



La célula como unidad de salud y enfermedad

Richard N. Mitchell

ÍNDICE DEL CAPÍTULO

Genoma 1

- ADN no codificante 1
 - Organización de las histonas 3
 - Micro-ARN y ARN largo no codificante 4
 - Micro-ARN 4
 - ARN largo no codificante 5
 - Edición génica 6
- Mantenimiento celular 6**
- Membrana plasmática: protección y adquisición de nutrientes 8
 - Transporte de membrana 9

Citoesqueleto 11

- Interacciones célula-célula 12
 - Maquinaria biosintética: retículo endoplásmico y aparato de Golgi 13
 - Eliminación de desechos: lisosomas y proteosomas 14
- Metabolismo celular y función mitocondrial 15**
- Activación celular 16**
- Señalización celular 17
 - Vías de transducción de señal 17

Proteínas modulares de señalización, centros y nodos 19

Factores de transcripción 19

Factores de crecimiento y receptores 20

Matriz extracelular 21

- Componentes de la matriz extracelular 23
- Mantenimiento de las poblaciones celulares 25**
- Proliferación y ciclo celular 25
 - Células madre 28
 - Medicina regenerativa 29

Patología significa literalmente *estudio del sufrimiento* (del griego, *pathos* = sufrimiento, y *logos* = estudio); en términos más prosaicos, los aplicados en la medicina moderna, es el *estudio de la enfermedad*. La intuición de Virchow resultó clarividente cuando aseveró que la enfermedad se origina a nivel celular, si bien en la actualidad sabemos que las patologías celulares son consecuencia de perturbaciones en las moléculas (genes, proteínas y metabolitos), que influyen en la supervivencia y en el comportamiento de la célula. Así pues, el fundamento de la patología moderna es el conocimiento de las aberraciones celulares y moleculares que generan las enfermedades. Resulta esclarecedor considerar estas anomalías en el contexto de la estructura y la función celulares normales, que constituyen el objeto de este capítulo introductorio.

Es poco realista (e incluso no deseable) condensar el amplio y fascinante campo de la biología celular en un solo capítulo. En consecuencia, más que plantear una revisión global, el objetivo en este caso es exponer y evaluar los principios generales y destacar los más recientes avances vinculados a los mecanismos de la enfermedad que se analizan a lo largo del resto del libro.

GENOMA

La secuenciación del genoma humano a comienzos del siglo XXI representó un verdadero hito en el campo de la ciencia biomédica. La rápida disminución del coste de la secuenciación, la apabullante capacidad computacional para explotar los datos obtenidos y las cada vez más eficaces herramientas utilizadas para analizar los resultados funcionales (genómica, proteómica y metabolómica) prometen revolucionar nuestro conocimiento de la salud y la enfermedad. La información que ha ido surgiendo ha revelado también un ingente nivel de

complejidad, que va más allá de la secuencia lineal del genoma. El potencial de estas poderosas innovaciones para explicar la patogenia de la enfermedad e impulsar los descubrimientos terapéuticos apasiona e inspira a los científicos, y atrae, asimismo, la atención del público en general.

ADN no codificante

El genoma humano contiene unos 3.200 millones de pares de bases de ADN. No obstante, en el genoma hay solo unos 20.000 genes que codifican proteínas, lo que supone apenas el 1,5% del genoma. Estos genes conforman el patrón que dirige el ensamblaje de las enzimas, los elementos estructurales y las moléculas de señalización en los 50 billones de células que constituyen el cuerpo humano. Aunque la cifra de 20.000 es una estimación a la baja del número real de proteínas codificadas (muchos genes producen múltiples transcritos de ARN que se traducen a diferentes isoformas de proteínas), resulta, en cualquier caso, sorprendente comprobar que algunos gusanos, que están compuestos por menos de 1.000 células y tienen genomas hasta 30 veces más pequeños, también cuentan con unos 20.000 genes codificantes de proteínas. Muchas de estas proteínas son homólogos reconocibles de moléculas expresadas en humanos. ¿Qué separa a los humanos de los gusanos?

La respuesta no se conoce por completo, pero la evidencia indica que la mayor parte de la diferencia radica en el 98,5% del genoma humano que no codifica proteínas. La función de estos fragmentos de ADN tan largos (la llamada «materia oscura» del genoma) fue un misterio durante muchos años. Sin embargo, con el tiempo se ha llegado a transcribir más del 85% del genoma humano, y casi el 80% de este se encarga de la regulación de la expresión génica. Resulta evidente que, aunque son las proteínas las que proporcionan los ladrillos y la maquinaria

necesaria para el ensamblaje de células, tejidos y organismos, son las regiones no codificantes del genoma las que aportan la esencial «planificación arquitectural». En términos prácticos, la diferencia entre gusanos y humanos estriba más en los «planos» genómicos que en los materiales empleados en su construcción.

En el genoma humano hay cinco clases principales de secuencias funcionales no codificantes de proteínas (fig. 1.1):

- **Regiones promotoras y potenciadoras** que proporcionan los sitios de unión para los factores de transcripción.
- Sitios de unión para los factores que organizan y mantienen las *estructuras de cromatina* de orden superior.
- **ARN reguladores no codificantes**. Más del 60% del genoma es transcrita a ARN que nunca llegan a ser traducidos, pero que regulan la expresión génica por medio de diferentes mecanismos. Las dos variedades mejor estudiadas, los micro-ARN (miARN) y los ARN largos no codificantes (ARNlnc), se describen más adelante.
- Los *elementos genéticos móviles* (p. ej., los *transposones*) constituyen más de un tercio del genoma humano. Estos «genes saltarines» pueden desplazarse de un lugar a otro del genoma durante la evolución, dando lugar a un número de copias y a posiciones variables, incluso en especies estrechamente relacionadas (p. ej., los humanos y otros primates). Aunque implicados en la regulación génica y la organización de la cromatina, la función de los elementos genéticos móviles no está bien definida.
- **Regiones estructurales especiales del ADN**, en particular, *telómeros* (extremos de los cromosomas) y *centrómeros* («anclajes» de los cromosomas). Un importante componente

de los centrómeros es el llamado *ADN satélite*, consistente en fragmentos grandes, de una longitud del orden de megabases, de secuencias repetidas (desde 5 pb hasta 5 kb). Aunque clásicamente asociado a la unión del huso acromático, el ADN satélite es también importante en el mantenimiento de la organización densamente empaquetada de la heterocromatina (v. más adelante).

Numerosas variaciones genéticas (polimorfismos) asociadas a enfermedades se localizan en regiones del genoma que no codifican proteínas. Así pues, es posible que la variación en la regulación génica tenga más importancia como causante de la enfermedad que los cambios estructurales en proteínas específicas. Otra sorpresa que reveló la secuenciación del genoma es que dos seres humanos cualesquiera tienen de manera característica un ADN idéntico en más del 99,5% (y una secuencia idéntica en un 99% ja la de los chimpancés!). Así pues, la variación individual, incluyendo la predisposición diferencial a las enfermedades y los estímulos ambientales, está codificada en menos del 0,5% de nuestro ADN (lo que constituye en torno a 15 millones de pb).

Las dos formas más comunes de variación del ADN en el genoma humano son los polimorfismos de nucleótido único (SNP) y las variaciones del número de copias (CNV).

- Los SNP son variantes en las posiciones de un solo nucleótido y son casi siempre bialélicas (solo existen dos opciones para un sitio determinado, como A o T, en una población). Se han identificado más de 6 millones de SNP humanos, muchos de los cuales presentan una amplia variación de frecuencia en diferentes poblaciones.

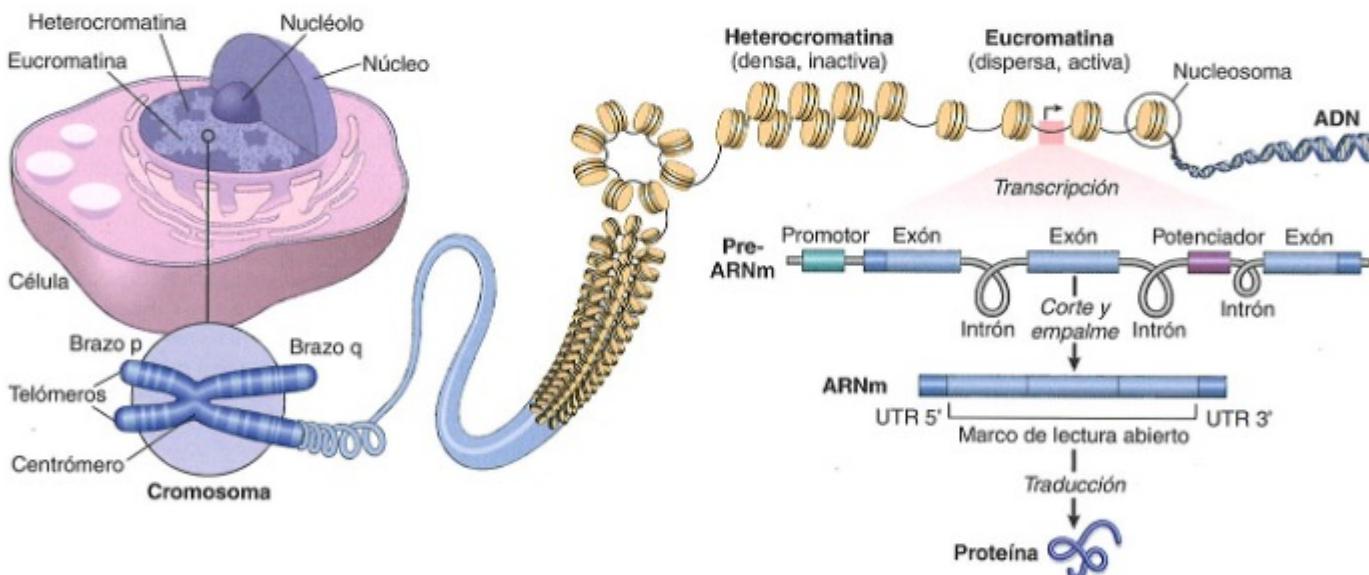


Figura 1.1 Organización del ADN nuclear. Con el microscopio óptico, se observa que el material genético está organizado en eucromatina, dispersa y transcripcionalmente activa, y heterocromatina, con empaquetamiento compacto y transcripcionalmente inactiva. En ocasiones, la cromatina está conectada mecánicamente con la membrana nuclear, y la perturbación de dicha membrana puede influir en la transcripción. Los cromosomas (como se muestra) solo se visualizan durante la mitosis. En ella, se organizan en cromátidas emparejadas conectadas en los centrómeros. Estos actúan como lugar para la formación de un complejo de proteínas del cinetocoro, que regula la segregación de proteínas en la metafase. Los telómeros son secuencias de nucleótidos repetitivos que cubren los extremos de las cromátidas y permiten la replicación repetida de los cromosomas, sin deterioro de los genes cerca de las terminaciones. Las cromátidas se organizan en brazos cortos «p» («petites») y largos «q» (la siguiente letra del alfabeto). El patrón en bandas característico de las cromátidas se atribuye a su contenido relativo en GC (menos contenido de GC en las bandas que en las zonas situadas entre ellas), con genes que tienden a localizarse en las regiones interbanda. Las fibras de cromatina individuales constan de un cordón de nucleosomas, es decir, de núcleos de ADN arrullados en torno a núcleos de histonas octaméricos, con los nucleosomas conectados mediante enlaces de ADN. Los denominados promotores son regiones no codificantes de ADN que inician la transcripción génica. Se sitúan en la misma cadena y en posición retrógrada respecto del gen asociado. Los potenciadores son elementos reguladores que modulan la expresión génica, a distancias de 100 kb o más, volviendo a los promotores y reclutando factores adicionales, que regulan la expresión de especies pre-ARN mensajero (ARNm). Las secuencias intrónicas posteriormente son sometidas a corte y empalme a partir del pre-ARNm, para producir el mensaje definitivo traducido en proteína, sin las regiones 3' y 5' no traducidas (UTR). Además de las secuencias potenciadoras, promotoras y UTR, los elementos no codificantes, que comprenden repeticiones cortas, regiones de unión a factores reguladores, ARN reguladores no codificantes y transposones, están distribuidos por todo el genoma.

- Los SNP se producen en todo el genoma, en exones, intrones, regiones intergénicas y regiones codificantes.
- Alrededor del 1% de los SNP se localizan en regiones codificantes, que es aproximadamente lo que sería previsible de manera casual, ya que las regiones codificantes comprenden en torno al 1,5% del genoma.
- Los SNP localizados en regiones no codificantes pueden producirse en elementos reguladores genómicos, alterando de este modo la expresión génica; en tales casos, los SNP influyen directamente en la predisposición a la enfermedad.
- Se cree que algunos SNP, denominados variantes «neutrales», no tienen efecto sobre la función de los genes o el fenotipo individual.
- Incluso los SNP «neutrales» pueden ser marcadores útiles si son coheredados con un polimorfismo asociado a enfermedad, como consecuencia de la proximidad física. En otras palabras, el SNP y el factor genético causal están en *desequilibrio de ligamiento*.
- El efecto de la mayor parte de los SNP sobre la predisposición a la enfermedad es débil, y aún está por ver si la identificación de tales variantes, solas o combinadas, puede utilizarse para desarrollar estrategias eficaces para identificar a las personas de riesgo y, en última instancia, prevenir la enfermedad.
- Las CNV son una forma de variación genética consistente en números distintos de fragmentos grandes de ADN contiguos. Pueden oscilar entre 1.000 y millones de pares de bases. Las CNV pueden ser bialélicas y duplicadas de manera simple o, alternativamente, pueden experimentar delección en algunos individuos. En otras localizaciones se producen reordenamientos complejos del material genómico, con múltiples variantes en la población humana.
 - Las CNV son responsables de entre 5 y 24 millones de pares de bases de diferencia de secuencia entre dos individuos cualesquier.
 - Alrededor del 50% de las CNV afectan a secuencias codificantes de genes. Así pues, las CNV pueden correlacionarse con una parte importante de la diversidad fenotípica humana.

