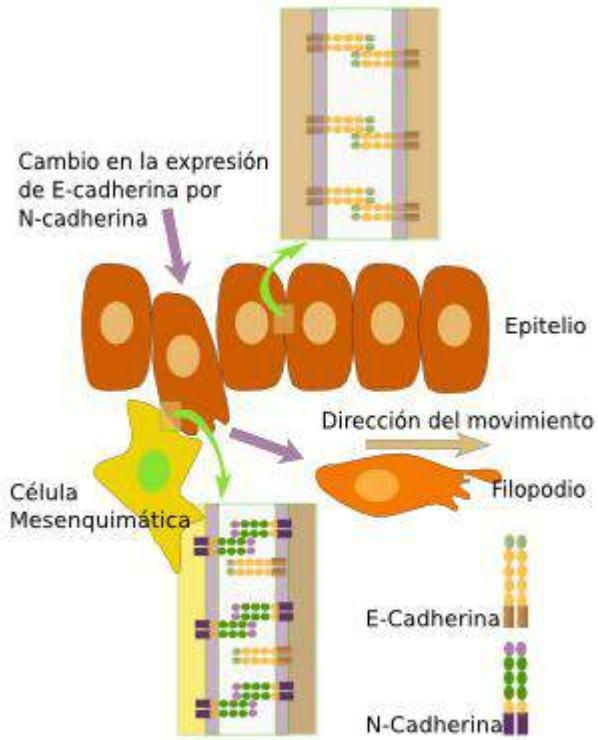


Figura 15.1 Las moléculas de adhesión regulan la polaridad y migración de las células. Atlas de histología vegetal y animal. Disponible en webs.uvigo.es

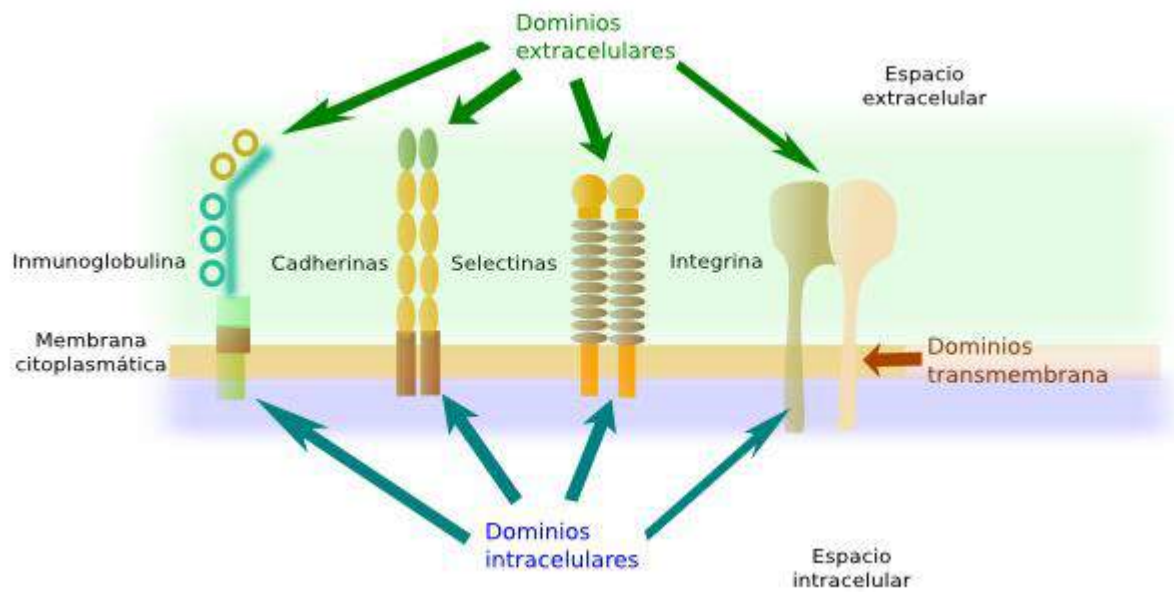


Figura 15.2 Principales moléculas de adhesión celular, en las cuales se identifican sus dominios extracelulares, transmembranales e intracelulares. Atlas de histología vegetal y animal. Disponible en webs.uvigo.es

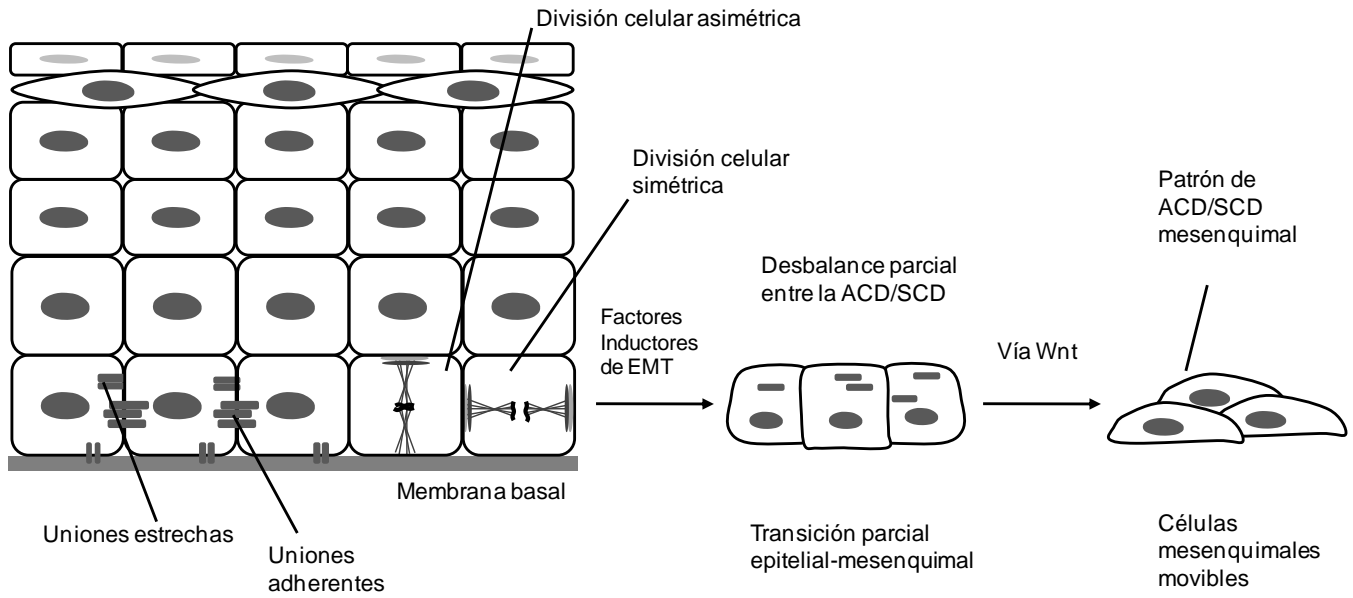


Figura 15.3 División celular fisiológica de las células *stem* epiteliales y su inducción experimental de transición epitelial-mesenchimal (EMT). Se observa la interacción entre los cambios en el tipo de división celular simétrica-SCD/asimétrica-ACD con los cambios de polaridad/motilidad celular (Ray y Lechler, 2011)

Referencias

Yamashita YM. Cell adhesion in regulation of asymmetric stem cell division. *Curr Opin Cell Biol* 2010;22:605-610.

Katto J, Mahlknecht U. Epigenetic regulation of cellular adhesion in cancer. *Carcinogenesis* 2011; doi:10.1093/carcin/brg120.

Ray S, Lechler T. Regulation of asymmetric cell division in the epidermis. *Cell Division* 2011;6:12.

Royer C, Lu X. Epithelial cell polarity: a major gatekeeper against cancer? *Cell Death Differ* 2011;18:1470-1477.

Capítulo 16

Diferenciación y especialización celular

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

La diferenciación celular corresponde a un proceso fundamental para mantener la homeostasis celular. Por su elevada complejidad, solo en los últimos años, los cambios moleculares que participan en el proceso de diferenciación celular han empezado a entenderse. Los genomas son el centro de los mecanismos moleculares y de las propiedades físicas/morfológicas de las células (fenotipo). El genotipo determina el fenotipo a través de las regulaciones de las vías epigenéticas, transcripcionales y proteómicas (activación de las vías selectivas de señalización intracelulares).

Todas las células somáticas de un organismo mamífero contienen idéntica información genética a pesar de que muestran características morfológicas y funcionales distintas (Figura 16.1). La diferencia radica en cada tipo celular sintetiza y acumula proteínas y RNAs específicos, que dependen de cambios específicos en la expresión génica, los cuales les conllevan a patrones de división/diferenciación y funcionamiento especializado. El cuerpo humano contiene aproximadamente 310 variedades de células, las cuales representan diferentes fenotipos o conductas biológicas. Con el advenimiento de las nuevas tecnologías capaces de precisar y

caracterizar el genoma, el transcriptoma, el proteoma y el estado epigenómico de cada tipo celular, la caracterización de identidad celular se está moviendo progresivamente desde la descripción del tradicional fenotipo (características morfológicas y escasos biomarcadores), hacia indicadores moleculares funcionales del fenotipo celular .

Para entender la diferenciación celular, los investigadores han empleado dos principales modelos biológicos, el del desarrollo embrionario y el de la inducción *in vitro* de células *stem* pluripotenciales (iPSCs) (Valdespino et al., 2013). Durante el desarrollo embrionario, las diferentes células en proceso de diferenciación son expuestas a distintos factores de transcripción y a modificaciones epigenéticas, lo cual contribuye a la iniciación y mantenimiento de patrones específicos de expresión genética (programación del fenotipo celular) (Figura 16.2). Las bases moleculares de cómo las células *stem* embrionarias (ESC) inician o mantienen este programa de diferenciación no están totalmente comprendidas (Iglesias-Bartolome y Gutkind, 2011). Las ESC son fenotípicamente heterogéneas y muestran activación variable de genes de pluripotencialidad de acuerdo al nivel de factores de transcripción y de reguladores epigenéticos. A través del modelo de células *stem* pluripotenciales inducidas (iPSCs), se ha demostrado que los cambios que suceden durante la diferenciación pueden ser reversibles (reprogramación celular del fenotipo). Uno de los principales eventos biológicos que se requieren para que las ESCs o las células *stem* somáticas cumplan las funciones de autorenovación junto con la de generación de progenitoras es realizar división celular asimétrica (Surani et al., 2007).

El progreso en el conocimiento del proceso de diferenciación celular permitirá mejorar los modernos enfoques biomédicos traslacionales en múltiples áreas de la salud y enfermedad como en tratamiento del cáncer o en el área de la medicina regenerativa. Particularmente en esta última, a través de la generación de poblaciones celulares diferenciadas autólogas para su empleo en el tratamiento de diferentes enfermedades crónico-degenerativas (Lodi et al., 2011; Mali y Cheng, 2012). Los eventos biológicos más sobresalientes del proceso de diferenciación celular corresponden a la programación/reprogramación del fenotipo celular a través de modificar o adquirir diferentes funciones celulares como la división celular asimétrica, y de programar/reprogramar la regulación genética/epigenética de la transcripción génica (Figura 16.3) (Plath y Lowry, 2011).

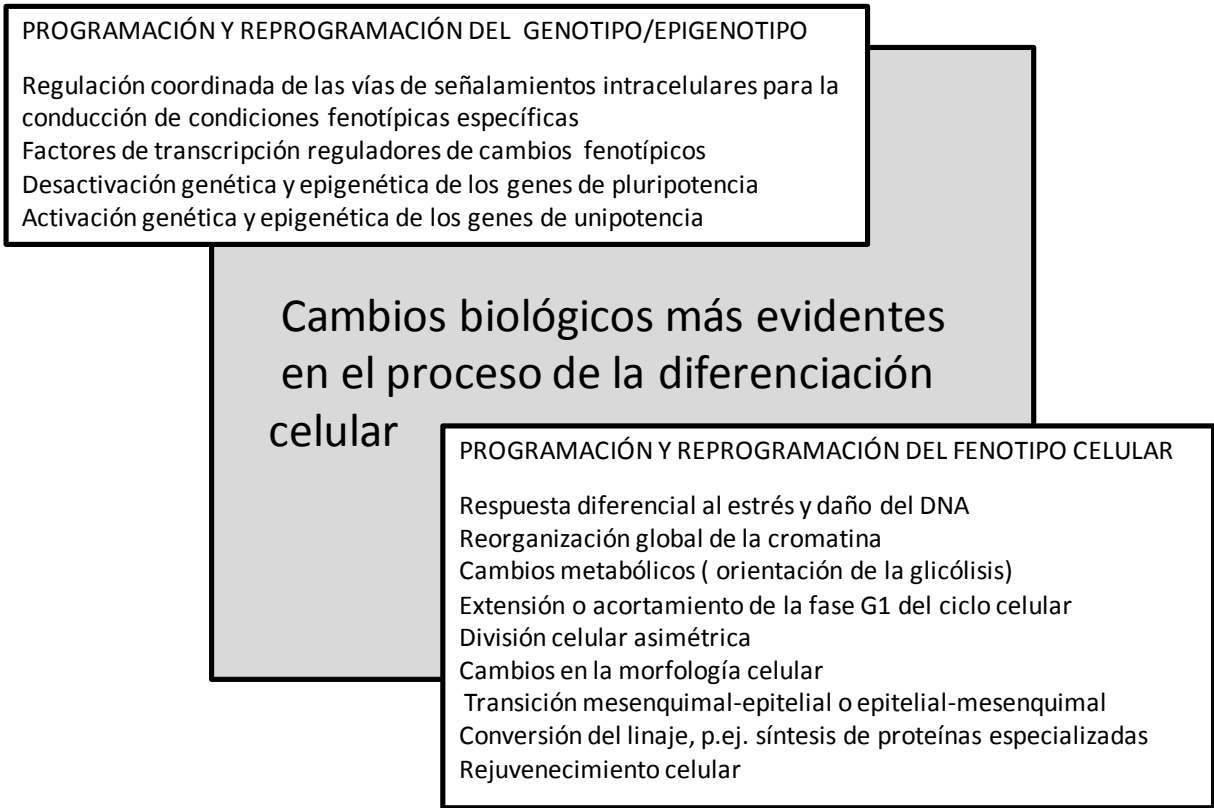


Figura 16.3. Principales cambios subcelulares y moleculares que se presentan en el proceso de diferenciación celular. Las modificaciones en el perfil de transcripción génica debidas a cambios genómicos y epigenómicos son el sustento biológico de la diferenciación celular.

Todas las células diferenciadas de los organismos eucariotas retienen toda la información genética. Diferentes genes se expresan en las células en diferentes estados de desarrollo, en células de diferentes tipos y en células expuestas a diversos estímulos. Globalmente, la expresión génica se regula a nivel del procesamiento del mRNA mediante corte y empalme alternativos, y a nivel

traduccional por complejos proteicos de regulación y por la estabilidad/degradación del mRNA. La activación y represión de la transcripción están mediadas por un gran número de complejos que funcionan como activadores, represores, coactivadores (acetilación de histonas, complejos de remodelación de la cromatina) y corepresores (metilación de dinucleótidos G-C del DNA en regiones clave de regulación).

Las células trabajan a partir de un programa o software genético heredado de sus células ancestrales, particularmente de las células que les dieron origen. Las células heredan códigos de memoria de información (disco duro, hardware), códigos de memoria de empleo de dicha información y códigos de memoria de ruta para el empleo de dicha información (software generales y específicos) (Figura 16.4). Los códigos de memoria de información corresponden principalmente a los mensajes de los diferentes genes en la biosíntesis de las proteínas, y a las secuencias codificantes de nucleótidos en el DNA. Los códigos de memoria del empleo de la información corresponde a los cambios epigenéticos heredados y a los cambios epigenéticos inducidos por el ambiente externo; se representan como cambios bioquímicos menores en el DNA, como patrones de metilación, y cambios en el enrollamiento de la cromatina a partir de cambios bioquímicos menores en las histonas (Iglesias-Bartolome y Gutkind, 2011). Los códigos de memoria de las rutas para el empleo de dicha información, corresponden en parte a la facilitación termodinámica de las reacciones bioquímicas, y a una serie condiciones regulatorias de algoritmos constitutivos o regulados en los procesos de expresión génica e interacciones proteicas. Estos dos últimos códigos de memoria se encuentran actualmente en fase de estudio.

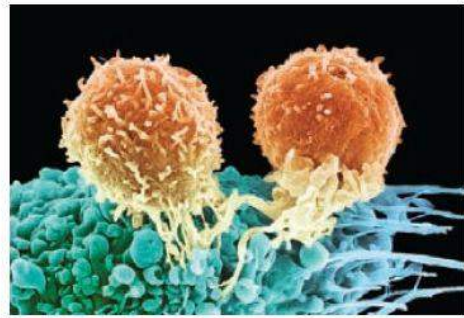
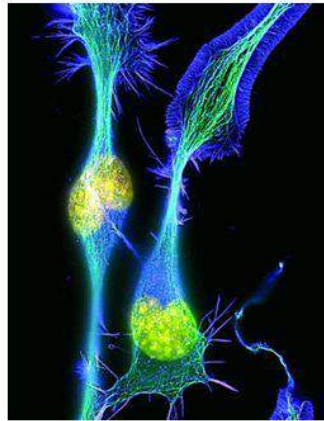
El fenotipo funcional o estructural celular está determinado por el genotipo que funciona a través de los cambios transcripcionales genómicos y epigenómicos y por el funcionamiento de las vías de señalización proteómicas. La variación fenotípica en biología es ubicua y aleatoria y a menudo está directamente relacionada con variación genética y la influencia ambiental. Sin embargo, estudios recientes han identificado que la variabilidad en los niveles de proteínas y de RNA mensajeros se conecta con los mecanismos constitutivos y regulados de la expresión génica.

La formación de los tejidos maduros y de los diferentes tipos de células terminalmente diferenciadas requiere de mecanismos moleculares que retiren las células del ciclo celular y de la proliferación (silenciamiento de genes involucrados en el crecimiento normal), y que al mismo tiempo, activen nuevas vías de señalamientos para mantener un fenotipo celular especializado (genes responsables para iniciar y mantener el fenotipo diferenciado) (Figura 16.4) (Papp y Plath, 2011).

Muy pocos modelos de diferenciación celular han sido estudiados; uno de ellos es la generación de las células beta de los islotes del páncreas (PbC) a partir de la manipulación de algunas vías de señalización intracelulares. Las PbC han sido generadas *in vitro* a partir de ESC, identificando que estas últimas transitan por estados intermedios de mesoendodermo, endodermo definitivo, endodermo intestinal, endodermo pancreático, estado de precursor endócrino, precursores de los islotes y de células maduras beta con expresión de insulina. En cada uno de estos pasos intermedios de diferenciación celular, se activan o se inactivan dos-tres vías de señalamientos moleculares específicos. Las principales vías de señalamientos participantes en estas condiciones fueron la de PI3K, TGF β , Wnt/ β -catenina,

Hedgehog, y Notch , junto con sus diferentes moduladores en cada una (Iglesias-Bartolome y Gutkind, 2011).

Dos células con el mismo genoma y diferente fenotipo



- Los mecanismos de regulación génica son los encargados de la diferenciación celular

Figura 16.1 Loza TH. UNAM. Disponible en slideplayer.es

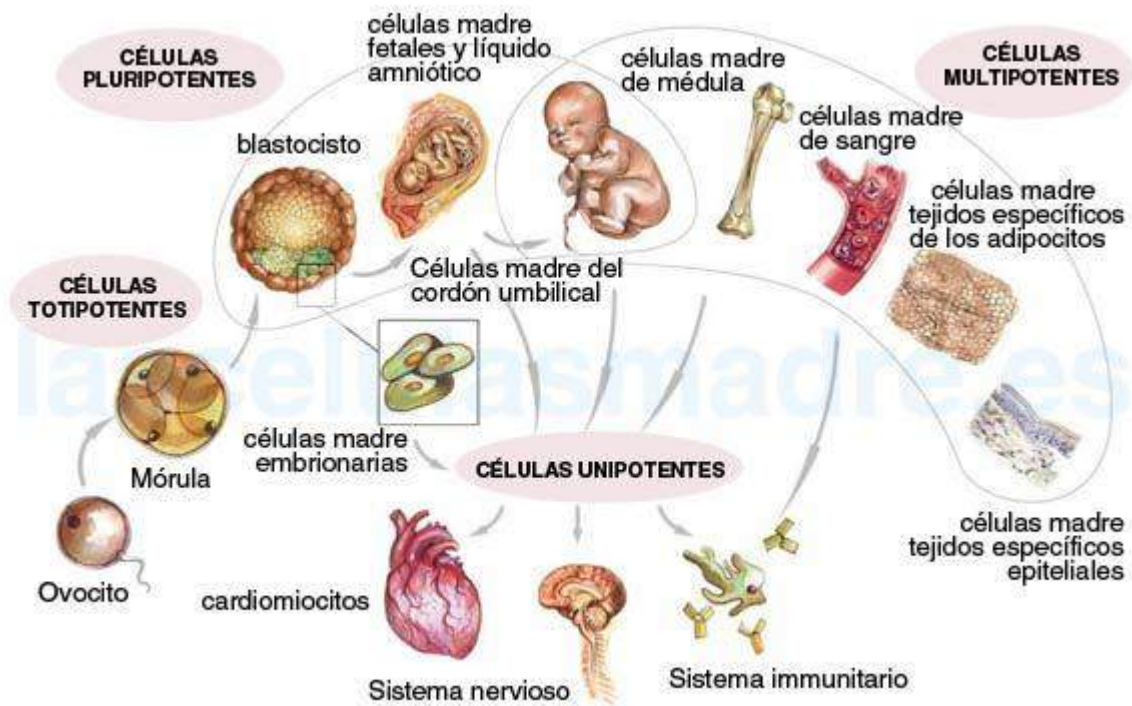


Figura 16.2 El proceso de diferenciación celular permite la transformación de células totipotenciales a pluripotenciales/multipotenciales/oligopotenciales/unipotenciales. Las células madre. Disponible en delatandoalaciencia2.blogspot.mex

Evolución de una estirpe celular

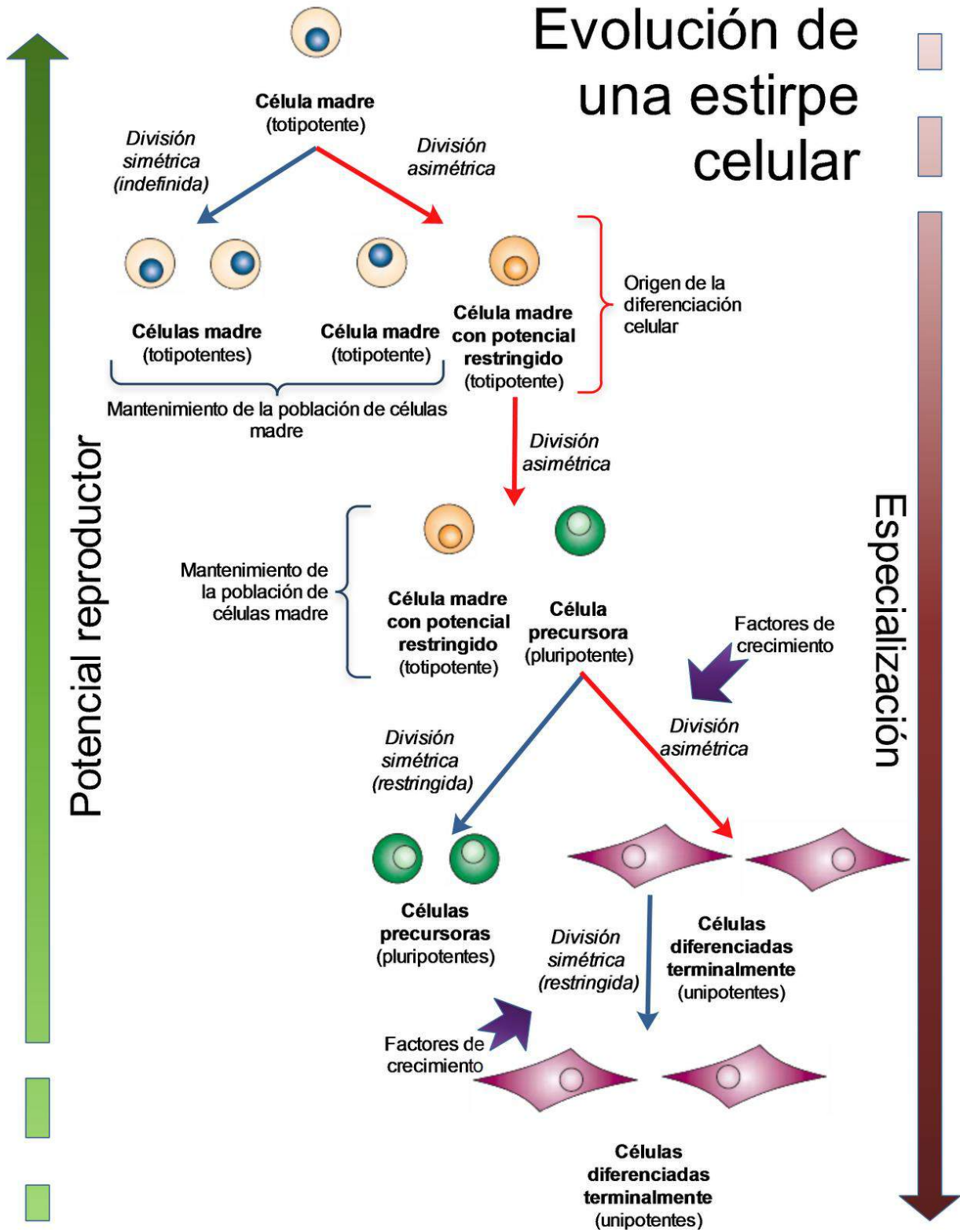


Figura 16.4 Correlación de los procesos celulares de diferenciación con proliferación.

Alda F. Disponible en [b-log-ia20,blogspot.mx](http://b-log-ia20.blogspot.mx)

Referencias

Iglesias-Bartolome R, Gutkind JS. Signaling circuitries controlling *stem* cell fate: to be or not to be. *Current Opin Cell Biol* 2011;23:716-723.

Papp B, Plath K. Reprogramming to pluripotency: stepwise resetting of the epigenetic landscape. *Cell Res* 2011;21:486-501.

Plath K, Lowry WE. Progress in understanding reprogramming to the induced pluripotent state. *Nat Rev Gen* 2011;12:253-265.

Surani MA, Hayashi K, Hajkova P. Genetic and epigenetic regulators of pluripotency. *Cell* 2007 ;128:747-762.

Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006 ;125:663-676.

Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblast by defined factors. *Cell* 2007 ;131:861-872.

Valdespino VMG, Valdespino PMC, Valdespino VEC. Genomic-epigenomic signaling pathways in cellular differentiation process. *Am J Bio Res* 2013;1:35-42.

Capítulo 17

Envejecimiento y muerte celular programada

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

Normalmente las células vivas viajan a través de un proceso temporo-espacial limitado (Figura 17.1) El envejecimiento celular o la muerte celular programada son reguladas por un programa intracelular. El envejecimiento celular es consecuencia del deterioro progresivo de la función y la viabilidad de las células, causando alteraciones genéticas y epigenéticas debidas a lesiones por influencias exógenas y endógenas, como la acumulación de radicales libres (Lopez-Otín et al., 2013) (Figura 17.2).

La muerte celular programada (PCD) es provocada principalmente por apoptosis, mientras que la necrosis corresponde a la muerte celular patológica, la cual es acompañada de reacción inflamatoria circundante. (Figura 17.3). Tanto en el envejecimiento como en la PCD se liberan factores de atrofia, los cuales no han sido identificados en su mayoría, pero en los organismos pluricelulares se han asociado con la disminución de la carga de trabajo, a la pérdida de la inervación, a la disminución del aporte sanguíneo, a una nutrición inadecuada, a la pérdida de la estimulación endócrina y a la senescencia.

Aunque la PCD entre plantas y animales es morfológica y bioquímicamente parecidas, guardan diferencias específicas, particularmente por la presencia de la pared celular y la aparente ausencia de sistema inmunológico en las plantas. Las mitocondrias, en las células eucariotas vivas modulan su condición de la vida y muerte, ya que contienen un repertorio de moléculas que pueden activar el suicidio celular. A través de algunas señales (de células vecinas o de daño del DNA), la mitocondria libera activadores de caspasas que pueden inducir la PCD (Alberts et al., 2008). La PCD de organismos enteros puede ser rápida (estrés agudo) o lenta. Dentro del cuerpo, las células no-útiles son desmanteladas y recicladas para mantener la función tisular; en los organismos viejos el número de células funcionales disminuye debido al predominio de la apoptosis sobre la proliferación celular. La fenoptosis lenta es la inducida por el envejecimiento celular debido a la acumulación de daños por estrés en largos periodos de tiempo. En los humanos la fenoptosis lenta se ha asociado con la producción de metabolitos reactivos de oxígeno (ROS) como radicales libres y peróxidos, y alteraciones en las cinasas Clk-1 y EF2, las cuales bloquean la fosforilación del factor de elongación 2 y por ende la síntesis de proteína (Alberts et al., 2008).

Clásicamente se ha considerado que las células contienen un marcador molecular de envejecimiento localizado en los extremos de los cromosomas, denominados telómeros; éstos están constituidos por segmentos de DNA y cada vez que una célula se divide, se acortan un poco. Algunas células contienen una enzima telomerasa que repone los segmentos perdidos, pero en la mayoría, su acortamiento sigue sin modificarse hasta cierto punto, en el cual, las células dejan de dividirse y entran en un estado latente de senescencia o se mueren. Hoy en día, algunos

estudios demuestran que el acortamiento de los telómeros en los leucocitos, se asocia al riesgo de desarrollar diferentes enfermedades crónico-degenerativas y representan un indicador general del riesgo de mortalidad. El análisis de los telómeros nos aporta una información general de longevidad y riesgo individual de enfermar (Caino et al., 2009).