Es importante tener en cuenta que las alteraciones en la secuencia del ADN no pueden explicar por sí mismas la diversidad de fenotipos en las poblaciones humanas. Asimismo, la herencia genética clásica no puede explicar los fenotipos diferentes en gemelos monocigóticos. Las respuestas a estos enigmas se centran probablemente en la *epigenética*, es decir, en los cambios heredables en la expresión génica que no son causados por variaciones en la secuencia del ADN (v. apartado siguiente).

Organización de las histonas

Aunque virtualmente todas las células del cuerpo tienen la misma composición genética, las células presentan estructuras y funciones distintas, como consecuencia de programas de expresión génica específicos de cada estirpe. Estas diferencias específicas del tipo celular en la transcripción y la traducción dependen de *factores epigenéticos* (literalmente, factores que están «por encima de la genética»), que pueden conceptualizarse según se expone a continuación (fig. 1.2):

- *Histonas y factores modificadores de las histonas.* Los nucleosomas corresponden a segmentos de ADN de 147 pb de longitud, arrollados alrededor de una estructura nuclear central de proteínas de bajo peso molecular altamente conservadas, llamadas *histonas*. El complejo ADN-histona resultante se asemeja a una serie de cuentas unidas por conectores de ADN cortos. El ADN desnudo de una sola célula humana tiene una

longitud de unos 1,8 m. Sin embargo, arrollado alrededor de las histonas, a modo de bobina, el genoma completo puede quedar compactado en un núcleo de apenas 7 u 8 μm de diámetro. En la mayoría de los casos, este ADN estructurado, llamado cromatina, no está arrollado de manera uniforme. Por eso, cuando se observa al microscopio óptico, la cromatina nuclear es reconocible como heterocromatina, citoquímicamente densa y que se considera transcripcionalmente inactiva, y eucomatina, dispersa y transcripcionalmente activa (v. fig. 1.1). En general, solo las regiones que están «desenrolladas» están disponibles para la transcripción. La estructura de la cromatina puede regular la transcripción independiente de los promotores tradicionales y de los elementos de unión al ADN y, dadas las variaciones entre los tipos celulares, ayuda a definir la identidad y la actividad celulares.

Las histonas no son estáticas, sino que son más bien estructuras altamente dinámicas, reguladas por un conjunto de proteínas nucleares. Por consiguiente, los complejos remodeladores de la cromatina pueden recolocar los nucleosomas en el ADN, exponiendo (u ocultando) elementos reguladores de los genes, como los promotores. Los complejos «escritores de cromatina», por otra parte, portan hasta 70 modificaciones de las histonas diferentes, genéricamente denominadas «marcas». Estas alteraciones covalentes comprenden metilación, acetilación o fosforilación de aminoácidos específicos en las histonas.

Los genes transcritos activamente en la eucomatina están asociados con marcas de histonas que hacen que el ADN sea accesible a las ARN polimerasas. En cambio, los genes inactivos tienen marcas de histonas que favorecen la compactación del ADN en heterocromatina. Las marcas de las histonas son reversibles mediante la actividad de los «borradores de cromatina». Existen, además, otras proteínas que actúan como «lectoras de la cromatina», uniéndose a las histonas portadoras de determinadas marcas y regulando así la expresión génica.

- *Metilación de las histonas.* Tanto las lisinas como las argininas pueden ser metiladas por enzimas escritoras específicas. La metilación de residuos lisina de la histona puede inducir activación o represión transcripcional, dependiendo de qué residuo de histona esté marcado.
- *Acetilación de las histonas.* Los residuos de lisina son acetilados por las histona acetiltransferasas (HAT), cuyas modificaciones tienden a abrir la cromatina y aumentar la transcripción. Por su parte, estos cambios pueden ser revertidos por las histona desacetilasas (HDAC), que producen condensación de cromatina.
- *Fosforilación de las histonas.* Los residuos de serina pueden ser modificados mediante fosforilación; dependiendo del residuo específico, puede abrirse para su transcripción o bien condensarse para quedar inactivo.
- *Metilación del ADN.* Los altos niveles de metilación del ADN en los elementos de regulación génica suelen condicionar un silenciamiento transcripcional. Al igual que las modificaciones de las histonas, la metilación del ADN está estrechamente controlada por las metiltransferasas, las enzimas desmetilantes y las proteínas de unión a ADN metilado.
- *Factores organizadores de la cromatina.* Se sabe mucho menos acerca de estas proteínas, que se cree que se unen a regiones no codificantes y controlan la formación de bucles de ADN de espectro largo, regulando así las relaciones espaciales entre los potenciadores y los promotores que regulan la expresión génica.

Descifrar los mecanismos que permiten que los factores epigenéticos controlen la organización genómica y la expresión génica según una pauta específica de cada tipo celular es una tarea extraordinariamente compleja. Sin embargo, a pesar de

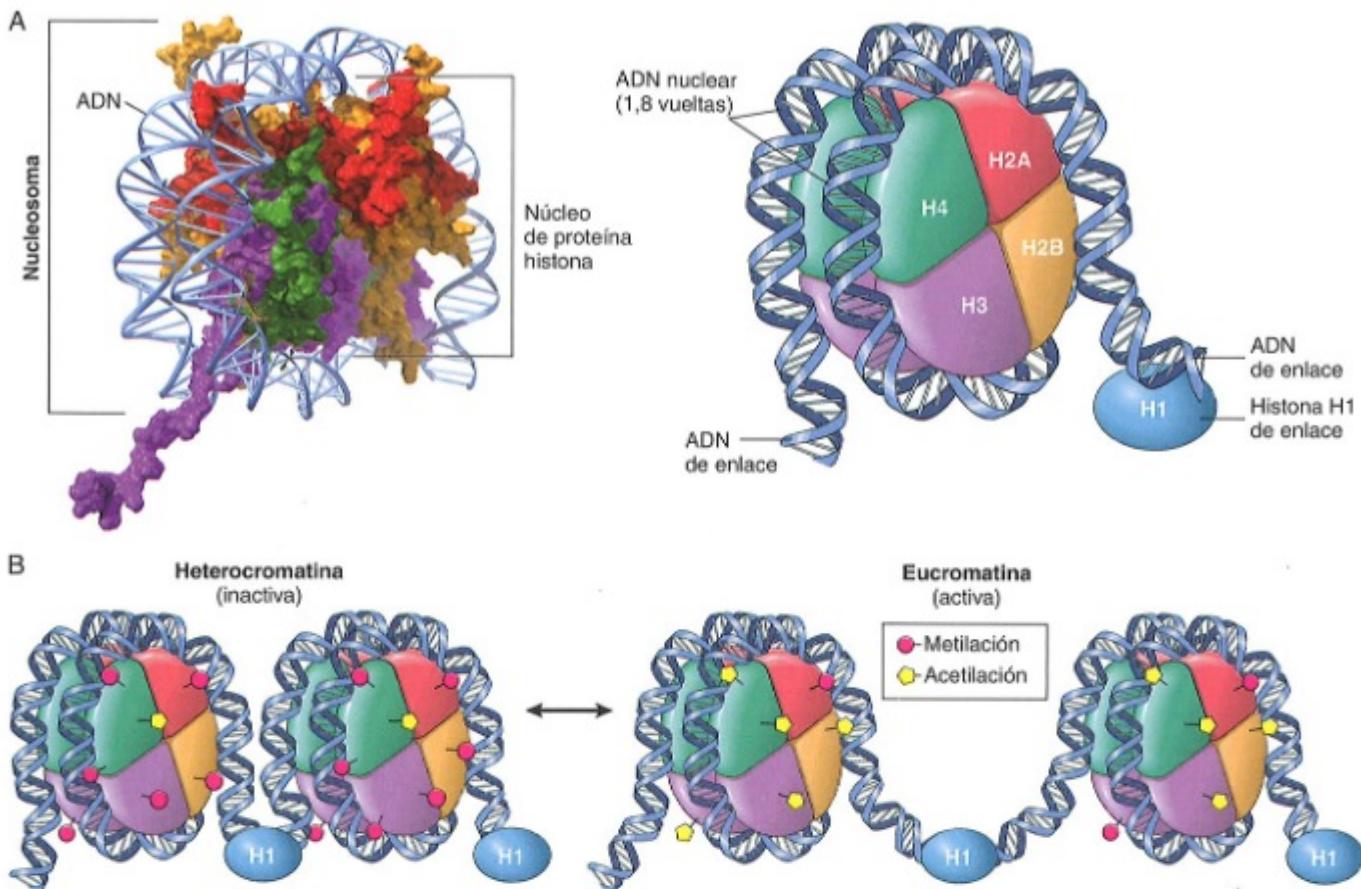


Figura 1.2 Organización de las histonas. **A.** Los nucleosomas están compuestos por octámeros de proteínas histonas (cada dos de ellas formadas por subunidades de histonas H2A, H2B, H3 y H4), rodeadas por 1,8 vueltas de 147 pb de ADN. Las histonas se localizan en secuencias de ADN de enlace de 20-80 nucleótidos entre los nucleosomas. Las subunidades de histonas tienen carga positiva, lo que permite la compactación del ADN cargado negativamente. **B.** El estado relativo de desenrollado del ADN (y, en consecuencia, el acceso a factores de transcripción) se regula mediante la modificación de las histonas, incluyendo acetilación, metilación y/o fosforilación. Estas «marcas» se generan y se borran dinámicamente. Algunas de estas marcas, como la acetilación de histonas, «abren» la estructura de la cromatina, mientras que otras, como la metilación de ciertos residuos de histonas, condensan el ADN e inducen silenciamiento génico. El propio ADN puede también metilarse, dando lugar a la inactivación de la transcripción.

esta complejidad, existe una amplia evidencia de que la regulación del «epigenoma» desempeña un papel destacado en el desarrollo de neoplasias malignas (v. capítulo 7), y datos emergentes indican que muchas otras enfermedades se asocian a alteraciones epigenéticas, hereditarias o adquiridas. A diferencia de lo que sucede con los cambios genéticos, numerosas alteraciones epigenéticas (p. ej., la acetilación de histonas y la metilación del ADN) son reversibles y susceptibles de intervención terapéutica. Las HDAC y los inhibidores de la metilación del ADN ya se están probando en el tratamiento de distintas formas de cáncer.

Micro-ARN y ARN largo no codificante

Los genes también son regulados por ARN no codificantes. Estas secuencias genómicas son transcritas, pero no traducidas. Aunque existen numerosas familias distintas de ARN no codificantes, aquí trataremos solo dos ejemplos: las moléculas de ARN pequeñas llamadas *micro-ARN* (*miARN*) y los ARN largos no codificantes (*ARNlnc*) (> 200 nucleótidos de largo).

Micro-ARN

Los miARN no codifican proteínas, sino que modulan la traducción de los ARN mensajeros (ARNm) diana. El silenciamiento postranscripcional de la expresión génica por los miARN es un mecanismo fundamental y bien conservado,

de regulación génica presente en todos los eucariotas (plantas, animales y hongos). Incluso las bacterias tienen una versión primitiva de ese mismo mecanismo, que utilizan para protegerse frente al ADN extraño (p. ej., el ADN de fagos y virus). La profunda influencia de los miARN en la expresión de proteínas permite que estos ARN relativamente cortos (22 nucleótidos de media) sean reguladores fundamentales de las vías de desarrollo y de las alteraciones patológicas (p. ej., el cáncer).

El genoma humano codifica casi 6.000 genes de miARN, alrededor del 30% de todos los genes que codifican proteínas. Los miARN individuales pueden regular múltiples genes que codifican proteínas, lo que hace que cada miARN corregule programas completos de expresión génica. La transcripción de los genes de miARN produce un transcripto primario (pri-miARN) que es procesado en segmentos progresivamente más cortos, incluyendo la fragmentación por parte de la enzima *Dicer*. De este modo se generan miARN monocatenarios maduros de entre 21 y 30 nucleótidos, que se asocian a un agregado multi-proteínico llamado *complejo silenciador inducido por ARN* (*RISC*) (fig. 1.3). El ulterior emparejamiento de bases entre la cadena de miARN y su ARNm diana dirige el complejo RISC a la escisión del ARNm o a la represión de su traducción. De este modo, el ARNm diana es *silenciado tras su transcripción*.

El ARN pequeño de interferencia (*ARNpi*) consta de secuencias cortas de ARN que pueden introducirse experimentalmente en células, en las que actúan como sustrato para la enzima *Dicer*

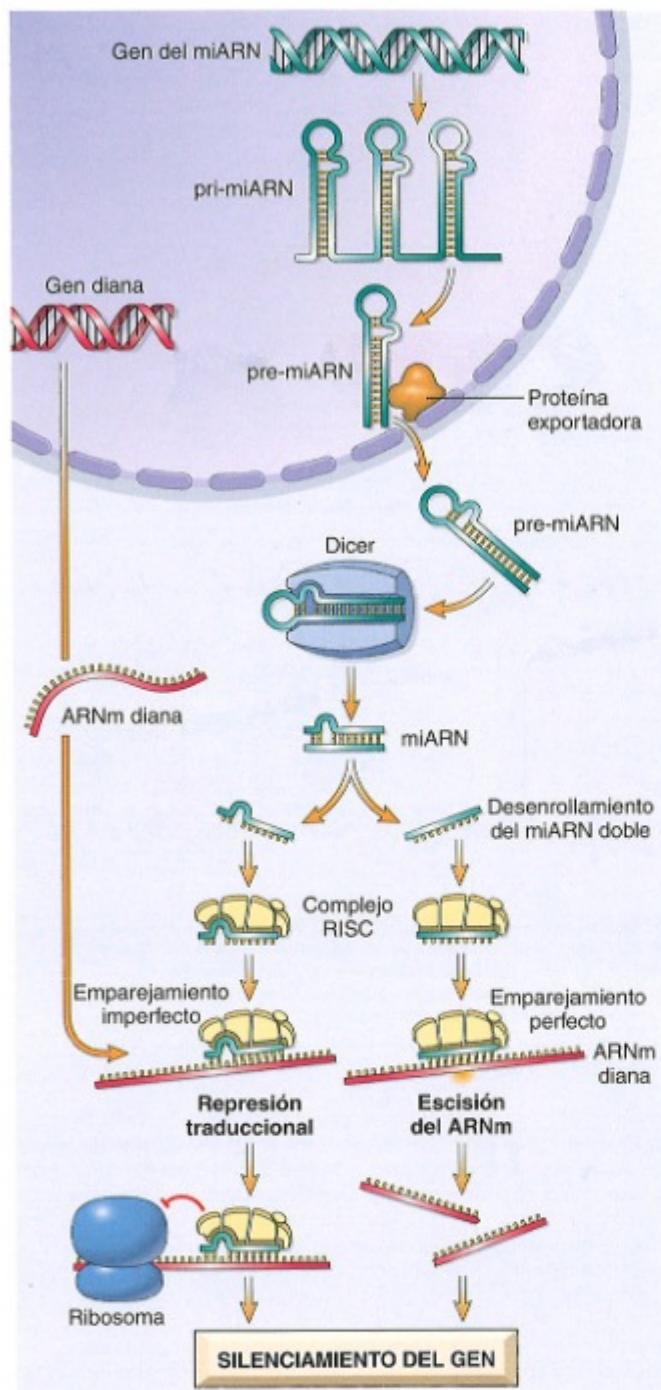


Figura 1.3 Generación de micro-ARN (miARN) y su modo de actuación en la regulación de la función génica. La transcripción de un miARN produce un miARN primario (pri-miARN), que es procesado en el núcleo para formar un pre-miARN, compuesto por una sola cadena de ARN con estructuras en horquilla secundarias que forman secuencias de ARN bicatenario. Tras la exportación fuera del núcleo por medio de proteínas transportadoras específicas, el pre-miARN es cortado por la enzima citoplásmica Dicer, generando miARN maduros bicatenarios de entre 21 y 30 nucleótidos. A continuación, el miARN se desenrolla y las cadenas resultantes se incorporan al complejo silenciador inducido por ARN (RISC) con múltiples proteínas. El emparejamiento de bases entre el miARN monocatenario y su ARNm diana dirige al RISC, para escindir ese ARNm diana o para reprimir su traducción. En ambos casos, el gen del ARNm diana es silenciado tras la transcripción.

© Elsevier. Fotocopiar sin autorización es un delito.

e interactúan con el RISC, reproduciendo así la función endógena de los miARN. Los ARNpi sintéticos, que se dirigen a tipos específicos de ARNm, son potentes herramientas de laboratorio para estudiar la función de los genes (mediante la llamada tecnología de inactivación), y también se están estudiando como potenciales agentes terapéuticos para silenciar genes patógenos (p. ej., oncogenes impulsores de transformación neoplásica).

ARN largo no codificante

Recientes estudios han identificado un ingente número de ARNlnc no utilizados, que, según algunos cálculos, podrían ser entre 10 y 20 veces más numerosos que los ARNm codificantes. Los ARNlnc modulan la expresión génica a través de varios mecanismos (fig. 1.4). Por ejemplo, los ARNlnc pueden unirse a la cromatina y restringir el acceso de la ARN polimerasa a los genes codificantes en esa región. El ejemplo más conocido es el gen *XIST*, que es transcrita a partir del cromosoma X y desempeña una función esencial en la inactivación fisiológica del cromosoma X que se produce en las mujeres. El propio *XIST* evita la inactivación de X, pero forma un «manto» represor en el cromosoma X a partir del cual se ha transcritto, dando lugar

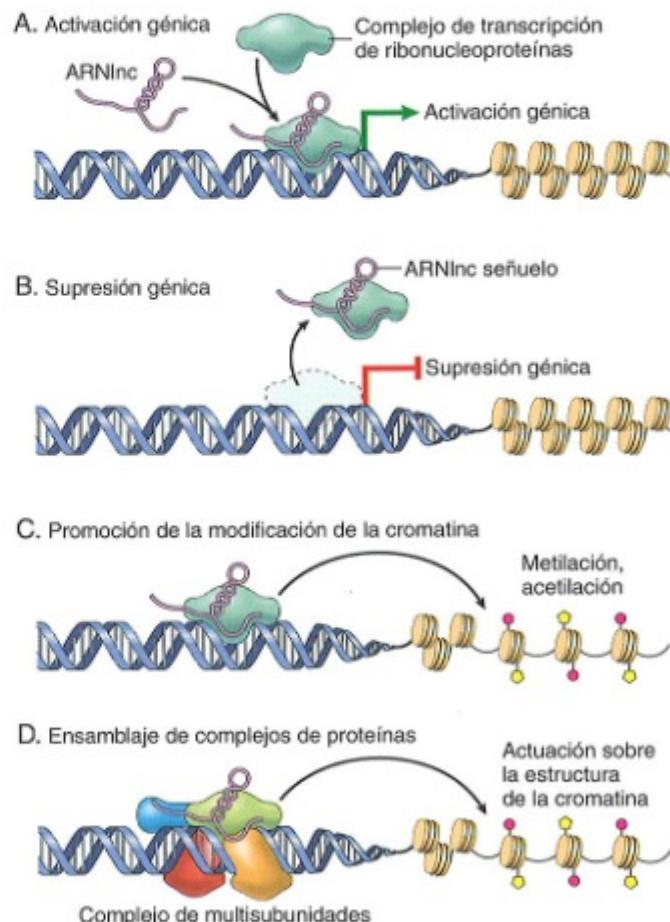


Figura 1.4 Funciones de los ARN largos no codificantes (ARNlnc). **A.** Los ARNlnc pueden facilitar la unión de factores de transcripción, promoviendo así la activación génica. **B.** Por el contrario, los mismos ARNlnc pueden unirse de manera preventiva a factores de transcripción para inhibirla. **C.** La modificación de las histonas y el ADN a cargo de acetilasas y metilasas (o desacetilasas y desmetilasas) puede ser dirigida por la unión de ARNlnc. **D.** En otros casos, los ARNlnc actúan como soporte estructural para estabilizar estructuras secundarias o terciarias y complejos de múltiples subunidades que influyen en la arquitectura de la cromatina o la actividad génica. (Modificado de Wang KC, Chang HY: Molecular mechanisms of long noncoding RNAs, Mol Cell 43:904, 2011.)

a silenciamiento génico. En cambio, muchos potenciadores son en realidad sitios de síntesis de ARNlnc. En este caso, los ARNlnc expanden la transcripción a partir de promotores génicos mediante varios mecanismos (v. fig. 1.4).

Edición génica

Un interesante nuevo desarrollo que permite una edición de alta fidelidad del genoma puede marcar el inicio de una nueva era en la revolución molecular. Este avance procede de una fuente por completo inesperada: el descubrimiento de las *repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente espaciadas (CRISPR)* y de los genes asociados a CRISPR (Cas), como el de la Cas9 nucleasa. Se trata de elementos genéticos relacionados, que dotan a los procariotas de una forma de inmunidad adquirida a los fagos y plásmidos. Las bacterias usan el sistema para identificar muestras del ADN de los agentes infecciosos e integrar porciones de este en sus genomas en forma de CRISPR. Estos segmentos de CRISPR son posteriormente transcritos y procesados en secuencias de ARN guía, que se unen a la Cas9 nucleasa y la dirigen a sitios específicos (p. ej., una secuencia de fagos), de modo que pueda escindirse para inhabilitar el agente infeccioso.

La edición génica readapta este proceso utilizando ARN guía (ARNg) artificiales de 20 bases que se unen a la Cas9 y son complementarios de una secuencia de ADN tomada como objetivo (fig. 1.5). La Cas9 induce a continuación roturas en el ADN bicatenario en el sitio de unión al ARNg. La reparación de las fragmentaciones, altamente específicas, puede dar lugar a mutaciones disruptivas aleatorias (por unión de extremos no homólogos) o puede introducir con precisión nuevo material genético (mediante recombinación homóloga). Tanto las secuencias guía como la enzima Cas, bien como ADN codificador (ADNc) o bien como proteína, pueden ser fácilmente introducidas en las células. La potencial aplicación a la ingeniería genética, dada la tremenda especificidad del sistema Cas9 (hasta 10.000 veces superior que la de otros sistemas de edición anteriores), ha suscitado gran expectación. Entre sus aplicaciones se cuenta la inserción de mutaciones específicas en células y tejidos, con objeto de crear modelos de cáncer y otras enfermedades, y la generación rápida de modelos de animales transgénicos a partir de células madre embrionarias editadas. La tecnología CRISPR también permite la edición selectiva de mutaciones causantes de enfermedades hereditarias o, lo que tal vez resulta más preocupante, la eliminación de rasgos poco «deseables». En este contexto, cabe prever que la tecnología sea objeto de un encendido debate sobre la ética de su uso.

MANTENIMIENTO CELULAR

El funcionamiento normal de la célula y la homeostasis intracelular dependen de varias funciones de limpieza y mantenimiento celular, que todas las células diferenciadas deben realizar para conservar su viabilidad y mantener su actividad normal. Entre ellas se cuentan la protección frente al entorno, la adquisición de nutrientes, el metabolismo, la comunicación, el movimiento, la renovación de moléculas senescentes, el catabolismo molecular y la generación de energía.

Muchas de las funciones de mantenimiento normales de la célula están compartmentalizadas en orgánulos intracelulares rodeados por membrana (fig. 1.6). El aislamiento de ciertas funciones celulares en compartimentos diferentes permite que las enzimas degradativas potencialmente lesivas o los metabolitos tóxicos permanezcan en concentraciones provechosamente altas sin riesgo de dañar los componentes intracelulares más

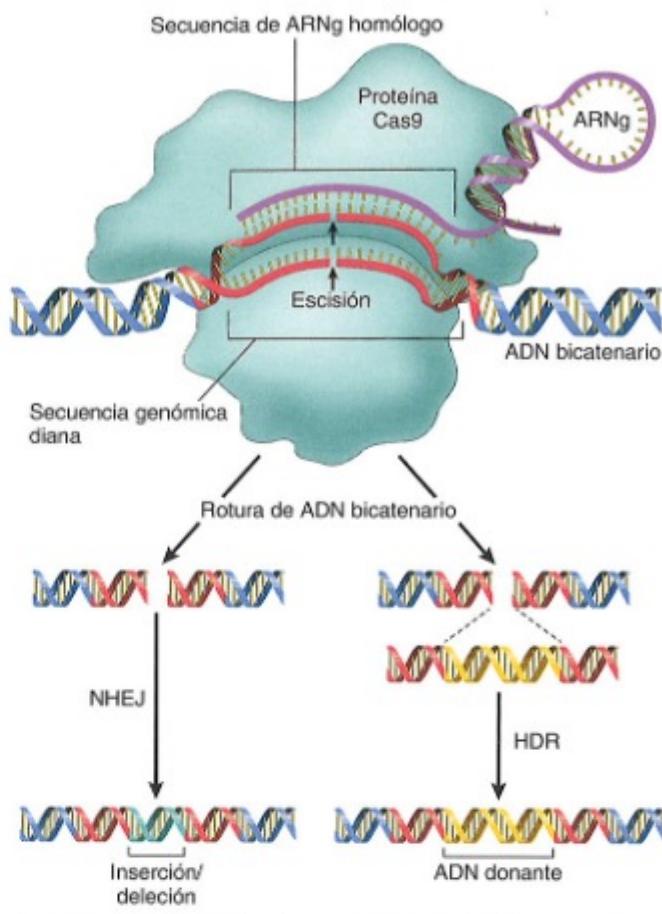


Figura 1.5 Edición génica con repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente espaciadas (CRISPR) y la nuclease Cas9. En las bacterias, las secuencias de ADN integradas por CRISPR son transcritas a ARN guía (ARNg), con una región constante y una secuencia variable de aproximadamente 20 bases. Las regiones constantes de ARNg se unen a la Cas9, mientras que las regiones variables forman heterodípletos con secuencias de interés de ADN homólogos. La nuclease Cas9 escinde, a continuación, el ADN unido para producir una rotura del ADN bicatenario. En la naturaleza, las bacterias utilizan el sistema CRISPR/Cas9 para protegerse de fagos y plásmidos. Las secuencias de CRISPR de agresiones previas son transcritas a ARNg a partir del genoma bacteriano. Estas se unen a secuencias de nucleótidos patógenos y forman un complejo con la nuclease Cas9, que induce escisión y, en última instancia, destrucción del ADN invasor.