La decisión de la supervivencia o la muerte celular depende principalmente del equilibrio entre las señales que las fomentan o las que las impiden. La muerte por apoptosis se caracteriza por la compactación general de la célula y su núcleo, con fragmentación de la cromatina por efecto de endonucleasas específicas. La apoptosis está mediada por enzimas proteolíticas llamadas caspasas que activan o desactivan sustratos proteínicos claves mediante la eliminación de una parte de su cadena polipeptídica (Hancock, 2010). Las caspasas son un grupo de proteasas con un residuo clave de cisteína en su sitio catalítico, que se activan en una etapa temprana de la apoptosis, entre los blancos de las caspasas se encuentran diferentes proteínas cinasas, proteínas de la membrana nuclear, proteínas del citoesqueleto y endonucleasas de DNA. Se han identificado dos vías distintas de apoptosis (Lodish et al., 2005), una iniciada por estímulos extracelulares (citocinas, privación de hormonas, factor de necrosis tumoral-TNF) que actúan mediante receptores de muerte como TNFR1; y la otra, desencadenada por estrés celular interno o daño genético irreparable, que actúa a través de la liberación de citocromo c del espacio intermembranoso de la mitocondria y la activación de miembros proapoptóticos de la familia de la proteína Bcl-2. Al final la vía externa e interna (mediada por mitocondrias) convergen mediante la activación de las mismas caspasas ejecutoras, que degradan los mismos blancos celulares. Cuando las

células ejecutan el programa de apoptosis, pierden el contacto con sus vecinas y empiezan a encogerse, al final la célula se desintegra en un cuerpo apoptótico condensado y rodeado por membrana, este programa puede ejecutarse en menos de 1 hora. Este cuerpo es fagocitado por macrófagos especializados, de tal manera que la muerte celular por apoptosis ocurre sin verter el contenido celular al ambiente extracelular, lo cual evita el desarrollo de respuesta inflamatoria local (Karp, 2011).

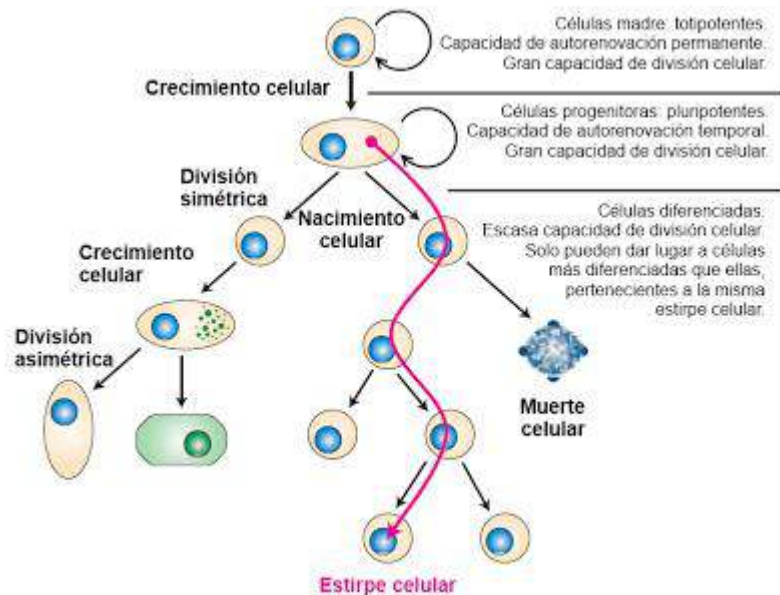


Figura 17.1 Tránsito espacio-temporal biológico de las células humanas. Alda F. Disponible en b-log-ia20.blogspot.mx

A

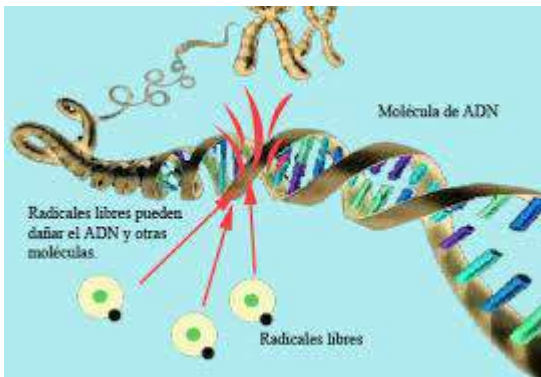
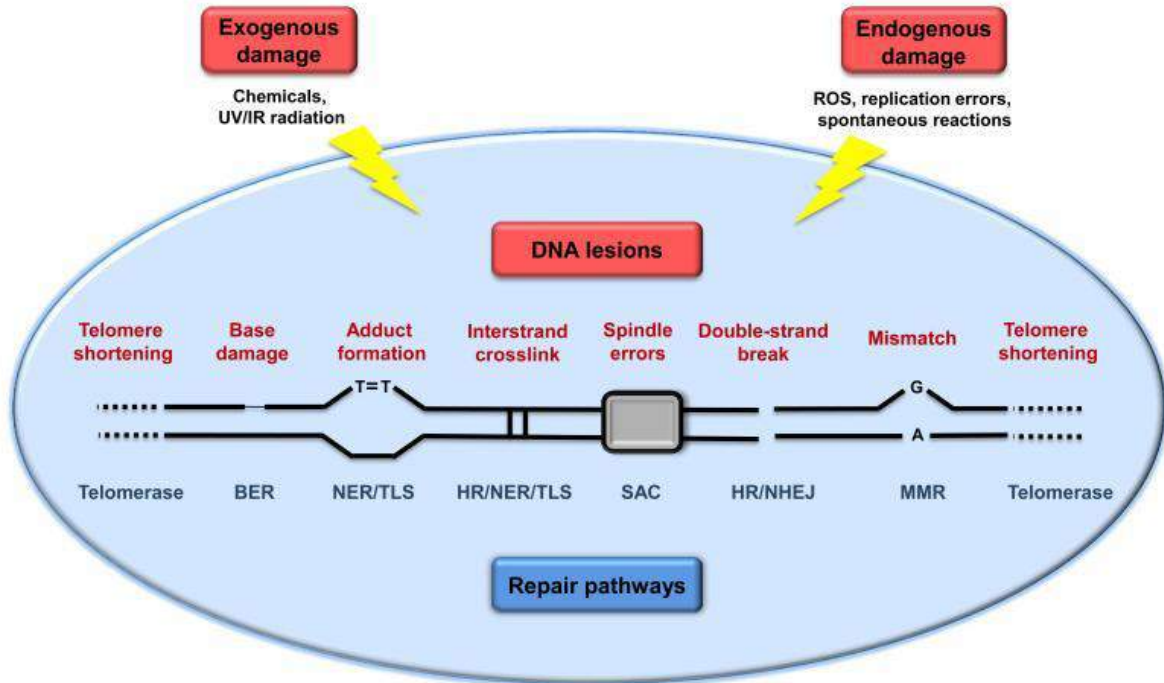


Figura 17.2 Durante el envejecimiento celular, diferentes agentes exógenos y endógenos dañan al DNA nuclear y mitocondrial y acortan los telómeros de los cromosomas (Lopez-Otin et al., 2013)

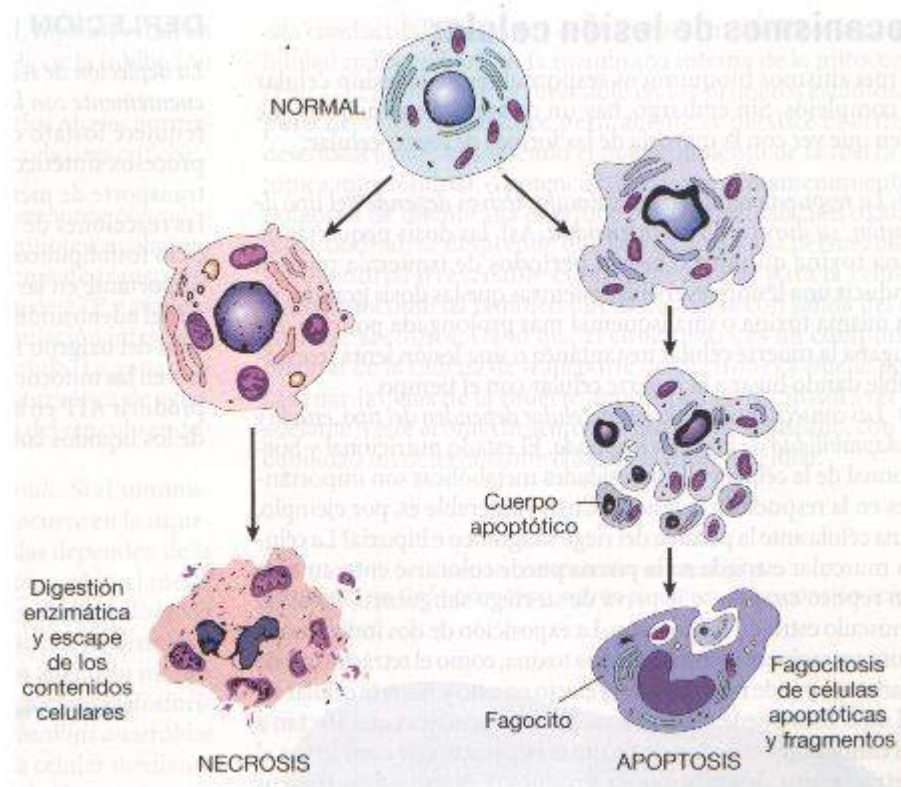


Figura 17.3 Morfología de lesiones por muerte celular. La apoptosis se presenta en condiciones fisiológicas o en condiciones patológicas; la necrosis solo en condiciones patológicas. Disponible en html.rincondelvago.com. Lesión y muerte celular

Referencias

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell.

5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.

Caino MC, Meshki J, Kasanietz MG. Hallmarks for senescence in carcinogenesis: novel signaling players. *Apoptosis* 2009;14:392-408.

Hancock JT. *Cell signaling*. 3th ed. Oxford University Press Inc. New York; 2010; p1-334.

Karp G. *Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments*. 6th Ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765.

Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Scott MP, Bretscher A, Ploegh H, Matsudaira P. *Molecular cell biology*. 6th Ed. New York: W.H. Freeman & Co, 2008; p-1-1050.

Lopez-Otin C, Blasco M, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell* 2013;153:1194-1217.

Capítulo 18

Interacciones entre las células y su ambiente.

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

Cada célula en un organismo multicelular eucariota ha sido programada durante el desarrollo embrionario para responder de manera específica a las señales moleculares extracelulares producidas por otras células. Las señales moleculares actúan en varias combinaciones para regular el comportamiento de la célula blanco. La mayoría de las señales moleculares actúan como mediadores locales, las cuales son biosintetizadas y luego rápidamente son destruidas o inmovilizadas, por lo que actúan solo en las células vecinas, otras señales se encuentran/depositan en la matriz extracelular que rodea la célula (Figura 18.1). Existen dos principales tipos de señales que se producen a distancia, las señales endócrinas, constituidas por hormonas y citocinas (Figura 18.2) que son transportadas por la sangre a las células blanco localizadas en distintos sitios del cuerpo, y las señales nerviosas, que corresponden a neurotransmisores secretados por los axones de las células nerviosas y que actúan a través del contacto de axones sobre células postsinápticas. Como hemos visto las células blanco requieren de receptores específicos que se unen con las señales externas e inician el proceso de traducción/transmisión del mensaje. Las células blanco emplean diferentes mecanismos intracelulares, como circuitos retroalimentadores para ajustar la respuesta celular (Alberts et al., 2008).

Un organismo multicelular representa un conjunto de células que en un momento de la evolución decidieron dejar de competir entre sí y convivir de una forma cooperadora. Una de las consecuencias derivadas de la vida celular en sociedad es jerarquizar los principales grupos celulares de acuerdo a su trabajo biológico, su sobrevivencia, su aporte energético, etc.

Las células para interactuar entre si y con su ambiente, requieren de sistemas de recepción, integración y de respuesta a las distintas señales microambientales (Figura 18.1). Las integrinas son receptores en la superficie celular que median interacciones entre las células y algunas señales microambientales. Las integrinas son proteínas integrales de la membrana celular cuya porciones internas o dominios citoplásmicos interactúan con los componentes del citoesqueleto o proteínas iniciadoras de las vías de señalización intracelular; y cuyos dominios externos poseen sitios de unión para señales extracelulares (Hancock, 2010). Mediante esta ubicación, las integrinas pueden enviar señales “de dentro a fuera” o “de fuera a adentro”. Algunas células contienen en su superficie celular sitios de adhesión focales que las unen a células vecinas. Estas adhesiones focales, junto con los hemidesmosomas contienen cúmulos de integrinas unidas con microfilamentos del citoesqueleto o a moléculas de señalización celular. Además de las integrinas, otras proteínas integrales de membrana como las selectinas, así como ciertos miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas y las cadherinas participan en la adhesión intercelular y concomitantemente en la señalización transmembranal (Karp, 2011).

El DNA está expuesto a muchas influencias ambientales nocivas, como las radiaciones ultravioleta y ionizantes, y a sustancias químicas (radicales libres

generados por el metabolismo normal de la célula y por ciertos medicamentos utilizados en la quimioterapia del cáncer). Las células poseen diferentes sistemas para reconocer y reparar los daños resultantes; se conocen cuatro tipos principales de sistemas enzimáticos de reparación del DNA: los que cortan un nucleótido equivocado y lo sustituyen por uno correcto; los que reconocen una base nucleotídica alterada o que deficientemente se une a la complementaria, la remueven y recolocan otra; o reparan lesiones por cortes de la doble cadena mediante la unión de extremos no homólogos, o recombinación homóloga. En estos sistemas de reparación intervienen múltiples DNA-polimerasas, exo-endonucleasas, fosfodiesterasas, ligasas, etc (Lewin, 2008).

Varios de los sistemas enzimáticos que reparan el DNA también participan en su replicación y en su transcripción. Las consecuencias de deficiencias en la reparación del DNA pueden conducir a mutaciones, inestabilidad de la cadena y secundariamente muerte celular, a envejecimiento acelerado o a carcinogénesis.