Para poder realizar la edición génica, se diseñan los ARNg con regiones variables que son homólogas de una secuencia de ADN de interés específico. La coexpresión de ARNg y Cas9 permite una escisión eficaz y altamente específica de la secuencia diana. En ausencia de ADN homólogo, la rotura bicatenaria es reparada por la unión de extremos no homólogos (NHEJ), un mecanismo propenso al error que, de manera característica, introduce inserciones o delecciones disruptivas (indels). A la inversa, en presencia de ADN «donante» homólogo, que cubre la región objetivo del complejo CRISPR/Cas9, las células pueden utilizar la recombinación de ADN homólogo (HDR) para reparar la rotura. La HDR es menos eficaz que la NHEJ, pero permite introducir cambios precisos en la secuencia de ADN. Las potenciales aplicaciones del complejo CRISPR/Cas9 acoplado a la HDR comprenden reparación de secuencias de enfermedades genéticas hereditarias y creación de mutaciones patógenas en células madre pluripotenciales inducibles.

delicados. Además, la compartmentalización también permite la creación de medios intracelulares específicos (p. ej., de pH bajo o con altas concentraciones de calcio), lo que favorece una función más eficaz de ciertas enzimas o vías metabólicas.

Las nuevas proteínas destinadas a la membrana plasmática o la secreción son ensambladas físicamente en el retículo

Volúmenes relativos de los orgánulos intracelulares (hepatocito)

Compartimento	% de volumen total	Número/célula	Función en la célula
Citosol	54%	1	Metabolismo, transporte, traducción de proteínas
Mitocondrias	22%	1.700	Generación de energía, apoptosis
RE rugoso	9%	1	Síntesis de membrana y proteínas exportadas
RE liso, Golgi	6%	1	Modificación, clasificación y catabolismo de proteínas
Núcleo	6%	1	Regulación celular, proliferación y transcripción de ADN
Endosomas	1%	200	Transporte intracelular y exportación
Lisosomas	1%	300	Catabolismo celular
Peroxisomas	1%	400	Metabolismo de ácidos grasos de cadena muy larga

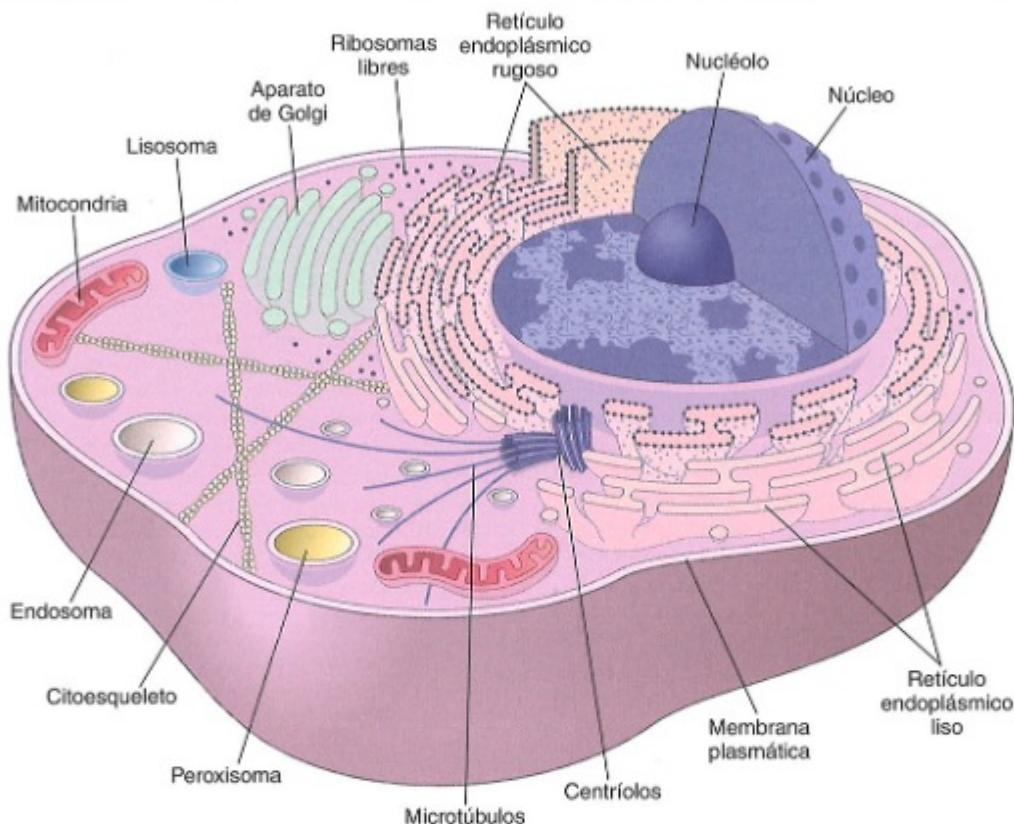


Figura 1.6 Componentes subcelulares básicos de las células. La tabla presenta el número de los diferentes orgánulos de un hepatocito típico, así como su volumen en la célula. La figura muestra las relaciones geográficas, pero no se ha realizado a una escala exacta. RE, retículo endoplásmico. (Modificado de Weibel ER, Stäubli W, Gnägi HR, et al: Correlated morphometric and biochemical studies on the liver cell. I. Morphometric model, stereologic methods, and normal morphometric data for rat liver. *J Cell Biol* 42:68, 1969.)

endoplásmico rugoso (RER) y el *aparato de Golgi*, mientras que las proteínas dirigidas al citosol son sintetizadas en ribosomas libres. El *retículo endoplásmico liso* (REL) se utiliza para la síntesis de hormonas esteroideas y lipoproteínas, y para la transformación de compuestos hidrófobos en moléculas hidrosolubles, para su exportación.

Las células catabolizan la amplia variedad de moléculas que captan por endocitosis, así como el repertorio completo de sus propias proteínas y orgánulos, todos los cuales son degradados y renovados de manera constante. La descomposición de estos componentes tiene lugar en tres localizaciones distintas, que desarrollan distintas funciones.

- Los *proteosomas* son complejos «de desecho» que degradan las proteínas citosólicas desnaturadas o «marcadas» de algún modo. En las células presentadoras de抗原, los péptidos cortos resultantes se presentan asociados a las moléculas de histocompatibilidad principal de clase I o II, para ayudar a dirigir la respuesta inmunitaria adaptativa (v. capítulo 6). En otros casos, la degradación proteosómica

de proteínas o factores de transcripción reguladores puede iniciar o suprimir la transmisión a través de las vías de señalización.

- Los *lisosomas* son orgánulos intracelulares con enzimas degradativas, que permiten la digestión de una amplia variedad de macromoléculas, entre ellas proteínas, polisacáridos, lípidos y ácidos nucleicos. En ellos se produce la degradación de los orgánulos intracelulares senescentes (en un proceso llamado *autofagia*), y ocurre la fagocitosis, la destrucción y el catabolismo de los microbios.
- Los *peroxisomas* contienen catalasa, peroxidasa y otras enzimas oxidativas. Desempeñan una función especializada en la descomposición de ácidos grasos de cadena muy larga, generando peróxido de hidrógeno en el proceso.

El contenido y la localización de los orgánulos celulares también están altamente regulados. Las *vesículas endosómicas* transportan el material interiorizado al sitio o los sitios

intracelulares apropiados, mientras que otras vesículas recubiertas de membrana dirigen los materiales de nueva síntesis a la superficie celular o a órganulos específicos. El movimiento, tanto de los órganulos como de las proteínas en el interior de la célula, y de la propia célula en su entorno, lo realiza el *citoesqueleto*, compuesto por filamentos de actina (microfilamentos), queratinas (filamentos intermedios) y microtúbulos. Estas proteínas estructurales también mantienen la forma celular y la organización intracelular, esenciales para la generación y el mantenimiento de la *polaridad celular*. Esta es particularmente importante en el epitelio, donde la parte superior de la célula (*apical*) y las partes inferior y laterales (*basolaterales*) están expuestas a entornos diferentes y realizan funciones distintas. La pérdida de polaridad podría, por ejemplo, alterar el transporte transcelular vectorial en el intestino o el túbulos renales.

El crecimiento y la conservación celulares requieren un aporte constante de energía y de los ladrillos necesarios para la síntesis de las macromoléculas. La mayor parte del trifosfato de adenosina (ATP) que proporciona energía a las células se genera por *fosforilación oxidativa mitocondrial*. Las mitocondrias también son una importante fuente de productos metabólicos intermedios necesarios para el metabolismo anabólico, son el lugar de síntesis de ciertas macromoléculas (p. ej., el hemo) y contienen importantes detectores de daño celular, que pueden iniciar y regular la muerte celular programada (p. ej., apoptosis).

En las células en crecimiento y en división, todos los órganulos deben replicarse (*biogenia orgánica*) y distribuirse correctamente en las células hijas después de la mitosis. Además, dado que la duración de las macromoléculas y los órganulos es limitada (las mitocondrias, por ejemplo, viven apenas 10 días), también tiene que haber mecanismos que favorezcan el reconocimiento y la degradación de los componentes celulares «agotados».

Una vez expuestas estas premisas, pasaremos a analizar los componentes celulares y sus funciones con más detalle.

Membrana plasmática: protección y adquisición de nutrientes

Las membranas plasmáticas (y también todas las demás membranas de los órganulos) son más que simples revestimientos lipídicos estáticos. Son más bien bicapas fluidas de fosfolípidos anfipáticos, con grupos de cabezas hidrófilas enfrentadas al medio acuoso y colas lipídicas hidrófobas, que interactúan entre sí para formar una barrera frente a la difusión pasiva de moléculas grandes o cargadas (fig. 1.7). La bicapa presenta una composición notablemente heterogénea con diferentes fosfolípidos de localización variable y que tienen una disposición asimétrica, de forma que los lípidos de membrana se asocian preferentemente a las caras extracelulares o citosólicas. La localización apropiada de estas moléculas es importante para la salud celular. Por ejemplo, fosfolípidos específicos interactúan con proteínas de membrana y modifican sus distribuciones y funciones.

- El *fosfatidilinositol* de la hoja de la membrana interna puede ser fosforilado, actuando como soporte electrostático de las proteínas intracelulares. Alternativamente, los polifosfatidilinositidos pueden ser hidrolizados por la fosfolipasa C para generar segundas señales intracelulares, como el diacilglicerol y el trifosfato de inositol.
- La *fosfatidilsérina* queda normalmente restringida a la cara interna, a la que confiere una carga negativa, implicada en las interacciones proteínicas electrostáticas. No obstante, cuando se cambian a la hoja extracelular, se transforma en una potente señal de «cómeme» durante la muerte celular programada (p. ej., apoptosis). En las plaquetas, la fosfatidilsérina también es un cofactor en la coagulación sanguínea.