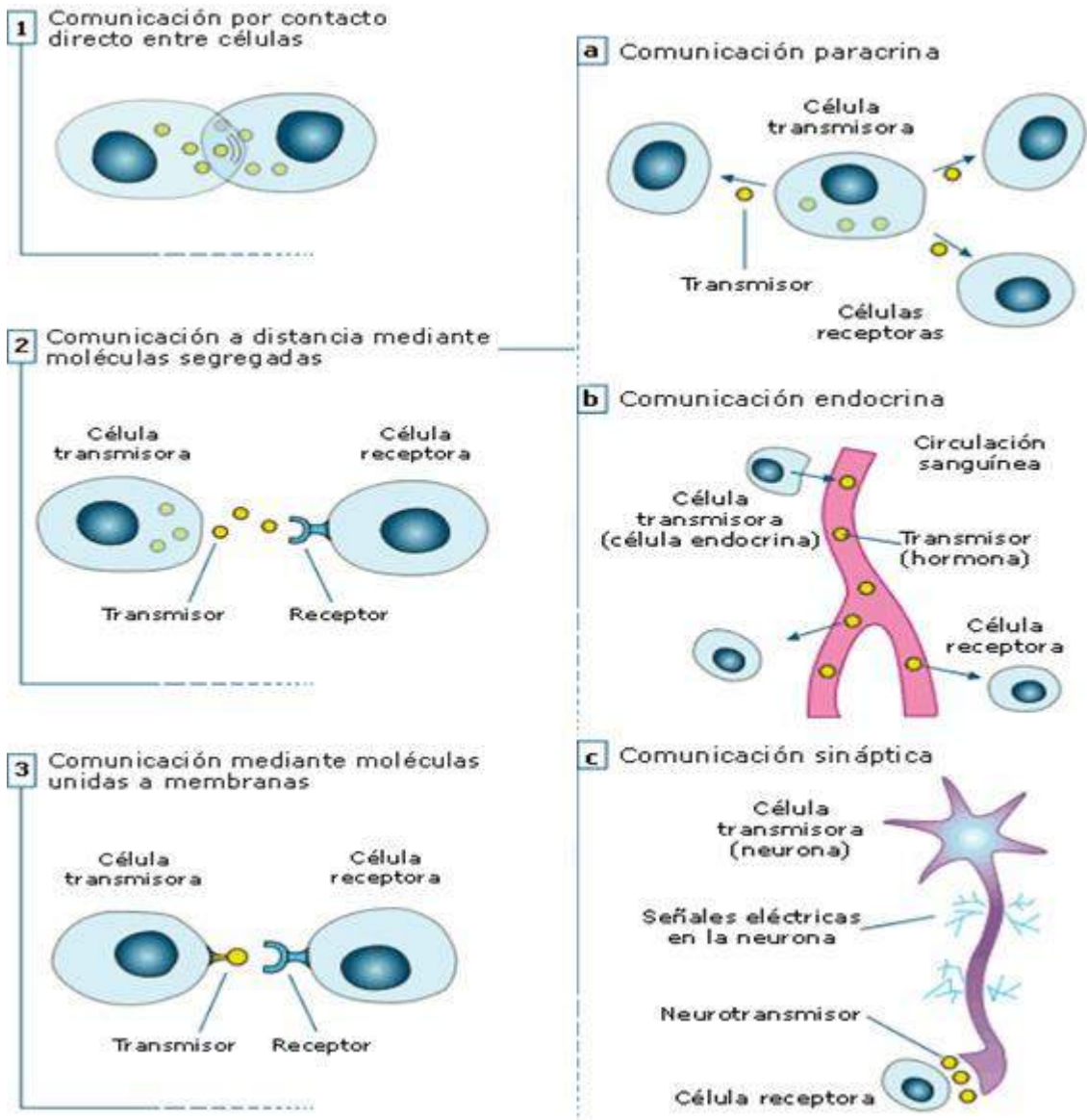


Figura 18.1 Interacciones entre las células predominantes de un tejido (parenquimatosas) son diferentes células del microambiente tisular (estromales). Disponible en <http://mahara.org>. Comunicación celular.

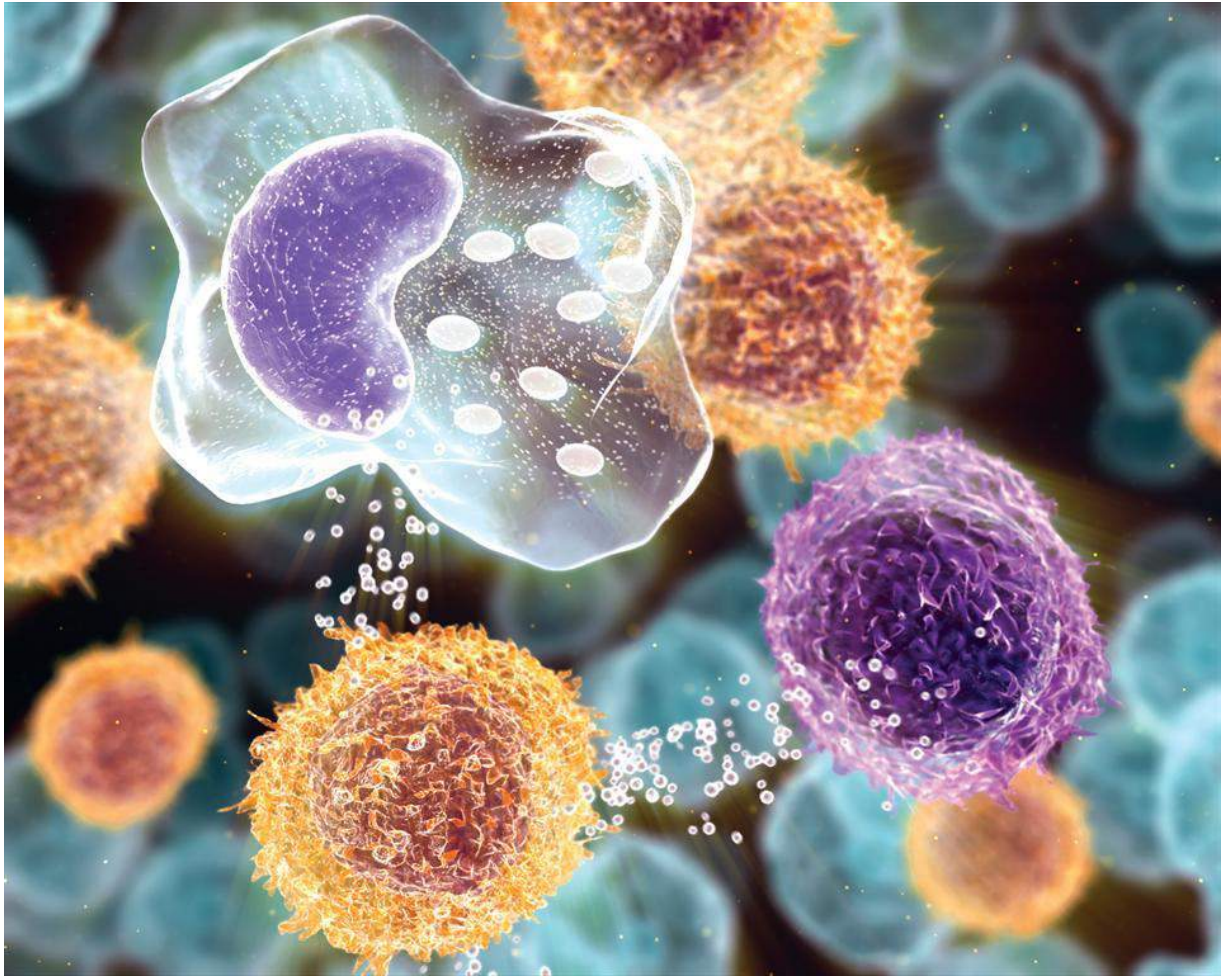


Figura 18.2 Diferentes citocinas en el lecho vascular son las responsables de la interacción celular entre monocitos y linfocitos circulantes (Chiang J et al., PNAS 2012;109:1878-1882)

Referencias

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.

Hancock JT. Cell signaling. 3th ed. Oxford University Press Inc. New York; 2010; p1-334.

Karp G. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments. 6th Ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765.

Lewin B. Genes IX. Boston. Jones and Bartlett Publishers; 2008; p.640-666

Sección IV. Los comportamientos celulares fisiológicos y patofisiológicos en la salud y la enfermedad

Capítulo 19

Entendiendo el comportamiento celular en los procesos de salud y de enfermedad. Modelo de la célula cancerosa

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

Las células para mantener su morfología natural y su funcionamiento requieren tanto de la expresión constitutiva como de la expresión inducida de sus genes; estas condiciones fenotípicas celulares son dinámicas. Los organismos multicelulares normalmente tienen la capacidad de plasticidad fenotípica, o la habilidad de cambiar el fenotipo de grupos de células en respuesta a los cambios en el medio externo, a partir de modificaciones de su maquinaria de reacciones bioquímicas. Aunque este proceso es notablemente evidente en el desarrollo embrionario, estos cambios ocurren menos significativamente durante toda la vida de los organismos.

Los diferentes organismos difieren en su plasticidad fenotípica cuando son expuestos a cambios ambientales similares. La plasticidad fenotípica involucra una serie de reacciones adaptativas para mantener la salud celular y tisular. Esta propiedad de

las células eucariotas es probablemente más importante en los organismos inmóviles (plantas), que en los organismos móviles. Este proceso de adaptación de los organismos pluricelulares en condiciones de cambios ambientales prolongados corresponde al clásico concepto de selección natural de una población, es el mecanismo clave para la evolución biológica. El concepto de selección natural precedió al entendimiento de la genética, como mecanismo de herencia de todos los organismos vivos.

La selección natural de los organismos corresponde a sus adaptaciones fenotípicas que explican su adaptación evolutiva. En la actualidad el concepto de selección natural se entiende como un proceso gradual hereditario, a través de mutaciones y epimutaciones del genoma de un individuo, que son heredados a sus células descendientes. Las condiciones del ambiente causan variaciones en el genoma funcional y concomitantemente variaciones en su fenotipo. Las células u organismos con determinadas variantes fenotípicas difieren por ejemplo en condiciones de sobrevivencia, reproducción, o en funciones particulares más eficientes (condiciones de ventaja biológica), comparativamente a otras distintas variantes fenotípicas. Por todo ello, el concepto de “selección natural” corresponde actualmente al de selección natural fenotípica (Alberts et al., 2008).

Las células/tejidos u organismos tienen diferentes niveles muy sensibles de plasticidad fenotípica para responder, tolerar, reparar, y adaptarse a los cambios externos, o funcionar más eficientemente; lo cual explica la variabilidad de su funcionamiento integral. La selección natural fenotípica de las diferentes unidades biológicas ocurre en todas las etapas de su vida; esto es absolutamente evidente en

el desarrollo de resistencia a antibióticos en las bacterias. Las variaciones genéticas de genes codificantes de proteínas (algunos son reguladores) o regiones no codificantes son provocadas por mutaciones, recombinaciones y epimutaciones, y estas conducen a condiciones ventajosas o no-ventajosas de las células.

Algunas características fenotípicas son gobernadas por un solo gen, sin embargo la mayoría están influenciadas por las interacciones de muchos genes. En esta última condición, la variación de un gen solo tendrá un efecto pequeño en el fenotipo. Cada gen en el genoma, contiene dos versiones, conocidas como alelos, particularmente las variaciones en la expresión de los alelos se relacionan con las variantes fenotípicas. La célula contiene programas fisiológicos o patofisiológicos genómicos pre-establecidos para lograr características morfológicas o funcionales de sobrevivencia a través de tres pasos: selección direccional del gen/alelo de mayor viabilidad, estabilización de la selección (conservación), y compensación de la selección (reajustes). En la selección natural fenotípica aquellas unidades biológicas que desarrollan mutaciones por mala adaptación al medio, son eliminadas (Karp, 2011).

Un ejemplo de alteración de los procesos celulares fundamentales y especializados corresponde a una célula cancerosa. El cáncer es conocido médicamente como una neoplasia maligna, y corresponde a un grupo de aproximadamente doscientas distintas enfermedades, en las que el crecimiento celular junto con otros procesos celulares fundamentales se encuentra desregulado (De Vita et al., 2011) (Figura 19.1). En el cáncer, las células se dividen y crecen incontroladamente, formando tumores malignos e invaden regiones cercanas o lejanas al sitio de origen. Su

diseminación a regiones distantes del cuerpo es por vía linfática y/o sanguínea debido a su alteración en la motilidad celular. Los tumores malignos crecen incontroladamente rompiendo e invadiendo los tejidos vecinos, a diferencia de los tumores benignos que al crecer, solo rechazan y comprimen a los tejidos vecinos.

Las causas del cáncer son múltiples y complejas, particularmente en cada uno de sus tipos, se han identificado factores moleculares insertos en condiciones clínicas de riesgo para su desarrollo. Algunos ejemplos son el tabaquismo, ciertas infecciones, exposición a diversos tipos de radiación, falta de actividad física, obesidad, contaminantes ambientales y alteraciones moleculares relacionados con la reparación del DNA (Bronchud et al., 2008). Estas condiciones pueden directa o indirectamente dañar algunos genes esenciales para evitar su desarrollo, como los genes supresores tumorales, o estimular condiciones intracelulares para su inicio y progresión, como los denominados oncogenes. Aproximadamente de 5 a 10% de los cánceres se presentan como enfermedades hereditarias.

El inicio del cáncer como enfermedad implica una lesión celular, la cual por su crecimiento clonal aumenta exponencialmente hasta formar nódulos volumétricos de un centímetro (10^9 células), o progresar a tumores voluminosos de muchos centímetros o poblaciones celulares tumorales muy numerosas (10^{10-11} células) (Figura 19.2); el tiempo de este aumento celular en los humanos corresponde a varios años y refleja una serie de signos y síntomas clínicos. Médicamente el cáncer puede ser detectado por signos y síntomas, exámenes de detección o estudios médicos de imagenología. El diagnóstico médico del cáncer se realiza mediante el examen microscópico de muestras de tejido (Figura 19.3, Cuadro 19.1). El estudio subcelular más empleado de las células tumorales se denomina estudios de

inmunohistoquímica, y utiliza diversos anticuerpos monoclonales para identificar en las células comportamientos proteínicos específicos. Los estudios aplicativos clínicos genómico, epigenómico y proteómico de las células tumorales son actualmente escasos pero están en aumento, un ejemplo de ellos es el *MammaPrint* que corresponde a la identificación de un patrón de expresión de genes relacionados con la carcinogénesis y progresión en las células del carcinoma mamario, el cual orienta para decidir el tratamiento adyuvante en estas pacientes (De Vita et al., 2011). Se encuentran en proceso un sinnúmero de investigaciones que exploran la utilización aplicativa de perfiles moleculares de asociación en diversos cánceres, junto con otros que a través de su identificación orientan en el empleo de terapias moleculares blanco-específicas. La aceleración de emplear los nuevos conocimientos obtenidos en investigaciones biomédicas básicas dirigidos hacia el uso clínico en esta área de la medicina, ha conducido a la Oncología Traslacional, la cual es solo una parte de Medicina Traslacional, cuya aplicación corresponde a la moderna atención médica integral de los padecimientos.

El cáncer es tratado usualmente con cirugía, radioterapia y quimioterapia. En los últimos años a este arsenal terapéutico, se ha agregado la terapia blanco molecular, cuyo mayor éxito logrado hasta ahora, es el uso de un inhibidor de tirosina cinasas (imatinib) en pacientes con leucemia mielocítica crónica y tumores del estroma gastrointestinal. Algunos anticuerpos monoclonales diseñados para bloquear algunos factores de crecimiento (VEGF, EGF) o sus receptores son empleados con resultados terapéuticos moderados (De Vita et al., 2011).

Las probabilidades de supervivencia a la enfermedad de los pacientes con cáncer varían grandemente de acuerdo al tipo, localización, extensión de la enfermedad y

al inicio del tratamiento. Aunque el cáncer afecta a personas de todas las edades, el riesgo de desarrollarlo se incrementa en edades de adultez y de vejez (relacionados con el envejecimiento celular); en la mayoría de las regiones del mundo, una de cuatro personas adultas, desarrollaran algún tipo de cáncer.

Muchos de los síntomas y signos médicos son reconocidos por el efecto en los procesos celulares fundamentales o especializados de las células. Algunos de ellos son locales o sistémicos; ejemplos de los primeros, son la detección de tumores, síntomas de obstrucción por estrechamiento de tubos biológicos como el esófago, bronquios, etc. (crecimiento celular incontrolado), y úlceras que no cicatrizan y evidencia de sangrados (alteraciones en la reparación tisular/celular); entre el segundo grupo se incluye fiebre, crecimiento de ganglios linfáticos, de vísceras como el hígado, dolor, etc.

El desarrollo de una célula cancerosa depende de mutaciones y epimutaciones del DNA, las cuales impactan en sus procesos de crecimiento, movilidad, metabolismo, etc., y adaptan a la célula a favor de su proliferación (Figura 19.4) (Valdespino et al., 2010; Hanahan y Weinberg, 2011) . Las sustancias que provocan el desarrollo del cáncer se denominan globalmente carcinógenas, y como mencionamos en general el proceso de carcinogénesis es casi específico para cada tipo de cáncer. Diferentes grupos de carcinógenos contaminan el ambiente externo y son transportados a los sistemas megacelulares de nuestros tejidos, como los más de 100 carcinogénos producidos en la combustión de los cigarrillos. Una gran cantidad de sustancias carcinogénicas han sido identificados, entre los principales grupos destacan los químicos, físicos, biológicos, por defectos genéticos, o por condiciones pro-

tumorales microambientales como la exposición hormonal (uso inadecuado de terapia hormonal sustitutiva), etc.

El cáncer es causado por la secuencia de mutaciones en genes clave en la regulación del crecimiento y diferenciación celulares. Desde el punto de vista de los genes afectados en el desarrollo del cáncer, los genes se han dividido en dos principales categorías: los genes supresores tumorales que corresponden a genes que regulan la división celular y la sobrevivencia no fisiológica; y los oncogenes que promueven el crecimiento y la reproducción celular aumentada. La transformación maligna de la célula puede ocurrir a partir de la transmisión/ganancia de oncogenes, sobreexpresión inadecuada de algunos protooncogenes o por la subexpresión o la inactivación de los genes supresores tumorales (Hanahan y Weinberg, 2000).

Estos cambios genéticos pueden ocurrir en diferentes niveles y por diferentes mecanismos (Figura 19.5). Por ejemplo la ganancia o la pérdida de un cromosoma o de una región pueden ocurrir por errores en su segregación durante la mitosis, sin embargo los eventos más comunes son debidos a los cambios en la secuencia de nucleótidos de los genes o mutaciones. El primer gen supresor tumoral que se identificó fue el gen retinoblastoma (*RB*), su proteína pRB, participa en la regulación del paso de la célula de la fase G1 a la S en el ciclo celular. El gen supresor tumoral más conocido el *p53*, su proteína inhibe a través de p21 a una de las cinasas dependiente de ciclinas que permiten progresar a la célula por el ciclo celular. La mayor parte de los oncogenes, derivan de protooncogenes (quinasas citoplasmáticas fisiológicas), los cuales participan como componentes en la transmisión de señalamientos de crecimiento (por ejemplo receptores de factores de crecimiento),

que se inician en el ambiente extracelular y se dirigen a los genes blanco de progresión del ciclo celular. El exceso de receptores de estos ligandos, tornan a la célula sensible a concentraciones menores del factor de crecimiento específico y por tanto pueden facilitar que la célula se mantenga en ciclo celular, lo cual conduce al aumento en la proliferación celular, comparativo al las células normales. Otros oncogenes corresponden a genes mutados de las proteínas que participan en la reparación del DNA (Bronchud et al., 2008), lo cual conduce a inestabilidad génica y múltiples errores en la regulación de genes/proteínas participantes en la transformación tumoral celular.

Las células pueden sufrir distintos tipos de mutaciones; entre las mutaciones de proporciones altas incluyen las amplificaciones o deleciones, que corresponden a ganancias/pérdidas de copias de pequeñas regiones de los cromosomas (a menudo 10-20) las cuales usualmente abarcan uno o más oncogenes/genes supresores tumorales y material genético cercano no codificante (promotores/enhancers). También se pueden producir errores cromosómicos, como en las translocaciones, cuando dos regiones cromosómicas separadas, se fusionan anormalmente, como sucede en el cromosoma Filadelfia en los pacientes con leucemia mielocítica crónica. Las mutaciones de escala pequeña pueden incluir mutaciones nucleotídicas puntuales, deleciones e inserciones, las cuales ocurren tanto en la región promotora del gen y afectar su nivel de expresión, como ocurrir en la secuencia de codificación del gen y alterar la función o la estabilidad de su producto proteico. Un gen puede también ser alterado como consecuencia de la integración del material genético de

un virus de DNA o de un retrovirus, resultando en la expresión de un oncogen viral que afecta a la célula y a sus descendientes (Haber y Settleman, 2007)

El proceso fisiológico de replicación del DNA, por la enorme cantidad de nucleótidos participantes tiene probabilísticamente la posibilidad de errores (mutaciones). Los sistemas enzimáticos de corrección en el proceso de replicación del DNA impiden en condiciones normales estos errores. Si ocurre un error significativo que la maquinaria de corrección que no lo repare, la célula detecta este daño y puede autodestruirse a través del programa de muerte celular o apoptosis. Eventualmente si la detección y/o la reparación del del error fallan, las mutaciones serán heredadas a las células hijas, y esta condición puede corresponder al inicio de la carcinogénesis.

Los carcinógenos pueden provocar errores o complicar las fallas en el proceso de replicación del DNA. Una mutación en la maquinaria fenotípica de reparación del DNA, favorece la acumulación de errores más rápidamente; una segunda mutación en un oncogen y/o en un gen supresor tumoral puede conducir a un efecto más severo para bloquear la apoptosis o en adquirir inmortalidad celular, o influir en el fenotipo de las células cercanas. La transformación de una célula normal a una cancerosa es parecida a una reacción en cadena causada por errores iniciales que progresan a errores intermedios/severos y permiten que la célula escape de sus controles de crecimiento normal en el tejido. Una vez que ha empezado y progresado el proceso de carcinogénesis, las células cancerosas evolucionan clonalmente progresando hacia estados más progresivos de transformación (p.e. convirtiéndose en clonas metastásicas) (Vicente-Dueñas et al., 2009)

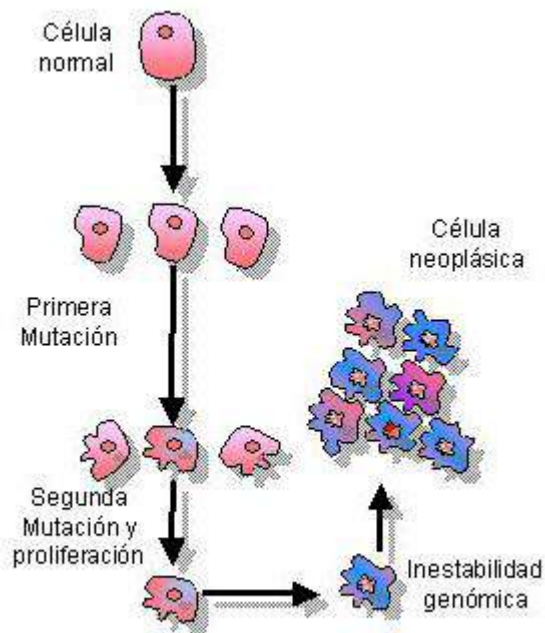


Figura 19.1 Modelo biológico del proceso de transformación de una célula normal a una neoplásica; además de identificarse una primera y segunda mutación en la mayoría de los tumores malignos, se han identificado diferentes epimutaciones. Disponible en cuidandomimundo.com Células cancerígenas

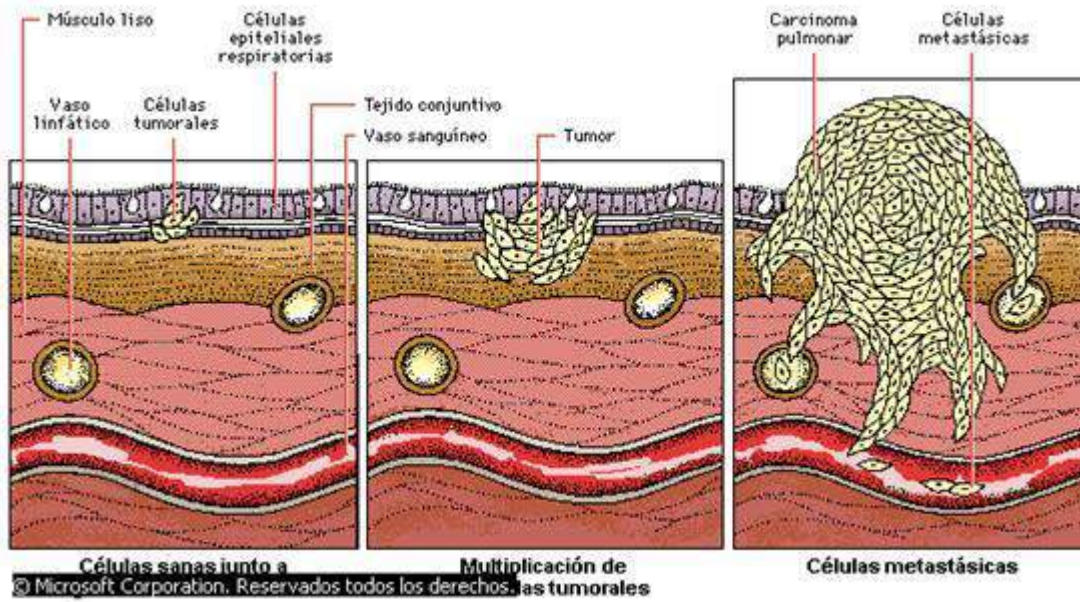


Figura 19.2 Crecimiento progresivo de células tumorales localizado en el epitelio bronquial. Disponible en www.monografias.com –Drogadicción.

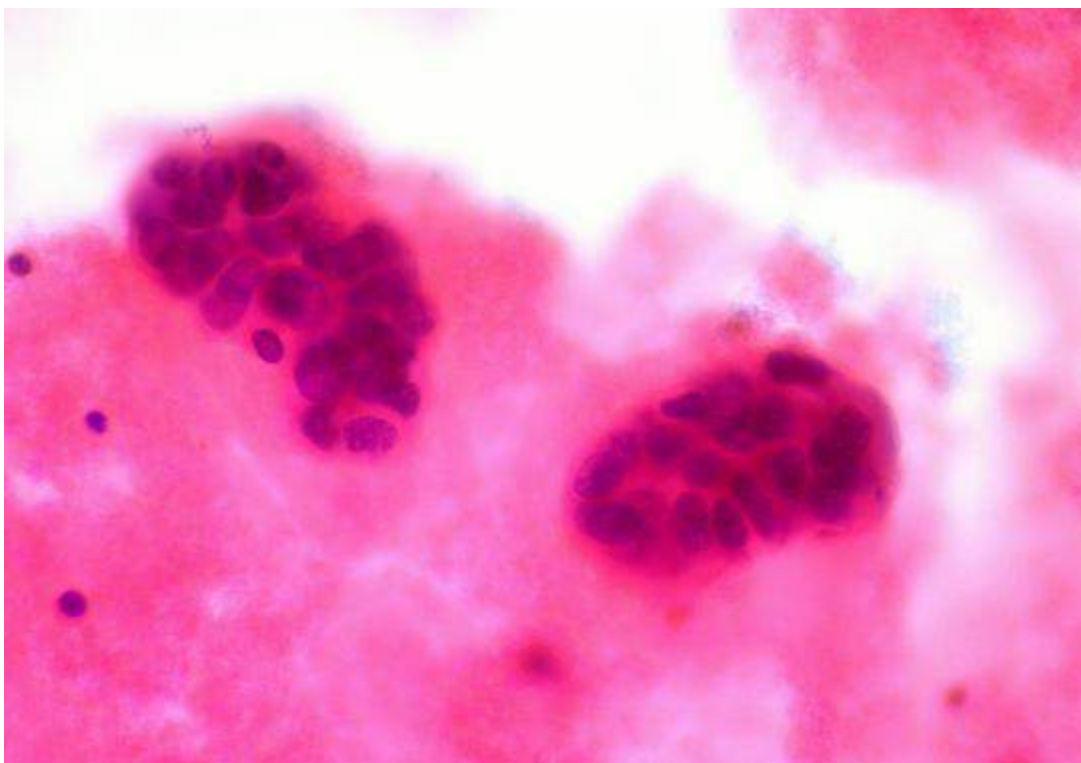


Figura 19.3 Células de cáncer de mama al microscopio. Disponible en www.agenciasinc.es Cancer de mama masculino.

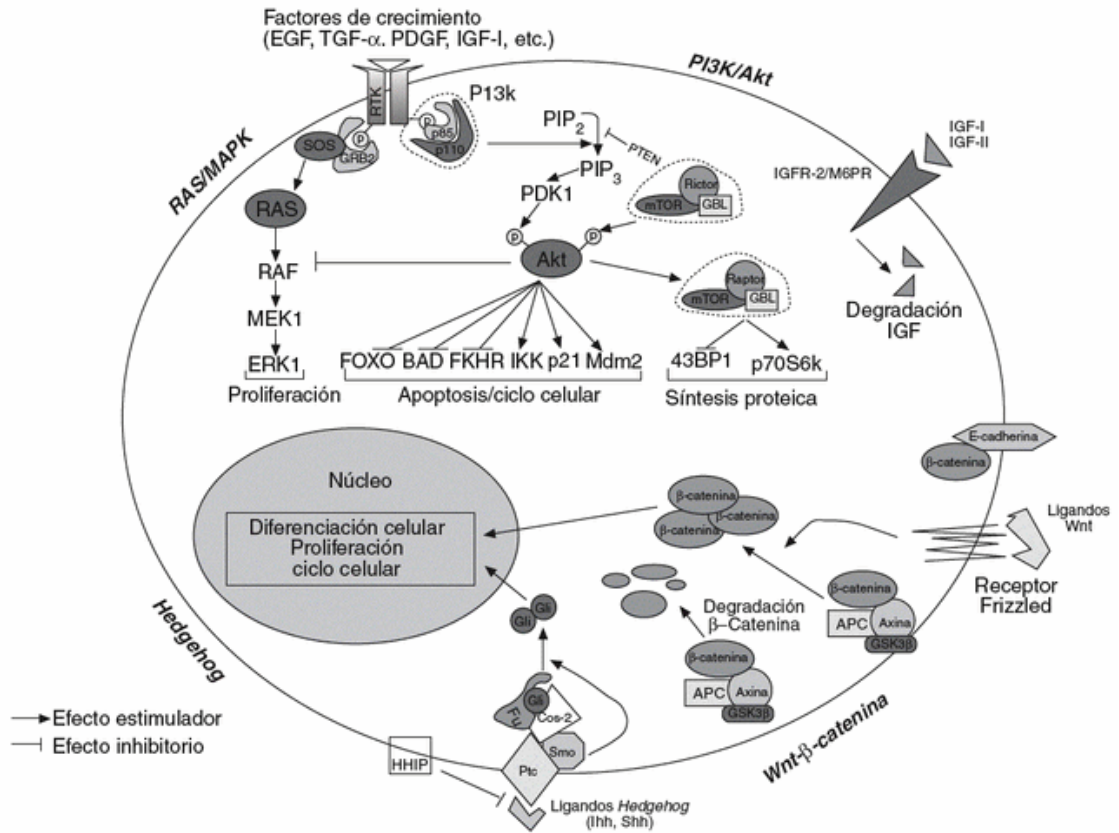


Figura 19.4 Esquema de las principales vías de señalización intracelular implicadas en el desarrollo y progresión de la carcinogénesis hepática. Tomado de Tovar V et al., Gastroenter Hepat 2007:30:360.