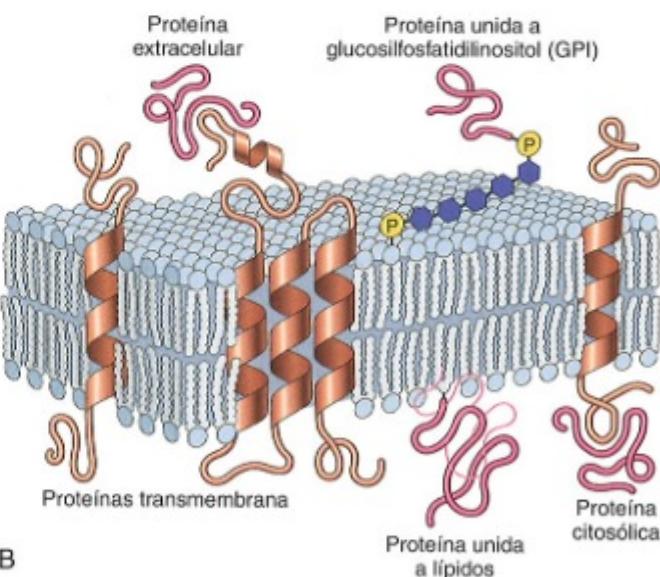
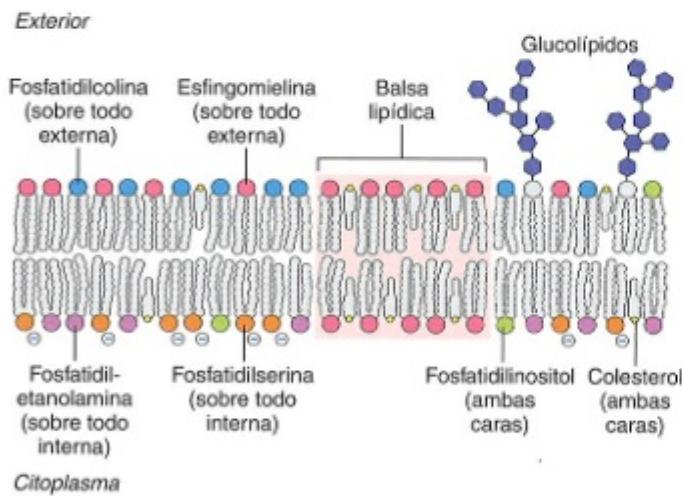


Figura 1.7 Organización y asimetría de la membrana plasmática. **A.** La membrana plasmática es una bicapa de fosfolípidos, colesterol y proteínas asociadas. La distribución de los fosfolípidos en la membrana es asimétrica, debido a la actividad de las flipasas; la fosfatidicolina y la esfingomielina están sobrerepresentadas en la cara externa, y la fosfatidilsérina (carga negativa) y la fosfatidiletanolamina se hallan predominantemente en la cara interna. Los glucolípidos solo están en la superficie externa, en la que forman parte del glucocálix extracelular. Aunque la membrana es fluida en sentido lateral y sus diversos componentes se difunden de manera aleatoria, también pueden formarse dominios específicos, por ejemplo, de colesterol y balsas lipídicas ricas en glucoesfingolípidos. **B.** Las proteínas asociadas a la membrana pueden atravesarla (de modo individual o múltiple) a través de secuencias de aminoácidos hidrófobos α -helicoidales. Dependiendo del contenido lipídico de la membrana y de la hidrofobia relativa de los dominios de proteínas, esas proteínas pueden presentar distribuciones no aleatorias en la membrana. Las de la cara citosólica pueden asociarse a la membrana plasmática, mediante modificaciones postraduccionales (p. ej., farnesilación) o por adición de ácido palmitico. Las proteínas de la cara extracitoplasmática se asocian a la membrana mediante enlaces de glucosilfosfatidilinositol (GPI). Además de las interacciones proteína-proteína en la membrana, las proteínas de la membrana pueden también relacionarse con proteínas extracelulares y/o intracitoplasmáticas para generar dominios diferenciados (p. ej., el complejo de adhesión focal). Las proteínas transmembrana pueden transmitir las fuerzas mecánicas (p. ej., del citoesqueleto o la matriz extracelular) y también señales químicas a través de la membrana.

- Los **glucolípidos** y la **esfingomielina** se localizan preferentemente en la cara extracelular. Los glucolípidos, incluidos los gangliósidos con enlaces de azúcares complejos y ácidos siálicos terminales que confieren cargas negativas, dan soporte a las interacciones basadas en la carga que contribuyen al reclutamiento de las células inflamatorias y a la fusión espermatozoide-óvulo.

A pesar de la sustancial fluidez lateral, algunos constituyentes de la membrana se concentran en dominios especializados (p. ej., las *balsas lipídicas*), enriquecidos en glucoesfingolípidos y colesterol. Dado que las proteínas de membrana insertadas tienen diferentes solubilidades intrínsecas en dominios con diferentes composiciones lipídicas, esta organización de membrana también repercute en la distribución de proteínas. Dicha distribución geográfica de los componentes de la membrana plasmática tiene efecto sobre las interacciones célula-célula y célula-matriz, la señalización intracelular y los sitios especializados de gemación o fusión de vesículas.

La membrana plasmática está tachonada por diversas proteínas y glucoproteínas implicadas en: 1) el transporte de iones y metabolitos; 2) la captación de macromoléculas en fase líquida y mediada por receptores, y 3) las interacciones célula-ligando, célula-matriz y célula-célula. El tipo de asociación entre estas proteínas y las membranas refleja con frecuencia su función. Por ejemplo, múltiples proteínas transmembrana son a menudo poros o transportadores moleculares, mientras que las proteínas que se fijan superficialmente a la membrana por medio de uniones lábiles suelen estar implicadas en la señalización. En general, las proteínas se asocian a la bicapa lipídica por uno de los cuatro mecanismos siguientes.

- La mayoría de las proteínas son proteínas integrales o transmembrana, con uno o más segmentos α -helicoidales hidrófobos que atraviesan la bicapa lipídica.
- Las proteínas sintetizadas en ribosomas libres en el citosol pueden ser modificadas tras la traducción mediante la adición de grupos prenilo (p. ej., farnesilo, relacionado con el colesterol) o ácidos grasos (p. ej., ácidos palmítico o mirístico), que se insertan en la vertiente citosólica de la membrana plasmática.
- Las proteínas situadas en la cara extracelular de la membrana pueden ser fijadas por colas de glucosilfosfatidilinositol (GPI) añadidas tras la traducción.
- Las proteínas de la membrana periférica pueden asociarse de modo no covalente a proteínas transmembrana verdaderas.

Muchas proteínas de la membrana plasmática funcionan como grandes complejos. Dichas proteínas pueden agregarse bajo el control de moléculas chaperonas en el RER o por difusión lateral en la membrana plasmática, seguidas de formación de complejos *in situ*. Por ejemplo, numerosos receptores de proteínas (p. ej., receptores de citocinas) se dimerizan o trimerizan en presencia de un ligando, para formar unidades de señalización funcionales. Aunque las bicapas lipídicas son fluidas en el plano de la membrana, sus componentes pueden quedar limitados a dominios aislados. Esto puede producirse por localización en balsas lipídicas (antes mencionadas) o por interacciones proteína-proteína intercelulares (p. ej., en *uniones estrechas o herméticas*), que establecen límites definidos y tienen una composición lipídica específica. Esta última estrategia se utiliza para mantener la **polaridad celular** (p. ej., partes superior/apical/libre frente a partes inferior/basolateral/limfrofe en relación con la matriz extracelular [MEC]) en las células epiteliales. Las interacciones de otras proteínas de membrana y citosólicas, entre sí y con el citoesqueleto, también contribuyen a la polaridad celular.

La vertiente extracelular de la membrana plasmática está difusamente decorada por hidratos de carbono, no solo en forma de oligosacáridos en glucoproteínas y glucolípidos, sino también como cadenas de polisacáridos unidos a proteoglucanos de membrana integrales. Este **glucocálix** puede constituir una barrera química y mecánica.

Transporte de membrana

Aunque la barrera que proporcionan las membranas plasmáticas es fundamental, el transporte de determinadas moléculas a través de la bicapa lipídica o a sitios intracelulares mediante el transporte a través de vesículas resulta también esencial. Diversos mecanismos contribuyen a este transporte.

Difusión pasiva. Las moléculas no polares pequeñas, como el O₂ y el CO₂, se disuelven con facilidad en las bicapas lipídicas y, en consecuencia, se difunden con rapidez a través de ellas. Las moléculas hidrófobas más grandes (p. ej., moléculas de base esteroidea, como el estradiol o la vitamina D) también atraviesan las bicapas lipídicas con relativa facilidad. Aunque las moléculas polares pequeñas, como el agua (18 Da), también difunden a través de las membranas en velocidades bajas, en los tejidos responsables de un movimiento de agua significativo (p. ej., los del epitelio tubular renal), unas proteínas de membrana integrales especiales, llamadas acuaporinas, forman canales transmembrana para el agua, el H₂O₂ y otras moléculas pequeñas. En cambio, la bicapa lipídica es una barrera eficaz frente al paso de moléculas polares de mayor tamaño (> 75 Da); con sus 180 Da, por ejemplo, se impide un paso eficaz de la glucosa. Las bicapas lipídicas también son impermeables a los iones, debido a su carga e hidratación.

Transportadores y canales (fig. 1.8). Las proteínas de transporte de la membrana plasmática son necesarias para la captación y la secreción de iones y de moléculas grandes requeridas para las funciones celulares (p. ej., captación de nutrientes y eliminación de desechos). Los iones y las moléculas pequeñas pueden ser transportados por proteínas de los canales y por proteínas transportadoras. Unos poros y canales parecidos también median el transporte a través de las membranas de los orgánulos. Estos transportadores, que permiten el desplazamiento de iones, azúcares, nucleótidos, etc., a menudo presentan especificidades singulares, y pueden ser activos o pasivos (v. más adelante). Por ejemplo, algunos transportadores aceptan la glucosa, pero rechazan la galactosa.

- Las *proteínas de los canales* crean poros hidrófilos, cuya apertura permite el movimiento rápido de solutos (habitualmente limitado por el tamaño y la carga).
- Las *proteínas transportadoras* se unen a su soluto específico y experimentan una serie de cambios conformacionales para desplazar el ligando a través de la membrana; su transporte es relativamente lento.

El transporte de solutos a través de la membrana plasmática es muchas veces impulsado por un gradiente de concentración y/o eléctrico entre el interior y el exterior de la célula por *transporte pasivo* (virtualmente, todas las membranas plasmáticas presentan una diferencia de potencial eléctrico a través de ellas, y el interior es negativo en relación con el exterior). En otros casos, el *transporte activo* de ciertos solutos (contra un gradiente de concentración) lo realizan las moléculas transportadoras (nunca las de los canales) a expensas de la hidrólisis del ATP o de un gradiente iónico acoplado. Por ejemplo, la mayoría de los transportadores de nutrientes apicales del intestino y los túbulos renales aprovechan el gradiente de Na⁺ de extracelular a intracelular para permitir la absorción incluso cuando las

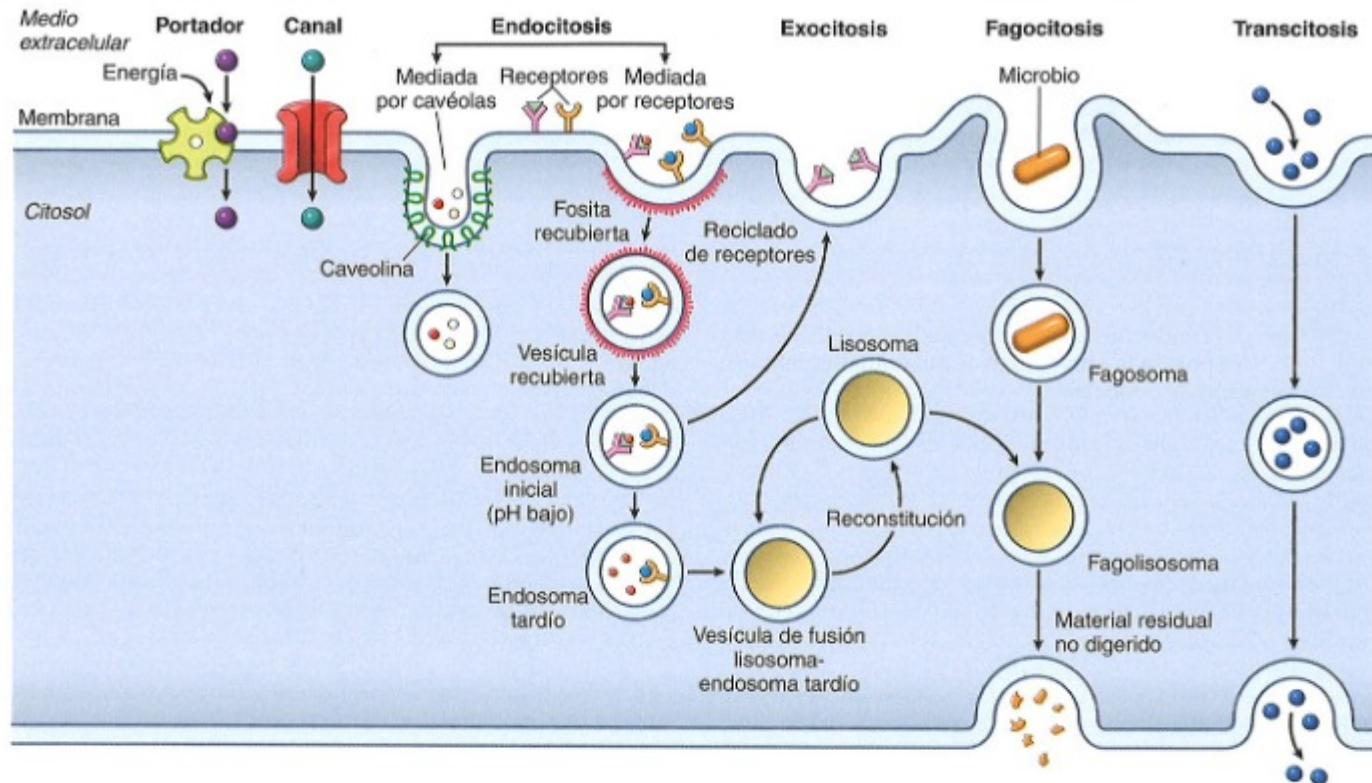


Figura 1.8 Movimiento de moléculas pequeñas y estructuras más grandes a través de las membranas. La bicapa lipídica es relativamente impermeable a todas las moléculas, excepto a las más pequeñas y/o las más hidrófobas. En consecuencia, la importación o exportación de especies cargadas requiere proteínas transportadoras transmembrana específicas, circulación a través de vesículas o deformaciones de la membrana.