Cuadro 19.1 Organigrama para análisis del tumor y del paciente basado en la información obtenida por las diferentes herramientas metodológicas

Horizonte del estudio del paciente con cáncer	Herramientas metodológicas empleadas	Rangos de resolución o sensibilidad de análisis	Grado de entendimiento de la enfermedad*
Nivel Macroscópico	Análisis clínico	Órganos y tejidos (centímetros a milímetros)	50%
Nivel Microscópico	Análisis histopatológico	Tejidos, células, compartimientos subcelulares (micrómetros, gigabases de DNA)	20%
Nivel Nanoscópico	Análisis genómico	Estructura y expresión del gen .Modif. epigenéticas (nanómetros, mega/kilobases de DNA)	10%
	Análisis proteómico	Identificación de proteínas y caracterización de sus modif. postraduccionales. Interacciones proteína-proteína (nanómetros, nano/femtomolar)	20%

* Los porcentajes propuestos son acumulativos e implican necesariamente contar con la información de los niveles de estudio previamente anotados en la Tabla.

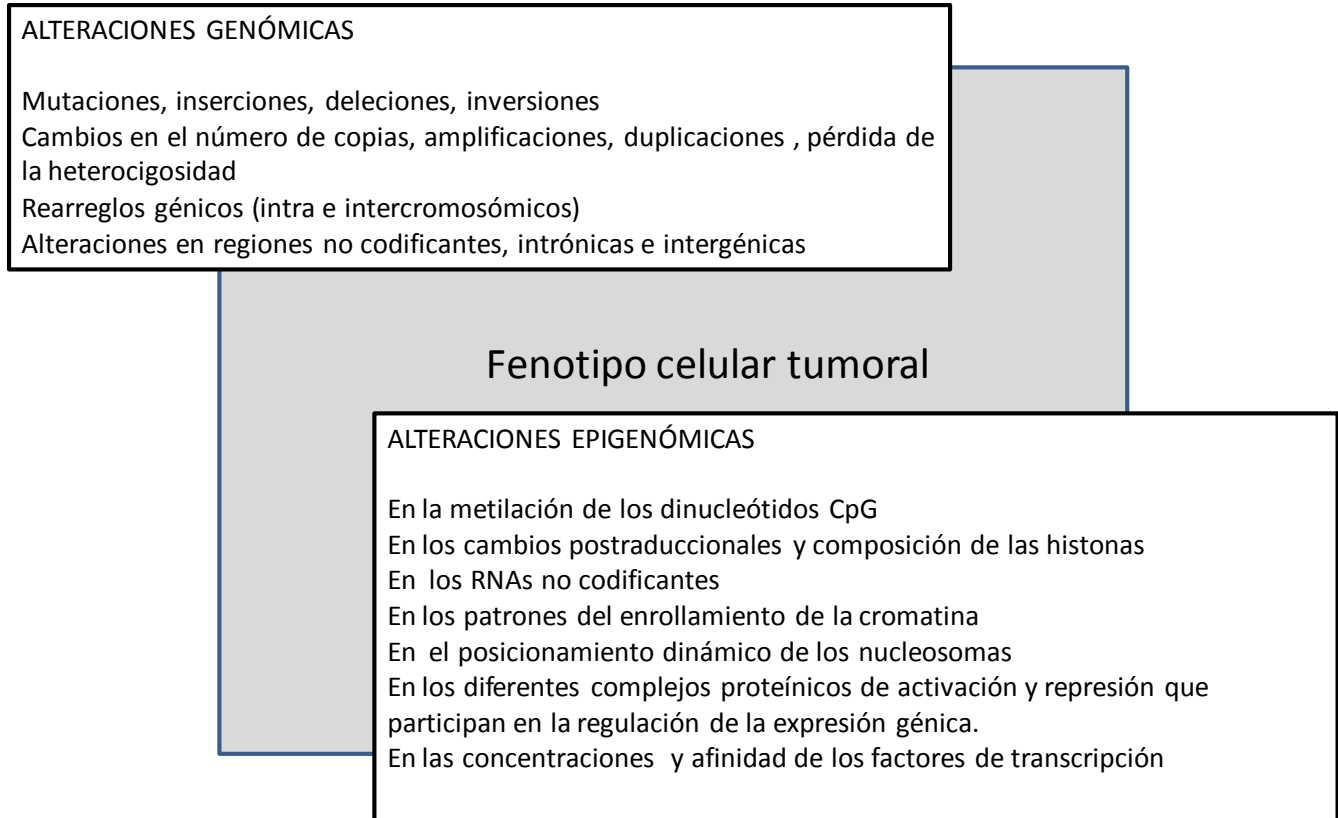


Figura 19.5 Biomarcas celulares y moleculares identificadas en las células tumorales. El cuadro superior corresponde a las biomarcas clásicas del cáncer descritas por Hanahan y Weinberg. El cuadro inferior corresponde al modelo de las biomarcas adicionales del cáncer identificadas en la última década (Valdespino et al., 2010).

Referencias

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K and Walter P. Molecular biology of the cell. 5th ed. Garland Science. New York; 2008; p1-1268.

Bronchud MH, Foote MA, Giaccone G, Olofade O, Workman P. Principles of molecular oncology. 3th ed. Humana Press Inc. New Jersey; 2008;p1-398.

De Vita V T Jr, Lawrence T S, Rosenberg S A. Cancer. Principles & Practice of Oncology. 9th ed. Wolters Kluwer/Lippincott Williams &Wilkins. Philadelphia; 2011;p1-2638.

Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000;100:57-70.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 2011;144:646-674.

Karp G. Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos. 6th ed. McGraw-Hill, 2011. Traducción de *Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments*. New York: John Wiley & Sons Inc, 2010; p-1-765

Valdespino V, Valdespino VE. Alteraciones celulares y moleculares no clásicas en el desarrollo del cáncer. Gac Med Mex 2010;146:185-198.

Vicente-Dueñas C, Gutierrez de Diego J, Rodriguez FD, Jimenez R, Cobaleda C. The role of cellular plasticity in cancer development. Curr Med Chem 2009 ;16:3676-3685.

Haber DA, Settleman J. Cancer: drivers and passengers. Nature 2007;446:145-146.

Capítulo 20

Aplicación de los conocimientos de la biología celular y molecular para modificar o revertir la enfermedad. Terapia celular en la medicina regenerativa

Víctor Manuel Valdespino Gómez, Patricia Margarita Valdespino Castillo
y Víctor Edmundo Valdespino Castillo

Durante los últimos años, los avances logrados sin precedentes en los campos de la biología, electrónica y la genética han permitido desarrollar un nuevo e impresionante conjunto de instrumentos para proteger y mejorar la salud humana y el medio ambiente. Respecto a la salud humana, los médicos del futuro utilizarán esas herramientas para explorar/supervisar a los pacientes y predecir cómo responderán a determinados planes terapéuticos adaptados a su fisiología, en lugar de sólo basarse en la respuesta media de grupos de personas que participan en protocolos convencionales de investigación clínica.

Los avances en la miniaturización de chips en el estudio de la biología de las células *stem*, en bioingeniería y en la ciencia de los biomateriales están sentando las bases para lograr bio-dispositivos complejos que ayuden a que diferentes órganos funcionen mejor o puedan sustituirse (Angeli et al., 2008)

La medicina regenerativa es una nueva área multidisciplinaria cuyo objetivo es el reemplazo, reparación o restauración de la función normal de órganos y tejidos que han sido lesionados por enfermedades. Esta compleja estrategia terapéutica implica usar células vivas, administradas solas o en combinación con biomateriales e incluso con moldes estructurales de órganos (Badylak et al., 2012).

La regeneración de miembros en varios organismos como los tritones o salamandras, que aparece después de 6 a 8 semanas de su sección ha sido un incentivo para desarrollar la medicina regenerativa en los humanos. Algunos antecedentes segmentarios de la medicina regenerativa actual en humanos, han sido los trasplantes de algunos órganos sólidos y de suspensiones celulares, como el trasplante renal (desde 1954) y el trasplante de médula ósea (desde 1968). La medicina regenerativa tiene el potencial de solucionar los problemas de escasez de órganos disponibles para donación y el grave problema de rechazo del órgano trasplantado. Las aplicaciones de la medicina regenerativa en las diversas enfermedades son múltiples, incluyen disfunciones hormonales (como diabetes y deficiencias de hormonas de crecimiento), enfermedades neurodegenerativas (Parkinson, Alzheimer y Huntington), lesiones cardiovasculares (infarto del miocardio, isquemias periféricas), así como en diversas lesiones en córnea, piel, articulaciones y huesos.

Actualmente el tratamiento definitivo de la etapa final de lesión en un órgano es el trasplante alogénico. Pero los pacientes que afortunadamente reciben un órgano donado deben emplear prácticamente de por vida tratamiento inmunosupresor. Los avances recientes en medicina regenerativa e ingeniería tisular son potenciales para

sustituir tejidos u órganos en los pacientes, generados a partir de sus propias células. Los resultados en el empleo esporádico de tejidos y órganos bioconstruidos en algunos individuos y en estudios preclínicos avalan estos principios. Sin embargo se requieren aún muchos progresos en los campos de la medicina regenerativa y la ingeniería tisular para lograr su aplicación clínica convencional (Polak, 2010, Valdespino et al., 2014).

Las aplicaciones terapéuticas de la medicina regenerativa incluyen avances recientes en la biología de las células *stem* o progenitoras, y en nanotecnología y bioingeniería. Sus modalidades terapéuticas están basados en el empleo de células, biomateriales (análogos de heparan sulfato) y/o en estrategias combinadas de ingeniería de tejidos y de órganos. La medicina regenerativa combina el trabajo biomédico *in vitro* y *ex vivo*, con el correspondiente *in vivo* (p.e. movilización de células *stem* endógenas). Algunos tipos de terapia celular han sido establecidos y aprobados desde hace varios años para uso clínico, como el empleo de la dermis alogénica, y la aplicación de condrocitos autólogos expandidos *in vitro*. Un ejemplo de éxito clínico de esta estrategia ha permitido la reconstrucción y la aplicación de un segmento bronquial recelularizado con células autólogas en un paciente con broncomalacia. (Sanchez et al., 2012).

Tipos de células empleadas en medicina regenerativa

Una gran variedad de tipos de células han sido y son actualmente usadas en medicina regenerativa, entre ellas, principalmente las células *stem* en sus distintas

variedades (Figura 20.1). Las células *stem* o troncales se han categorizado en embrionarias, fetales, adultas o generadas de la inducción de células somáticas adultas. Las células *stem* mantienen su capacidad de auto-renovación y su capacidad de poder producir células hijas diferenciadas, lo cual es fundamental para mantener la homeostasis órgano-tisular. Las células *stem* pueden ser clasificadas de acuerdo a su fuente tisular de origen, y a su potencialidad de generar todos, muchos y algunos tipos celulares; pueden ser totipotentes, pluripotentes/multipotentes u oligopotentes. Las células *stem* embrionarias humanas (ESCs) identificadas en 1998, a pesar de ser totipotentes, no han sido empleadas, debido al debate ético de su uso. Las células *stem* fetales son pluripotentes y pueden ser obtenidas del líquido amniótico. El uso de células *stem* del cordón umbilical ha sido empleado en pacientes con anomalías genéticas y para trasplante de médula ósea. Las células *stem* adultas, ubicadas en los diferentes tejidos del organismo, son pluripotentes/multipotentes, pero difíciles de identificar particularmente por su gran escasez (Lodi et al., 2011). Estas células se encuentran en nichos específicos en los tejidos del cuerpo (p.e. células *stem* de la médula ósea, células *stem* cardíacas, células *stem* del cordón umbilical, etc.).

Las células *stem* de tejidos adultos o somáticas (incluyendo las células *stem* del cordón umbilical) presentan un potencial más limitado de diferenciación que las correspondientes embrionarias (pluripotentes) (Figura 20.2). Sin embargo, estas células pueden potencialmente obtenerse de un individuo/paciente, expandirse y diferenciarse *in vitro*, incorporarse a un tejido en bioconstrucción y regresarse al mismo individuo como un tejido u órgano autólogo, sin la necesidad de emplear

tratamientos inmunosupresores. Actualmente, su utilidad es aún restringida, debido a la limitación por su escasa frecuencia tisular (una célula *stem* por 100,000 células adultas). Las células *stem* hematopoyéticas (HSCs) han sido usadas por más de 40 años en pacientes con desórdenes hematopoyéticos. El trasplante de HSCs aisladas de la médula ósea puede reconstituir la población celular de la médula ósea depletada después de irradiación/quimioterapia, siendo en la actualidad un procedimiento terapéutico de uso frecuente.

Las células *stem* mesenquimales (MSCs) de la médula ósea pueden proliferar fácilmente *in vitro*, y se les puede inducir diferenciación hacia las células derivadas del mesodermo, para generar osteocitos, adipocitos, condrocitos, etc. Esta propiedad las ha convertido en una opción factible para la bioingeniería tisular ósea y del tejido cartilaginoso (Teven et al., 2011). Las MSCs presentan como limitación que solamente pueden dividirse en un número finito de veces, comparativamente a las células *stem* embrionarias, pero éstas no son factibles de ser empleadas (limitaciones bioéticas relacionadas con su obtención). Por ello una fuente alternativa de células *stem* pluripotentes es la utilización de células *stem* pluripotentes inducidas (iPSCs), generadas a partir de células somáticas. Estas iPSCs pueden ser re-dirigidas y expandidas en beneficio del propio individuo.

La obtención de iPSCs a partir de fibroblastos de la piel, fue demostrada por Takahashi y Yamanaka en 2006/2007, empleando los factores de transcripción reguladores de la reprogramación fenotípica, OCT4, SOX2, MYC y KLF4 como inductores de reprogramación celular. Éste descubrimiento revolucionó esta área, debido a que este tipo de células pluripotentes pueden ser obtenidas del mismo

paciente. Sin embargo el empleo de las iPSCs presenta todavía varias limitaciones de empleo clínico como el uso y riesgo de virus oncogénicos en la generación de las iPSCs, su baja eficiencia en su generación, la presentación elevada de apoptosis/senescencia celular y la generación de clones tumorales.

Las células *stem* pluripotentes de tejidos semilíquidos como la sangre, son obtenidas por medio de centrifugación o por aféresis. La obtención de células *stem* somáticas ubicadas en tejidos sólidos es más difícil; para su obtención usualmente el tejido es disgregado y la matriz extracelular es digerida por enzimas como tripsina o colagenasa, luego son colocadas en suspensión, y finalmente separadas por gradientes de centrifugación o aféresis.