De izquierda a derecha en la figura: los solutos pequeños cargados pueden atravesar la membrana utilizando proteínas canal o transportadoras. En general, cada molécula requiere un transportador específico. Los canales se emplean cuando los gradientes de concentración pueden impulsar el movimiento del soluto. La activación del canal abre un poro hidrófilo que permite un flujo con limitaciones en función del tamaño y la carga. Las proteínas transportadoras son necesarias cuando el soluto se desplaza contra un gradiente de concentración. Este proceso suele consumir energía para impulsar un cambio conformacional en el portador que facilite el paso a través de la membrana de moléculas específicas.

La captación de material mediada por receptores y en fase líquida utiliza vesículas rodeadas por membrana. Las cavéolas endocitan líquido extracelular, proteínas de membrana y ciertas moléculas unidas a receptores (p. ej., folato), en un proceso dirigido por las proteínas caveolinas, concentradas en las balsas lipídicas. Dichas proteínas pueden posteriormente fusionarse con endosomas o reciclarse a la membrana. La endocitosis de pares receptor-ligando a menudo se realiza a través de las fositas y vesículas revestidas por clatrina. Después de la internalización, la clatrina se disocia y sus componentes individuales pueden ser reutilizados. La vesícula resultante pasa a formar parte de la vía endocítica, en la que los compartimentos se acidifican progresivamente. Después de la liberación del ligando, el receptor puede ser reciclado a la membrana plasmática para repetir el proceso (p. ej., el hierro se disocia de la transferrina a un pH de ~5,5; la apotransferrina y el receptor de transferrina vuelven a continuación a la superficie). Alternativamente, los complejos receptor y ligando pueden, en última instancia, degradarse en los lisosomas (p. ej., el factor de crecimiento epidérmico y su receptor son ambos degradados, lo que evita una señalización excesiva). La exocitosis es el proceso a través del cual vesículas rodeadas de membrana se fusionan con la membrana plasmática y descargan su contenido al espacio extracelular. Dentro de esta se incluye el reciclaje de endosomas (mostrado), la liberación de material residual no digerido de los lisosomas, la liberación por transcitosis de vesículas y la exportación del contenido de vacuolas secretoras (no mostrada). La fagocitosis implica la invaginación de la membrana para englobar partículas grandes y es más frecuente en los fagocitos especializados (p. ej., macrófagos o neutrófilos). Los fagosomes así constituidos se acabarán fusionando con los lisosomas, para facilitar la degradación del material internalizado. La transcitosis puede mediar el transporte transcelular, en dirección apical-basal o basal-apical, dependiendo del receptor y el ligando.

concentraciones de nutrientes intracelulares son superiores a las extracelulares. Esta forma de transporte activo no utiliza el ATP directamente, sino que depende del gradiente de Na^+ generado por la $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ -ATPasa. Otros transportadores son las ATPasas. Un ejemplo es la *proteína de resistencia a múltiples fármacos (MRP)*, que saca mediante bombeo los compuestos polares (p. ej., fármacos quimioterápicos) de las células y puede hacer que las células cancerosas se hagan resistentes al tratamiento.

La entrada o salida de agua de las células es pasiva y dirigida por las concentraciones de soluto. Así, el exceso de sal extracelular en relación con la del citoplasma (*hipertonicidad*) causa una salida neta de agua de las células, mientras que la *hipotonía* provoca una entrada neta de agua en ellas. En cambio, los metabolitos y las proteínas cargadas del citoplasma atraen a contraíones cargados que aumentan la osmolaridad intracelular. Así pues, para prevenir la sobrehidratación, las células deben

bombar constantemente al exterior pequeños iones inorgánicos (p. ej., Na^+), habitualmente gracias a la actividad de la ATPasa intercambiadora de iones de membrana. La pérdida de capacidad para generar energía (p. ej., en una célula lesionada por toxinas o isquemia) condiciona tumefacción osmótica y, en última instancia, rotura de la célula. Mecanismos de transporte similares también regulan las concentraciones de otros iones (p. ej., Ca^{2+} y H^+), algo que resulta esencial para varios procesos. Por ejemplo, las enzimas citosólicas son más activas con pH 7,4 y son a menudo reguladas por el Ca^{2+} , mientras que las enzimas lisosómicas funcionan mejor con pH 5 o inferior.

La captación de líquidos o de macromoléculas por la célula se denomina *endocitosis*. Dependiendo del tamaño de la vesícula, la endocitosis se designa como pinocitosis («bebida celular») o como fagocitosis («comida celular»). Generalmente, la fagocitosis queda restringida a determinados tipos celulares (p. ej.,

macrófagos y neutrófilos), cuya función específica es ingerir organismos invasores o fragmentos de células muertas.

Captación en fase líquida y mediada por receptores (v. fig. 1.8)

Ciertas moléculas pequeñas, incluidas algunas vitaminas, se unen a receptores de la superficie celular y son captadas a través de unas invaginaciones de la membrana plasmática llamadas cavéolas. La captación también puede producirse a través de invaginaciones de la membrana revestidas por una matriz intracelular de proteínas de clatrina que, de manera espontánea, se ensamblan en una rejilla en forma de cesta que ayuda a dirigir la endocitosis (según se trata más adelante). En ambos casos, es precisa la actividad de la dinamina «pinchasa» para la liberación de vesículas.

Las macromoléculas también pueden ser exportadas de las células por exocitosis. En este proceso, las proteínas sintetizadas y compactadas en el RER y el aparato de Golgi se concentran en vesículas secretoras, que se fusionan con la membrana plasmática para expulsar su contenido. Ejemplos comunes en este contexto son las hormonas peptídicas (p. ej., la insulina) y las citocinas.

La transcitosis es el movimiento de las vesículas endocitadas entre los compartimentos apical y basolateral de las células. Por este mecanismo se transportan grandes cantidades de proteínas a través de las barreras epiteliales (p. ej., los anticuerpos ingidos en la leche materna) o se regula el movimiento rápido de grandes volúmenes de solutos.

Volvamos ahora a los detalles relativos a la endocitosis (v. fig. 1.8).

- **Endocitosis mediada por cavéolas.** Las *cavéolas* («pequeñas cuevas») son invaginaciones de la membrana plasmática no revestidas asociadas a moléculas unidas a GPI, proteínas de unión a monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), cinasas de la familia src y receptor de folato. La *caveolina* es la principal proteína estructural de las cavéolas, que, igual que las balsas de las membranas (v. anteriormente), contienen abundantes glucoesfingolípidos y colesterol. La internalización de las cavéolas, junto con las moléculas unidas a ellas y el líquido extracelular asociado, se denomina *potocitosis*, literalmente «sorbo celular». Además de permitir el paso a través de la membrana de algunas moléculas (p. ej., el folato), las cavéolas también regulan la transducción de señales transmembrana y la adhesión celular, internalizando receptores e integrinas.
- **Endocitosis mediada por receptores.** Las macromoléculas unidas a los receptores de membrana (como los receptores de la transferrina o de las lipoproteínas de baja densidad [LDL]) son captadas en regiones especializadas de la membrana plasmática llamadas *fositas revestidas por clatrina*. Los receptores son internalizados eficazmente a través de unas invaginaciones de la membrana dirigidas por la matriz de clatrina asociada que, en última instancia, se invagina, a su vez, para formar *vesículas revestidas de clatrina*. Atrapada en estas vesículas queda una porción del medio extracelular (*pinocitosis en fase líquida*). A continuación, las vesículas pierden rápidamente su revestimiento y se fusionan con una estructura intracelular ácida llamada *endosoma inicial*. Las vesículas endosómicas experimentan una progresiva maduración para dar lugar a endosomas tardíos que, en último término se fusionan con los lisosomas. En el medio ácido de los endosomas, los receptores de LDL y transferrina liberan su carga (colesterol y hierro, respectivamente), que a continuación se transporta al citosol.

Tras la liberación del ligando unido, algunos receptores (p. ej., los de transferrina y LDL) se reciclan, pasando de nuevo a la membrana plasmática, y se reutilizan, mientras que otros se degradan en el interior de los lisosomas (p. ej., el receptor del factor de

crecimiento epidérmico). En este último caso, la degradación tras la internalización da lugar a una regulación a la baja de receptores que limita la señalización mediada por ellos. Los defectos en el transporte mediado por receptores de las LDL causan hipercolesterolemia familiar, según se describe en el capítulo 5.

La endocitosis requiere reciclado de las vesículas internalizadas, que deben pasar de nuevo a la membrana plasmática (exocitosis) para otro ciclo de ingestión. Este reciclaje resulta esencial, dado que una célula adquiere habitualmente del espacio extracelular el equivalente al 10-20% de su propio volumen cada hora, lo que supone ¡el 1-2% de su membrana plasmática cada minuto! Si no se recicla, la membrana plasmática se agotaría rápidamente. Por eso, la endocitosis y la exocitosis deben estar estrechamente coordinadas, para evitar cambios de alcance en el área de la membrana plasmática.

Citoesqueleto

La capacidad de las células de adoptar una determinada forma, mantener la polaridad, organizar los órganulos intracelulares y migrar depende de un armazón intracelular de proteínas estructurales que forma el citoesqueleto (fig. 1.9). Aunque este puede tener un aspecto similar al de las vigas y soportes de un edificio, las estructuras citoesqueléticas están constantemente alargándose y contrayéndose. Los microfilamentos y los microtúbulos son los más activos, y su ensamblaje y desensamblaje pueden controlar la migración celular.

En las células eucariotas hay tres clases principales de proteínas citoesqueléticas.

- Los *microfilamentos de actina* son fibrillas de 5 a 9 nm de diámetro formadas a partir de la proteína globular actina (G-actina), la proteína citosólica más abundante en las células. Los monómeros de G-actina se polimerizan de forma no covalente para

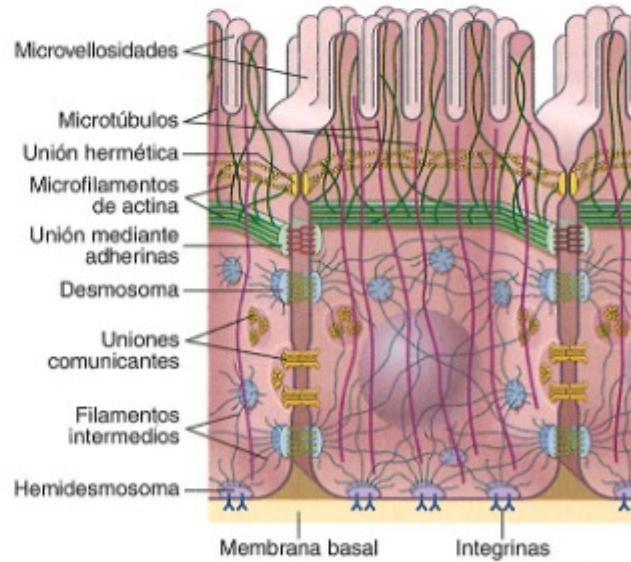


Figura 1.9 Elementos del citoesqueleto e interacciones célula-célula. La adhesión interepitelial comporta diversas interacciones con proteínas de superficie en las uniones herméticas, las uniones adherentes y los desmosomas. La adhesión a la matriz extracelular depende de las integrinas celulares (y proteínas asociadas) en los hemidesmosomas. Las diversas proteínas de adhesión presentes en la membrana plasmática se asocian a los microfilamentos de actina y filamentos intermedios, con objeto de proporcionar una matriz mecánica para la estructura y la señalización celulares. Las uniones comunicantes no aportan integridad estructural, pero favorecen la comunicación célula-célula por el movimiento de especies de bajo peso molecular y/o cargadas. Véanse detalles adicionales en el texto.

generar filamentos largos (F-actina) que se entrelazan para formar hélices bicatenarias de polaridad definida. Aunque los detalles son (como siempre) más complejos, es característico que las nuevas subunidades se añadan al extremo «positivo» de la cadena y se retiren del extremo «negativo», en un proceso denominado *«cinta sin fin de la actina»*. Las proteínas que permiten la nucleación, la unión y la regulación de la actina organizan la polimerización, la disposición en haces y la ramificación, para formar redes que controlan la forma y el movimiento de la célula. Este complejo y su asociación con las proteínas motoras (p. ej., la miosina) están dispuestos con tal precisión en el músculo cardíaco y esquelético que, en el microscopio óptico, aparecen como un patrón en bandas. La hidrólisis del ATP por parte de la miosina hace que esta se deslice sobre los filamentos de actina, induciendo así la contracción muscular. Aunque de modo menos coordinado, las miosinas, de las que existe una amplia variedad, son responsables de otras funciones que dependen de la contracción de la actina, como el transporte vesicular, la regulación de la barrera epitelial y la migración celular.

- Los *filamentos intermedios* son fibrillas de 10 nm de diámetro que comprenden una familia extensa y heterogénea, que incluye las proteínas de queratina y las laminas nucleares. Los filamentos intermedios forman predominantemente polímeros similares a cuerdas y no suelen reorganizarse de forma activa, como la actina y los microtúbulos. Ello permite que los filamentos intermedios proporcionen fuerza tensional, de modo que las células puedan soportar estrés mecánico, por ejemplo, en epitelios en los que dichos filamentos intermedios se unen a los *desmosomas* y *hemidesmosomas* (v. fig. 1.9). Las proteínas de los filamentos intermedios individuales tienen patrones de expresión característicos, específicos de cada tejido, que pueden ser útiles para asignar una célula de origen a los tumores poco diferenciados. Entre los ejemplos se cuentan los siguientes:

- *Vimentina*, en células mesenquimatosas (fibroblastos, endotelio).
- *Desmina*, en células musculares que forman el andamiaje sobre el cual se contraen la actina y la miosina.
- Los *neurofilamentos* son esenciales para la estructura de los axones neuronales y aportan fuerza y rigidez.
- La *proteína gliofibrilar ácida* se expresa en células gliales.
- Las *citoqueratinas* se expresan en las células epiteliales. Hay al menos 30 citoqueratinas distintas, que se expresan en líneas celulares diferentes (p. ej., propias del epitelio pulmonar o digestivo).
- Las *laminas* son proteínas de filamentos intermedios que forman la lámina nuclear, definen la forma del núcleo y pueden regular la transcripción.

- Los *microtúbulos* son fibrillas de 25 nm de grosor compuestas por dímeros de tubulina α y β polimerizados de modo no covalente, organizados en tubos huecos. Estas fibrillas son extremadamente dinámicas y polarizadas, con extremos «+» y «-». El extremo «-» está encajado de forma característica en un *centro organizador de microtúbulos* (COM o *centrosoma*) cercano al núcleo, en el que se asocian a centriolos emparejados. El extremo «+» se alarga o se retrae en respuesta a distintos estímulos, mediante la adición o sustracción de dímeros de tubulina. Los microtúbulos:

- Actúan como cables de conexión para las proteínas motoras moleculares que utilizan ATP para la translocación de vesículas, orgánulos u otras moléculas que rodean a las células. Hay dos variedades de estas proteínas motoras, las cinesinas y las dineñas, que habitualmente (aunque no de forma exclusiva) transportan la carga en direcciones anterógrada (de - a +) o retrógrada (de + a -), respectivamente.

- Median la separación de las cromátidas hermanas durante la mitosis.
- Forman el eje de los *cilios primarios*, proyecciones no móviles aisladas en numerosas células nucleadas, que contribuyen a la regulación de la proliferación y la diferenciación celulares (las mutaciones en las proteínas del complejo de los cilios primarios determinan algunas variantes de enfermedad renal poliquística; v. capítulo 20).
- Pueden adaptarse para formar el eje de los cilios móviles (p. ej., en el epitelio bronquial) o los flagelos (en los espermatozoides).

Interacciones célula-célula

Las células se conectan y se comunican entre sí mediante complejos de unión que forman enlaces mecánicos y facilitan las interacciones receptor-ligando. Complejos similares median también la interacción con la MEC. Las uniones célula-célula están organizadas en tres tipos básicos (v. fig. 1.9):

- Las *uniones oclusivas* (*uniones herméticas* o *estrechas*) sellan células epiteliales adyacentes para crear una barrera continua que limita el movimiento paracelular (entre células) de iones y otras moléculas. Las uniones oclusivas forman un entramado a modo de malla (cuando se observan en proyección frontal por microscopía electrónica de fractura en congelación) de contactos macromoleculares entre células adyacentes. Los complejos que median las interacciones célula-célula están compuestos por proteínas transmembrana, que incluyen las familias de la *claudina*, con cuatro dominios transmembrana, y de la *proteína MARVEL asociada a las uniones herméticas* (*TAMP*). Estas proteínas se conectan, a su vez, con una amplia diversidad de proteínas adaptadoras y de soporte intracelulares, incluyendo las tres integrantes de la *familia de proteínas de la zonula occludens* (ZO-1, ZO-2, ZO-3) y la *cingulina*. Además de formar una barrera selectivamente permeable que sella el espacio entre las células (es decir, el espacio paracelular), esta zona también representa el límite que separa los dominios de la membrana apical y basolateral y ayuda a mantener la polaridad celular. En cualquier caso, estas uniones son estructuras dinámicas que pueden modificarse para facilitar la cicatrización epitelial y la migración de células inflamatorias a través de las superficies mucosas con revestimiento epitelial.
- Las *uniones de anclaje* (*uniones adherentes* y *desmosomas*) unen mecánicamente las células (y sus citoesqueletos) a otras células o a la MEC. Las uniones adherentes están con frecuencia estrechamente asociadas a las uniones herméticas o se sitúan debajo de ellas. Los desmosomas son más basales y forman varios tipos de uniones. Cuando los desmosomas unen la célula a la MEC se llaman hemidesmosomas (mitades de desmosoma), ya que la otra mitad del desmosoma no está presente en la MEC. Tanto las uniones adherentes como los desmosomas se forman por interacciones extracelulares homotípicas entre glucoproteínas transmembrana, llamadas *cadherinas*, en células adyacentes.
 - En las uniones adherentes, las moléculas de adhesión transmembrana están asociadas a microfilamentos de actina intracelulares, que también pueden influir en la forma y/o la motilidad de la célula. La pérdida de la proteína de unión adherente epitelial *cadherina E* explica el patrón de invasión discohesiva de algunos cánceres gástricos y carcinomas lobulillares de mama (v. capítulos 17 y 23).
 - En los desmosomas, las cadherinas están unidas a filamentos intermedios intracelulares, lo que permite que fuerzas extracelulares sean comunicadas (y disipadas) mecánicamente en múltiples células.

- En los hemidesmosomas, las proteínas de conexión transmembrana se denominan *integrinas*. Al igual que las cadherinas de los desmosomas, estas se unen a filamentos intermedios y unen el citoesqueleto a la MEC. Los complejos de adhesión focal constan de > 100 proteínas y se localizan en los hemidesmosomas. Las proteínas que los componen pueden generar señales intracelulares cuando las células son sometidas a estrés de cizallamiento (p. ej., las del endotelio en el torrente circulatorio o los miocardiocitos en un corazón con insuficiencia).
- Las *uniones comunicantes* (*uniones en hendidura*) permiten el paso de señales químicas o eléctricas de una célula a otra. Las uniones corresponden a estructuras planas y densas, constituidas por poros de 1,5-2 nm (llamados *conexones*), formadas por un par de hexámeros (uno en cada célula) de proteínas transmembrana llamadas conexinas. Estas forman poros que permiten el paso de iones, nucleótidos, azúcares, aminoácidos, vitaminas y otras pequeñas moléculas. La permeabilidad de la unión se reduce con rapidez al disminuir el pH intracelular o aumentar el calcio intracelular. Las uniones comunicantes desempeñan un papel fundamental en la comunicación célula-célula. Por ejemplo, las uniones comunicantes en los miocardiocitos permiten los flujos de calcio de célula a célula que condicionan que las numerosas células del miocardio se comporten como un sincitio funcional, con ondas de contracción coordinadas.

Maquinaria biosintética: retículo endoplásmico y aparato de Golgi

Todos los constituyentes celulares, incluyendo las proteínas estructurales, las enzimas, los factores de transcripción e incluso las membranas fosfolipídicas, son renovados de manera constante en un proceso continuo y equilibrado de síntesis y degradación. El retículo endoplásmico (RE) es el sitio de síntesis de todas las proteínas transmembrana y lípidos necesarios para la membrana plasmática y los orgánulos celulares, incluido el propio RE. Es, asimismo, el sitio inicial de la síntesis de las proteínas secretadas. El RE está organizado en un entramado interconectado a modo de malla de tubos ramificados y laminillas aplanadas, que forman una lámina continua alrededor de una única luz, que es topológicamente equivalente al medio extracelular. El RE está compuesto por dominios contiguos, diferenciados por la presencia (RER) o ausencia (REL) de ribosomas (v. fig. 1.6).

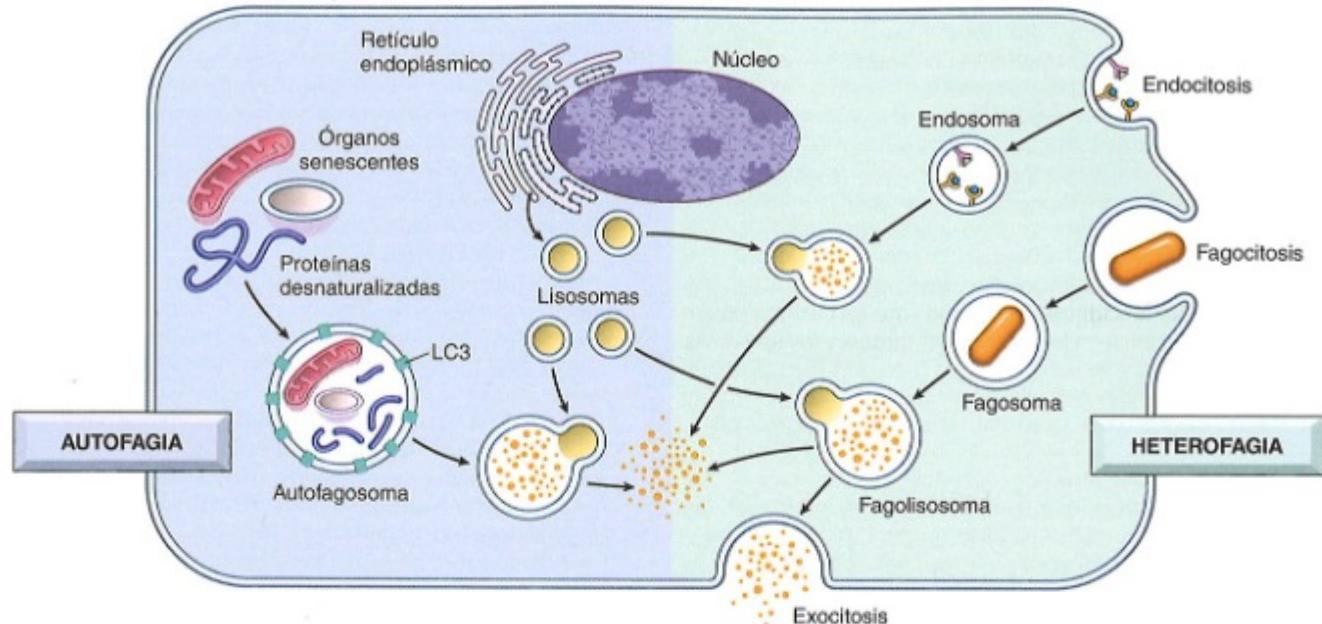
- **Reticulo endoplasmico rugoso (RER).** Los ribosomas rodeados de membrana de la cara citosólica del RER traducen el ARNm en proteínas que se extienden a la luz del RE o se integran o quedan integradas en su membrana. Este proceso está dirigido mediante secuencias de señal específicas en los extremos N-terminales de las proteínas nacientes. La síntesis de proteínas con péptidos señal se inicia en los ribosomas libres, aunque el complejo queda después unido a la membrana del RE, y la proteína se inserta en dicha membrana, o la atraviesa, a medida que es traducida. Cuando las proteínas carecen de secuencia señal, la traducción se realiza en los ribosomas libres del citosol, y se forman polirribosomas cuando múltiples ribosomas se unen al ARNm; las proteínas así transcritas permanecen en el citoplasma.

Las proteínas insertadas en el RE se pliegan para constituir su conformación activa y pueden formar complejos de polipeptídos (por oligomerización). Además, se forman enlaces disulfuro, añadiéndose oligosacáridos unidos a N (restos de azúcares unidos a residuos de asparagina). Las moléculas chaperonas ayudan a plegar y retener las proteínas en el RE hasta que estas modificaciones se completan y se logra la conformación idónea. Cuando una proteína no se pliega o

se oligomeriza adecuadamente, es retenida y degradada en el RE. Un buen ejemplo en este contexto es la mutación más habitual en la proteína CFTR en la fibrosis quística. En la CFTR mutante, la delección de un codón da lugar a la ausencia de un solo aminoácido (Phe508), que condiciona un plegamiento incorrecto, retención en el RE y catabolismo, y, en consecuencia, una disminución de la expresión en superficie. Por otra parte, la acumulación de exceso de proteínas mal plegadas, que supera la capacidad del RE de corregirlas y degradarlas, provoca una respuesta de estrés del RE [también llamada respuesta a proteínas no plegadas (RPNP)] (v. fig. 1.10B). La detección de un exceso de proteínas plegadas de manera anómala produce una reducción de la síntesis global de proteínas, con aumento concomitante de proteínas chaperonas. La falta de corrección de la sobrecarga puede causar muerte celular por *apoptosis* (v. capítulo 2).