El progreso en el conocimiento de la programación/reprogramación celular, de las interacciones microambientales (nicho) de las células *stem* relacionado con su renovación y diferenciación, junto con estudios de modelos de transdiferenciación celular han permitido iniciar diferentes propuestas experimentales con finalidades terapéuticas. Estas estrategias están basadas fundamentalmente en el empleo de iPSCs autólogas como fundamento de diferentes protocolos de investigación clínica (Figura 20.2). Se requiere seguir avanzando en el conocimiento de la aplicación clínica de las iPSCs autólogas, como sustento de la terapia celular en el campo de la medicina regenerativa.

Los principales recursos que emplea la medicina regenerativa son las células madre o troncales autólogas y moldes estructurales de soporte físico-mecánico tisular contruidos *ex vivo*. Integralmente la ingeniería tisular combina el uso de células,

factores bioquímicos y físicos, nanomateriales y métodos de biofabricación para mejorar o reemplazar las funciones biológicas de tejidos y órganos (Figura 20.3).

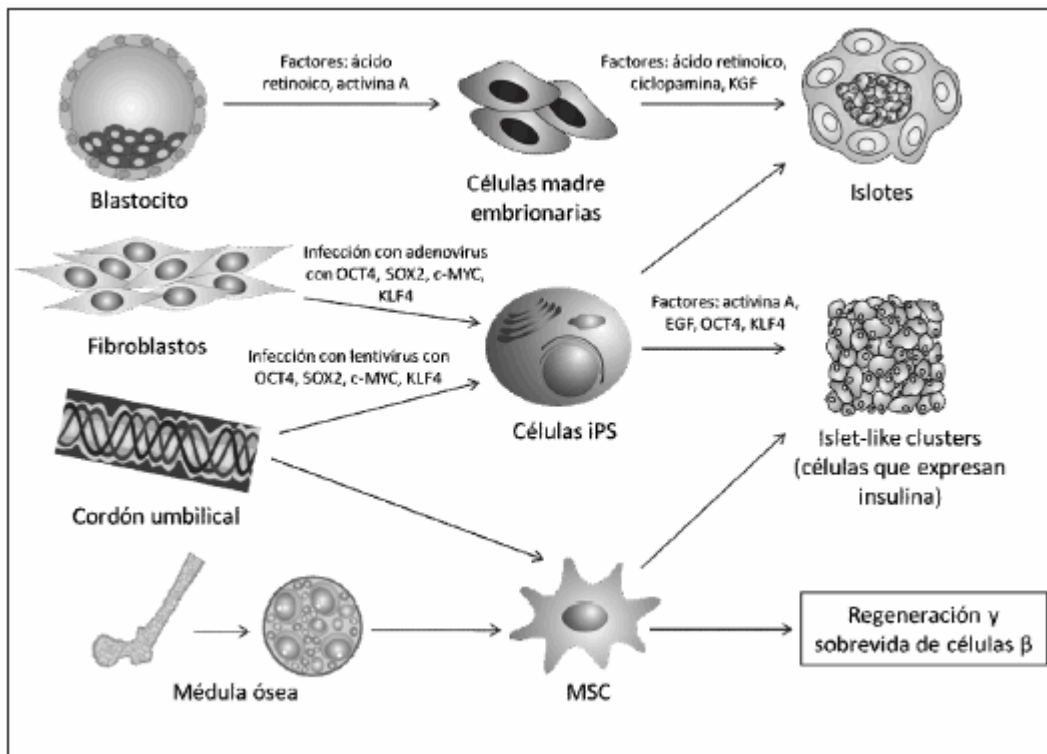


Figura 20.1 Obtención y diferenciación de células madre particularmente para la generación de células beta de los islotes del páncreas, en pacientes con diabetes mellitus en fase avanzada. Gimeno ML et al., Medicina (B. Aires) 2011;71:267.

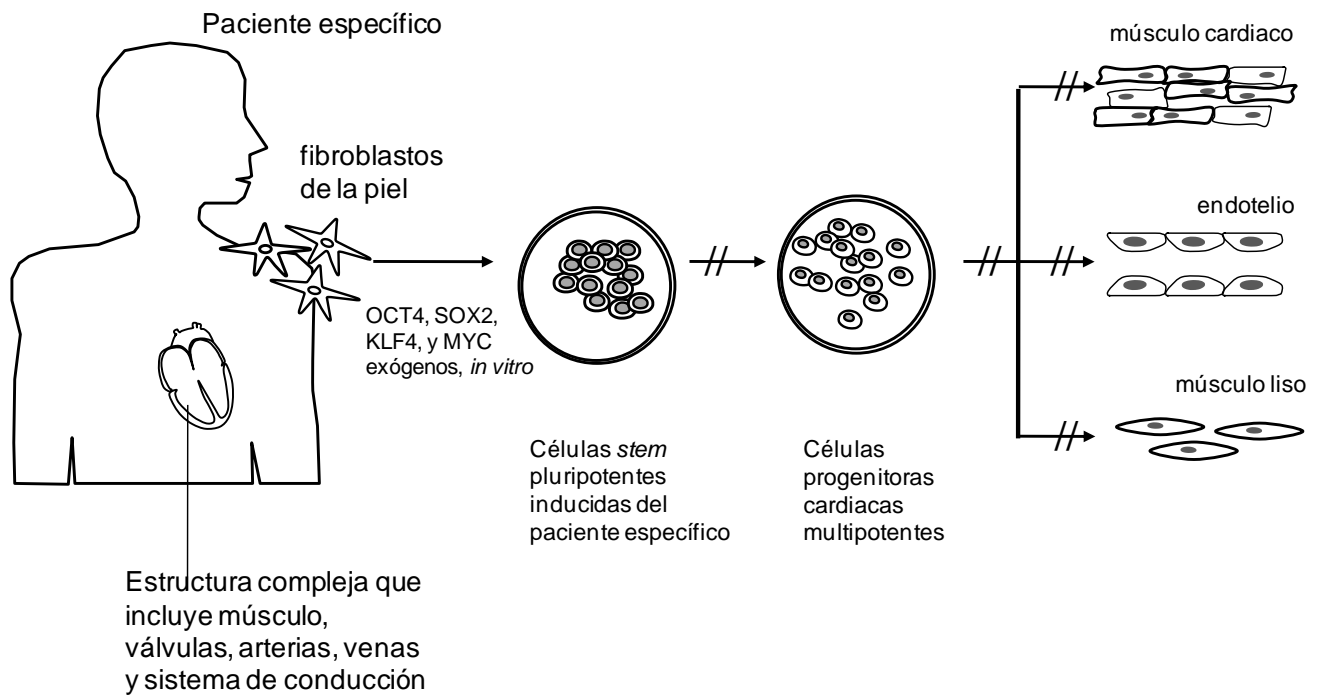


Figura 20.2 La tecnología de inducción de células *stem* pluripotentes en la generación de cardiomiocitos. Esta estrategia requiere la reprogramación de fibroblastos a células *stem* pluripotentes inducidas, y conducir las por el proceso de diferenciación a células progenitoras cardíacas pluripotentes y posteriormente a los diferentes linajes celulares terminalmente diferenciados (Ptaszek et al., 2012)

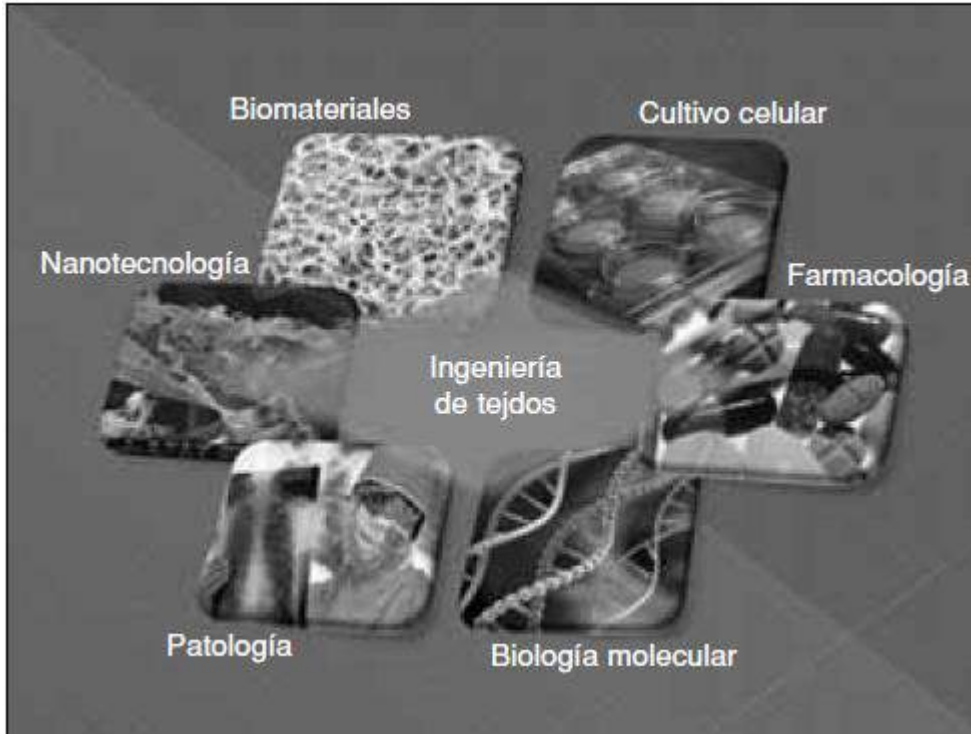


Figura 20.3 En la construcción de biotejidos se requiere además de las células parenquimatosas del tejido específico, inductores bioquímicos, biomateriales y bioconstrucciones. Landro ME et al., Rev asoc Arg Ortop Traumatol 2010;75:398-

Referencias

Angeli E, Buzio R, Firpo G, Magrassi R, Mussi V, Repetto L, Valbusa U. 2008. Nanotechnology applications in medicine. Tumori 94(2):206-15.

Badylak SF, Weiss DJ, Caplan A, Macchiarini P. Engineered whole organs and complex tissues. Lancet 2012;379:943-951.

Lodi D, Iannitti T, Palmieri B. Stem cells in clinical practice: applications and warnings. J Exp Clin Cancer Res 2011 ;30:9.

Polak DJ. Regenerative medicine. Opportunities and challenges: a brief overview. *J R Soc Interface* 2010;7:S777-S781.

Ptazek LM, Mansour M, Ruskin N, Chien KR. Towards regenerative therapy for cardiac disease. *Lancet* 2012;379:933-942.

Sanchez A, Schimmang T, Garcia-Sancho J. Cell and tissue therapy in regenerative medicine. *Adv Exp Med Biol* 2012;741:89-102.

Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006 ;125:663-676.

Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblast by defined factors. *Cell* 2007 ;131:861-872.

Teven CM, Liu X, Hu N, Tang N, Kim SH, Huang E, et al. Epigenetic regulation of mesenchymal stem cells: a focus on osteogenic and adipogenic differentiation. *Stem Cell Int* 2011;ID 201371, 18 p.

Valdespino V, Valdespino PM, Valdespino VE. Estrategias para la regeneración de tejidos:células, inductores bioquímicos, bionanomateriales y bioconstrucciones. *Alcances clínico-quirúrgicos. Cir Cir* 2014;82:578-589.

Glosario

Actina

Proteína globular del citoesqueleto que se polimeriza para formar un filamento helicoidal flexible.

Aferesis

Es una tecnología médica en la cual un componente la sangre de un donador o paciente es separada en sus constituyentes, y el resto de de los componentes son devueltos al torrente sanguíneo.

Akt (proteína cinasa B, PKB)

Proteína serina/treonina cinasa que participa en la vía intracelular de señalamiento PI3/Akt que participa especialmente en la señalización para crecimiento y supervivencia celulares. También llamada proteína cinasa B (PKB).

Alelos

Formas alternativas del mismo gen.

Alogénica (alotransplante)

Es trasplantar células, tejidos u órganos a un individuo genéticamente no idéntico de la misma especie.

Anticuerpo monoclonal

Moléculas de anticuerpos producidas por una sola colonia (o clona) de células.

proteína cinasa AMP cíclico dependiente de (proteína cinasa A, PKA)

Proteína que fosforila a proteínas blanco en respuesta al aumento de AMP cíclico intracelular.

ARF (proteína ARF, factor de ribosilación de ADP)

GTPasa monomérica en la superfamilia Ras, responsable de la regulación del ensamblaje de y la cubierta de clatrina en las membranas de Golgi.

Autofagia

Destrucción y reemplazo de los organelos. La membrana que rodea el organelo se fusiona con un lisosoma.

Autólogo

Tejido orgánico que es trasplantado de una parte del cuerpo a otra, en una misma persona.

Bcl2 familia

Familia de proteínas intracelulares que promueven o inhiben la apoptosis al regular la liberación de citocromo c y otras proteínas mitocondriales desde el espacio intermembranal hacia el citosol.

caderina

Miembro de la superfamilia de caderinas, proteínas de adhesión transmembranal

CAK (cinasa activadora de Cdk)

Proteína cinasa que fosforila Cdks en complejos ciclina-Cdk, activando la Cdk.

Calmodulina

Pequeña molécula transportadora de calcio con amplia distribución.

CAM-cinasa

Proteína serina/treonina cinasas activada por Ca^{2+} /calmodulina. Indirectamente media el efecto del incremento citosólico de Ca^{2+} al fosforilar proteínas blanco específicas.

Caspasas

Familia de proteasas que activan la etapa temprana de la apoptosis, y producen los fenómenos de apoptosis que se observan durante la muerte celular.

 β -catenina

Proteína citoplásmica multifuncional que participa en la adhesión célula-célula mediada por caderina, ligando caderinas al exoesqueleto de actina. Puede actuar independientemente como proteína regulatoria de genes. Es parte de la vía de señalamiento Wnt.

Cdc20

Subunidad activadora del complejo promotor de anafase (APC/C).

Cdc25

Proteína fosfatasa que desfosforila Cdks e incrementa su actividad.

Cdc gen (gen del ciclo de división celular)

Gen cuyo producto (una proteína Cdc) controla un paso específico o conjunto de pasos en el ciclo celular de eucariontes.

Cdk (proteína inhibitoria; CKI)

Proteína que se une a complejos inhibitorios ciclina-Cdk, primariamente involucrados en el control de las fases G1 y S.

CG, isla de

Región del DNA con una densidad mayor que el promedio de secuencias CG, estas regiones permanecen generalmente no-metiladas.

ChIP (inmunoprecipitación de la cromatina)

Técnica mediante la cual el DNA cromosomal destinado a una proteína particular, puede ser aislado e identificado al ser precipitado por el anclaje proteína-anticuerpo.

Ciclina

Proteína que periódicamente se incrementa o baja su concentración con el ciclo celular eucarionte. Activa ciclinas cruciales (Cdks).

Cinámica (*kinomics*)

Estudio de interacción entre las biomoléculas

Citocinas

Proteínas secretadas por células del sistema inmunitario que alteran el comportamiento de otras células del sistema inmunológico.

Citocromo c

Componente soluble de la cadena mitocondrial de transporte de electrones.

Cdk (Cinasa dependiente de ciclina)

Proteína cinasa que tiene que formar un complejo con una proteína ciclina para poder funcionar. Diferentes complejos Cdk-ciclina disparan diferentes pasos en el ciclo de división celular a través de fosforilar proteínas blanco específicas.

Código genético

Manera en la que las secuencias de nucleótidos del DNA codifican la información para la formación de productos proteicos.

Complejo ciclina-Cdk

Complejo proteico formado periódicamente durante el ciclo celular eucarionte.

Conformacional, cambio.

Un movimiento predecible dentro de una molécula que se relaciona con la actividad biológica.

Conexina

Proteína componente de las uniones gap.

Corte y empalme alternativos

Mecanismo mediante el cual un solo gen puede codificar dos o más proteínas relacionadas.

Cromatina

Material nucleoproteínico complejo que constituye los cromosomas de las células eucariotas.

CSF (factor estimulador de colonia)

Nombre general para un numeroso grupo de moléculas de señalamiento que controlan la diferenciación de las células sanguíneas.

DAG

Lípido producido por el anclaje de fosfolípidos de inositol en respuesta a las señales extracelulares.

DHFR

Enzima dehidrofolato reductasa.

Diferenciación

Proceso por el cual las células no especializadas se vuelven más complejas y especializadas en estructura y función.

Dineína

La proteína motora más importante de los microtúbulos.

Diploide

Que contiene dos miembros de cada par de cromosomas homólogos, como sucede en la mayor parte de las células somáticas.

DNA polimerasas

Enzimas encargadas de construir nuevas cadenas de DNA durante la replicación o reparación del DNA.

Dominio SH2

Dominio proteico presente en muchas proteínas de señalización. Se une a secuencias cortas de aminoácidos que contienen una fosfotirosina.

EGFR

Receptor de factor de crecimiento epidérmico

Electroforesis

Técnicas de fraccionamiento que dependen de la capacidad de moléculas cargadas para migrar cuando se les coloca en un campo eléctrico.

EMT

Transición epitelial-mesenquimal

Enzima

Catalizador proteínico de importancia vital para las reacciones celulares.

Enzimas de restricción

Endonucleasas o nucleasas contenidas en las bacterias que reconocen secuencias cortas de nucleótidos en el DNA doble u dividen la columna central en sitios muy específicos en ambas cadenas de la doble hélice.

Energía de activación

La energía cinética mínima necesaria para que un reactivo realice una reacción química.

Epigenómica

Estudio de diferentes cambios epigenéticos sobre los genes de una célula

Esfingolípidos

Una clase de lípidos de membrana, derivados de la esfingosina, consiste en una esfingosina unida con un ácido graso por su grupo amino.

Exómica

Estudio de todos los exones que codifican proteínas o RNA en una célula

Factores de transcripción (general)

Proteínas auxiliares para que la RNA polimerasa inicie la transcripción.

FAK (cinasa de adhesión focal)

Tirosina cinasa citoplásmica presente en las uniones de la matriz celular (ahesiones focales) en asociación con las colas de integrinas.

Farmacogenómica

Estudio de las variaciones del genoma humano relacionadas al metabolismo de los medicamentos

Fosfolipasa C

Enzima que cataliza una reacción que divide el PIP_2 en dos moléculas: 1,4,5-trifosfato de inositol (iP_3) y DAG, ambos funcionan como segundos mensajeros en la señalización celular.

Gen

En términos moleculares, una unidad de herencia (segmento de DNA) que regula generalmente el carácter de un rasgo particular.

Genoma

El complemento de información genética única de cada especie de organismo; equivale al DNA de un conjunto haploide de cromosomas de esa especie.

Genómica

Estudio de la totalidad de los genomas

Glucólisis

La primera vía en el catabolismo de la glucosa, no requiere oxígeno y conduce a la formación de piruvato.

Glicómica

Estudio de las vías y redes donde intervienen los diferentes carbohidratos

GPCR

Receptores acoplados a proteínas G.

Haploide

Que contiene un miembro de cada par de cromosomas homólogos. Las células haploides se producen durante la meiosis (p.ej. espermatozoides)

Heterocromatina

Cromatina que permanece compacta durante la interfase.

Histona, desacetilasas

Enzimas que catalizan el retiro de grupos acetilo de las histonas. La desacetilación de las histonas produce represión de la transcripción.

Huso mitótico

Maquinaria que contiene microtúbulos y participa en la organización y clasificación de los cromosomas duplicados durante la división celular mitótica.

Integrinas

Una superfamilia de proteínas integrales de membrana que se unen de manera específica con moléculas extracelulares.

Interfase

La porción del ciclo celular entre los periodos de división celular.

Knockdown (gen)

Es una técnica genética en la cual la expresión de un gen de un organismo es reducida

Knockout

Es una técnica genética en la cual un gen de un organismo es bloqueado o eliminado

Lamelipodio

El borde de avance de un fibroblasto en movimiento que se extiende fuera de la célula como una proyección ancha, aplanada, parecida a un velo, que se desliza sobre el sustrato.

Ligando

Cualquier molécula que puede unirse con un receptor porque tiene una estructura complementaria.

Liposoma

Una bicapa lipídica artificial que se ensambla por si sola en una vesícula esférica o vesículas cuando está en un ambiente acuoso.

Mapa genético

Asignación de marcadores genéticos a posiciones relativas de un cromosoma con base en la frecuencia de cruzamiento.

Mapk/Erk (Vía)

Cadena de proteínas intracelulares que comunican una señal del receptor RTK hasta el núcleo, activando la transcripción de genes relacionados con la proliferación celular; incluye las cinasas MAPK (*mitogen activated protein kinases*), llamadas originalmente ERK (*extracelular signal-regulation kinases*).

Matriz extracelular

Una red organizada de materiales extracelulares que se encuentra más allá de la vecindad inmediata de la membrana plasmática. Tiene una función integral para determinar la forma y actividades de la célula.

Metabolismo

El total de reacciones químicas que ocurren en la célula.

Metabolómica

Estudio de los procesos químicos en las células donde participan metabolitos

micro RNA (miRNA)

RNAs eucarióticos cortos (21-26 nucleótidos) producido por el procesamiento de transcritos especializados que regulan la expresión génica a través de emparejamiento con pares de bases del mRNA.

mTOR (blanco de rapamicina en mamíferos)

Proteína cinasa serina/treonina de mamíferos que es un componente en la vía de señalamiento PI3K/Akt.

Multiproteínico, complejo

La interacción de más de una proteína completa para formar un complejo funcional mas grande.

Nanotecnología

Un campo de la ingeniería que implica el desarrollo de “nanomáquinas” diminutas capaces de realizar actividades específicas en un mundo submicroscópico.

Nucleosoma

Unidad básica del empaquetamiento de la cromatina en células eucariontes, consiste en un segmento de DNA de 146 nucleótidos y una partícula compuesta por ocho histonas

Oncogenes

Genes que codifican proteínas que fomentan la pérdida del control del crecimiento y la conversión de la célula a un estado maligno. Estos genes tienen la capacidad de transformar a las células.

Oxidación-reducción, reacción redox

Proceso por el cual ocurre un cambio en el estado electrónico de los reactivos.

Pared celular

Estructura rígida, que brinda soporte y protección a la célula a la que rodea.

PCR (reacción en cadena de la polimerasa)

Técnica para la amplificación de regiones específicas de DNA usando primers de secuencias específicas en ciclos múltiples.

[pH]

Medición estándar de la acidez relativa, en términos matemáticos equivale a $-\log H^+$.

PI 3 cinasa (PI3K)

Enzima unida a membrana que es componente de la vía intracelular de señalamiento PI 3 cinasa/Akt

PKC (proteína cinasa C)

Proteína cinasa dependiente de Ca^{2+} que cuando es activada por diacilglicerol y un incremento en la concentración de Ca^{2+} citosólico fosforila proteínas blanco sobre residuos específicos de serina y treonina.

Polimorfismos de nucleótidos individuales o únicos

Sitios en el genoma en los que con mucha frecuencia se encuentran bases alternativas en la población. Son marcadores genéticos excelentes para estudios de mapeo genómico.

Potencial de membrana

La diferencia en el potencial eléctrico a través de la membrana.

Promotor

El sitio del DNA en el cual se une la molécula RNA polimerasa antes de iniciar la transcripción. El promotor contiene información que determina cuál de las dos cadenas de DNA se transcribe y el sitio en el que inicia la transcripción.

Proteína E2F

Proteína regulatoria que enciende o apaga muchos genes que codifican proteínas requeridas para la entrada a la fase S del ciclo celular.

Proteína G heterotrimérica.

Un componente de ciertos sistemas de transducción de señales, G se refiere a que se une con los nucleótidos guanina (GDP o GTP), y heterotrimérica, porque todas consisten en tres subunidades de polipéptidos distintos.

Proteína Hedgehog

Molécula de señalamiento excretada extracelularmente, juega muchos diferentes papeles en el control de la diferenciación celular y la expresión génica en embriones y en células adultas.

Proteína Rab

GTPasa monomérica de la superfamilia Ras presente en la membrana plasmática y en membranas de organelos. Confiere especificidad a las uniones vesiculares.

Proteína Ran

GTPasa monomérica de la superfamilia Ras presente en citosol y núcleo. Requerida para el transporte activo de macromoléculas dentro y fuera del núcleo a través de poros (complejos nucleares).

Proteína Ras

GTPasa monomérica de la superfamilia Ras que colabora en el relevo de señales desde los receptores RTK de la superficie celular hacia el núcleo, frecuentemente en respuesta a las señales que estimulan la división celular.

proteína Wnt

Miembro de la familia de proteínas de secreción de señales que juegan diferentes papeles en la diferenciación y proliferación celulares y en la expresión de genes en embiones y en tejidos adultos.

Proteoglucano

Un complejo de proteína y polisacárido consistente en una molécula de proteína central a la cual se unen cadenas de glucosaminoglucanos. Esta sustancia permite que los tejidos sean resistentes a la compresión.

Proteómica

Campo creciente de la bioquímica de proteínas que realiza estudios a gran escala en diversas mezclas de proteínas.

Protooncogenes

Una variedad de genes que tienen la capacidad de cambiar las propias actividades de la célula y conducirla hacia el estado maligno. Los protooncogenes codifican proteínas con funciones diversas en las actividades normales de la célula. Los protooncogenes pueden convertirse en oncogenes.

Radical libre

Átomo o molécula muy reactivos que contienen un electrón impar.

Ras-MAP cinasa, cascada

Serie de reacciones que se activa como respuesta a una gran variedad de señales extracelulares y tiene un papel clave en la regulación de actividades vitales, como la proliferación y diferenciación celulares.

Reacción en cadena de la polimerasa

Una técnica en la que una sola región del DNA, que puede estar presente en cantidades diminutas, puede amplificarse en forma barata y rápida.

Receptor

Cualquier sustancia que puede unirse con una molécula específica (ligando), lo que a menudo conduce a la captación o transducción de una señal.

Receptor tipo *toll* (TLR)

Un tipo de receptor para patógenos en el sistema inmunitario innato. Los humanos expresan 10 diferentes TLRs, los cuales son proteínas transmembrana presentes en las superficies de muchos tipos celulares diferentes.

Receptores RTK (receptor tyrosine kinases)

Receptores localizados en la membrana celular con alta afinidad a muchos polipéptidos como factores de crecimiento, citocinas y hormonas.

Resolución

La capacidad para ver dos puntos vecinos en el campo visual como entidades distintas.

Replicación

Duplicación del material genético.

RNA, interferencia

Fenómeno natural en el que los RNA bicatenarios (dsRNA) conducen a la degradación del mRNA con secuencias idénticas.

Sarcómeras

Unidades contráctiles de las miofibrillas que están dotadas con un patrón característico de bandas y franjas que dan a las células del músculo esquelético su apariencia estriada.

Segundo mensajero

Una sustancia que se forma en la célula como resultado de la unión de un primer mensajero (una hormona u otro ligando) con el receptor en la superficie externa de la célula.

Señalización celular

Comunicación en la que se releva la información a través de la membrana plasmática al interior de la célula y a menudo al núcleo celular mediante una serie de interacciones moleculares.

Somáticas, células

Células del cuerpo, excepto las células de la línea germinal (gametocitos).

Tejido conjuntivo.

Tejido que consiste sobre todo en varias fibras distintas que interactúan entre sí de maneras específicas. La capa más profunda de la piel (dermis) es un tipo de tejido conjuntivo.

Telómero

Un segmento inusual de secuencias repetidas de DNA que forma una “tapa” en cada extremo de un cromosoma.

Traducción

Síntesis de proteínas en el citoplasma con base en la información codificada por un mRNA.

Transcripción

La formación de un RNA complementario a partir de la plantilla de DNA.

Transcriptoma

El inventario completo de moléculas de RNA transcritas por una célula, tejido u organismo particulares, codificante o no codificantes.

Transcriptómica

Estudio estructural y funcional de todos los transcritos de una célula

Transfección

Proceso por el cual se introduce DNA desnudo a células cultivadas, lo que casi siempre conduce a la incorporación del DNA exógeno al genoma celular y su expresión subsiguiente.

Transgénicos, animales

Animales cuyo genoma se modificó para que sus cromosomas contuvieran genes ajenos.

Traslacional (Medicina)

Es la que corresponde a estrechar lazos de los resultados de la investigación biomédica básica con la aplicación clínica

Vector, DNA

Un vehículo para transportar DNA ajeno a una célula hospedadora adecuada, como la bacteria *E. coli*. El vector contiene secuencias que le permiten replicarse dentro de la célula hospedadora. Lo más frecuente es que el vector sea un plásmido o un virus bacteriano lambda. Una vez que el DNA está dentro de la bacteria, se replica y se divide en las células hijas.

VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular)

Proteína que estimula el crecimiento de los vasos sanguíneos.

Vía biosintética (vía secretora)

Trayecto a través del citoplasma en el cual se sintetizan materiales en el retículo endoplásmico o complejo de Golgi, y de ahí se transportan a varios destinos, como la membrana plasmática, un lisosoma o una vacuola grande de una célula vegetal.

Vía catabólica

Vía metabólica en la que moléculas relativamente complejas se degradan a productos más simples.

Vías de señalización

Corresponden a las supervías de información de la célula. Cada una consiste en una serie de proteínas distintivas que operan en secuencia. Cada proteína en la vía actúa al modificar la conformación de la proteína que le sigue en la serie.

Vía de señalamiento del inositol

Vía de señalización intracelular que comienza con la activación de fosfolipasa C y la generación de IP_3 y diacil glicerol (DAG).

Vía de señalamiento Wnt

Vía de señalamiento activada por la unión de la proteína Wnt a los receptores de la superficie celular. Esta vía tiene muchas ramificaciones. En la rama principal (canónica), la activación causa incrementos en la entrada de β -cateninas al núcleo donde regula la transcripción de genes que controlan la diferenciación y la proliferación celulares. La sobreactivación de la vía Wnt/ β -catenina puede conducir al cáncer.

Wild type

Tipo natural.