- **Aparato de Golgi.** Desde el RER, las proteínas y lípidos destinados a otros orgánulos o a la secreción extracelular son transportados al aparato de Golgi. Este consta de cisternas apiladas que progresivamente modifican las proteínas, según un patrón ordenado, de su configuración *cis* (cerca del RE) a la *trans* (cerca de la membrana plasmática). La progresión de las cisternas, es decir, el movimiento de la cisterna de la cara *cis* a la cara *trans* del Golgi, en un proceso similar al ascenso en un elevador, permite el procesamiento secuencial de proteínas de nueva síntesis y puede verse facilitada por vesículas pequeñas rodeadas por membrana. Unas vesículas similares hacen que las enzimas residentes en el Golgi pasen de la configuración *trans* a la *cis*, con objeto de mantener un contenido diferente en las cisternas a lo largo de esta línea de montaje. A medida que las cisternas maduran, los oligosacáridos unidos a N, originalmente añadidos al RE, son recortados y modificados en un proceso escalonado. También se agregan oligosacáridos unidos a O (restos de azúcares unidos a serina o treonina). Parte de esta glucosilación es importante para distribuir las moléculas en los lisosomas (a través del receptor de manosa-6-fosfato). Otros aductos de la glucosilación son importantes para las interacciones célula-célula o célula-matriz, o para eliminar células senescentes (p. ej., plaquetas y eritrocitos). En la *red Golgi trans*, las proteínas y los lípidos son ordenados y enviados a otros orgánulos, a la membrana plasmática o a vesículas secretoras. El complejo de Golgi es particularmente patente en células especializadas en la secreción, incluidas las células caliciformes del epitelio intestinal o bronquial, que secretan grandes cantidades de moco rico en polisacáridos. En las células plasmáticas que secretan anticuerpos, el Golgi puede identificarse como un halo perinuclear en las tinciones convencionales de hematoxilina y eosina (v. capítulo 6).
- **Reticulo endoplasmico liso (REL).** En la mayoría de las células, el REL es relativamente escaso y disperso, y se localiza principalmente en la zona de transición desde el RER, para generar vesículas de transporte que contienen proteínas de nueva síntesis, conducidas al aparato de Golgi. Sin embargo, puede existir un REL particularmente abundante en células que sintetizan hormonas esteroideas (p. ej., en las gónadas o las glándulas suprarrenales) o que catabolizan moléculas liposolubles (p. ej., hepatocitos). En realidad, la exposición repetida a compuestos metabolizados por el REL (p. ej., en el catabolismo del fenobarbital por el sistema del citocromo P-450) puede dar lugar a hiperplasia del REL. El REL es también responsable del secuestro del calcio intracelular, que, cuando es liberado al citosol, puede mediar numerosas respuestas a señales extracelulares (incluidas las de muerte celular apoptótica). En las células musculares, un REL especializado, llamado retículo sarcoplásmico, es el responsable de la liberación y el secuestro cíclicos de iones calcio, que regulan la contracción y relajación musculares, respectivamente.

A DEGRADACIÓN LISOSÓMICA



B DEGRADACIÓN PROTEOSÓMICA

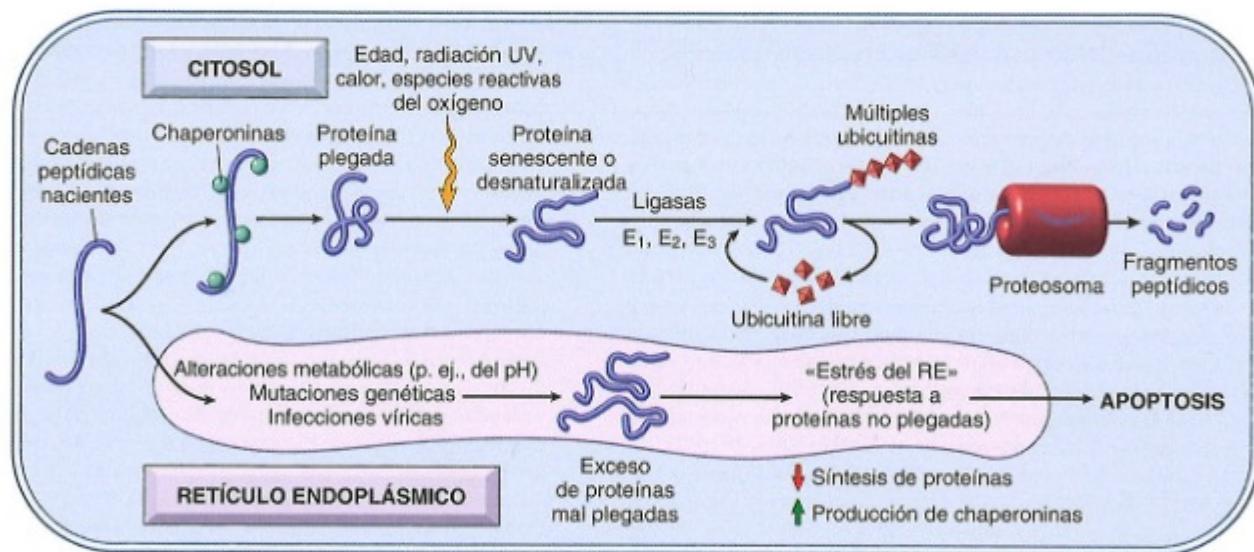


Figura 1.10 Catabolismo intracelular. **A.** Degradación lisosómica. En la heterofagia (lado derecho de la figura A), los lisosomas se fusionan con endosomas o fagosomas para facilitar la degradación de los contenidos internalizados (v. fig. 1.8). Los productos finales son liberados al citosol para la nutrición, o son descargados al espacio extracelular (exocitosis). En la autofagia (lado izquierdo de la figura A), los órganulos senescentes o las proteínas desnaturalizadas son marcados como objetivo para proceder a su degradación mediada por lisosomas, englobándolos en una vacuola de doble membrana derivada del retículo endoplásmico, marcada por proteína LC3 (proteína de cadena ligera 3 IA/1B asociada a microtúbulos). El estrés celular, como el inducido por la reducción de nutrientes o por ciertas infecciones intracelulares, también activa la vía autofagocítica. **B.** Degradación proteosómica. Las proteínas citosólicas destinadas al recambio (p. ej., factores de transcripción o proteínas reguladoras), las proteínas senescentes o las que se han desnaturalizado por estrés mecánico o químico extrínseco pueden ser marcadas con múltiples moléculas de ubiquitina (mediante la actividad de las ubiquitina ligasas E₁, E₂ y E₃). Esto marca a las proteínas para su degradación a cargo de los proteosomas, complejos citosólicos con múltiples subunidades, que degradan las proteínas dando lugar a pequeños fragmentos peptídicos. Las concentraciones elevadas de proteínas mal plegadas en el retículo endoplásmico (RE) desencadenan una respuesta protectora frente a las proteínas no plegadas, que induce una sustancial reducción de la síntesis de proteínas, aunque los incrementos específicos de las proteínas chaperoninas pueden favorecer el replegamiento de las proteínas. Cuando este mecanismo no es suficiente para hacer frente a las concentraciones de proteínas mal plegadas, es posible que se produzca apoptosis.

Eliminación de desechos: lisosomas y proteosomas

Aunque las células dependen principalmente de los lisosomas para digerir el material internalizado y los desechos internos acumulados, hay otras muchas vías para degradar macromoléculas intracelulares (fig. 1.10). Entre ellas se cuentan los

proteosomas y los peroxisomas. Estos últimos son responsables del catabolismo de los ácidos grasos de cadena larga.

- Los **lisosomas** son órganulos rodeados de membrana que contienen unas 40 hidrolasas ácidas diferentes (es decir, que funcionan mejor con un pH ≤ 5), entre las cuales se incluyen proteasas, nucleasas, lipasas, glucosidases, fosfatases

y sulfatas. Las enzimas lisosómicas son sintetizadas inicialmente en la luz del RE y, a continuación, son marcadas con manosa-6-fosfato (M6P) en el aparato de Golgi. Estas proteínas modificadas por M6P son posteriormente conducidas a los lisosomas a través de las vesículas de la red *trans* del Golgi que expresan receptores de M6P. Las otras macromoléculas destinadas al catabolismo en los lisosomas llegan a través de una de las tres vías siguientes (v. fig. 1.10).

- El material internalizado por *endocitosis en fase líquida o mediada por receptores* pasa de la membrana plasmática a los endosomas, primero iniciales y luego tardíos, y, en última instancia, llega al lisosoma. Estos compartimentos son progresivamente acidificados, de modo que las enzimas proteolíticas se activan en los endosomas tardíos y los lisosomas.
- Los orgánulos senescentes y/o los grandes complejos de proteínas desnaturalizadas pueden ser transportados a los lisosomas mediante un proceso llamado *autofagia* (v. capítulo 2). Por medio de un mecanismo que implica productos de varios genes relacionados con la autofagia (*Atg*), los orgánulos obsoletos son rodeados por una doble membrana derivada del RE. La membrana se expande progresivamente hasta englobar un conjunto de orgánulos y componentes citosólicos, formando el *autofagosoma* definitivo. Estas estructuras son marcadas como objetivo para su posterior destrucción mediante fusión con los lisosomas. Además de facilitar el recambio de las estructuras envejecidas y/o muertas, la autofagia puede utilizarse para conservar la viabilidad durante la escasez de nutrientes, está implicada en las respuestas protectoras ante las infecciones intracelulares, participa en la reparación intracelular y, en determinadas circunstancias, induce muerte celular programada (*apoptosis*). La autofagia se trata con más detalle en el capítulo 2.
- La *fagocitosis* de microorganismos o grandes fragmentos de matriz o de residuos la realizan principalmente los fagocitos profesionales (macrófagos o neutrófilos). El material es englobado para formar un *fagosoma* que, a continuación, se fusiona con los lisosomas.
- Los *proteosomas* desempeñan un importante papel en la degradación de las proteínas citosólicas (v. fig. 1.10). Entre ellas se cuentan las desnaturalizadas o mal plegadas, así como otras macromoléculas, que deben tener un ciclo vital de duración regulada (p. ej., las moléculas de señalización). Numerosas proteínas destinadas a ser destruidas se identifican mediante unión covalente a una pequeña proteína llamada *ubiquitina*. Las moléculas poliubiquitinadas son desplegadas y canalizadas al complejo proteosómico polimérico, un cilindro que contiene múltiples actividades proteasa, cada una de las cuales orienta su sitio activo al centro hueco. Los proteosomas digieren las proteínas generando pequeños fragmentos (de 6 a 12 aminoácidos) que pueden ser ulteriormente degradados a sus aminoácidos componentes y reciclados.

METABOLISMO CELULAR Y FUNCIÓN MITOCONDRIAL

Las mitocondrias evolucionaron a partir de procariotas ancestrales que fueron englobadas por eucariotas primitivas hace unos 1.500 millones de años. Su origen explica el motivo por el cual contienen su propio ADN, que codifica aproximadamente el 1% del conjunto de las proteínas celulares totales, y alrededor del 20% de las proteínas implicadas en la fosforilación oxidativa. Aunque sus genomas son pequeños, las mitocondrias pueden llevar a cabo todos los pasos de la replicación, la transcripción y la traducción del ADN, utilizando una maquinaria similar a la

de las bacterias actuales. Por ejemplo, las mitocondrias inician la síntesis de proteínas con la *N*-formilmetionina y son sensibles a los antibióticos antibacterianos. Dado que la biogénesis de las mitocondrias requiere contribución genética de mitocondrias preexistentes y el óvulo aporta la gran mayoría de los orgánulos citoplásmicos al cigoto fecundado, el ADN mitocondrial es heredado por vía casi completamente materna. No obstante, dado que los componentes proteínicos de las mitocondrias son codificados por ADN tanto nuclear como mitocondrial, los trastornos de las mitocondrias pueden ser ligados al cromosoma X, autosómicos o heredados por vía materna.

Las mitocondrias son extraordinariamente dinámicas y, de manera constante, experimentan fisiones y fusiones con otras mitocondrias de nueva síntesis, lo que posibilita su renovación y las defiende de los cambios degenerativos inducidos por el daño causado por los radicales libres de oxígeno. Aun así, las mitocondrias tienen una vida corta y su degradación se produce por autofagia (un proceso llamado en este caso mitofagia), con semividas estimadas de entre 1 y 10 días, dependiendo de los tejidos, del estado nutricional, de las demandas metabólicas y de las lesiones intercurrentes.

Además de aportar la maquinaria enzimática para la fosforilación oxidativa (y, en consecuencia, para una generación de energía relativamente eficaz a partir de sustratos como glucosa y ácidos grasos), las mitocondrias desempeñan un papel esencial en la regulación de la apoptosis (fig. 1.11). A continuación, se exponen algunos detalles sobre las funciones mitocondriales:

- *Generación de energía.* Cada mitocondria tiene dos membranas separadas con funciones distintas. La membrana interna contiene las enzimas de la cadena respiratoria, plegadas en crestas. Esta membrana engloba un espacio de matriz nuclear, que alberga la mayor parte de las enzimas de los ciclos glucolítico y de los ácidos tricarboxílicos, que conforman los principales responsables del trabajo del orgánulo. Fuera de la membrana interna se sitúa el espacio intermembrana, en el que se produce la fosforilación de nucleótidos y que queda a, su vez, encerrado por la membrana externa. Esta última está tachonada de unas proteínas porinas, que forman canales aniónicos dependientes del voltaje permeables a moléculas pequeñas (< 5.000 Da). Como sucede en otras membranas celulares, las moléculas más grandes (e incluso algunas polares más pequeñas) requieren transportadores específicos.

La principal fuente de energía que facilita todas las funciones celulares deriva del metabolismo oxidativo. Las mitocondrias oxidan sus sustratos a CO₂, transfiriendo los electrones de alta energía de la molécula original (p. ej., un azúcar) al oxígeno molecular. La oxidación de varios metabolitos activa las bombas de protones, que transfieren H⁺ de la matriz central al espacio intermembrana. A medida que los iones H⁺ fluyen en contra de su gradiente electroquímico y salen del espacio intermembrana, la energía liberada se utiliza para generar ATP.

Es interesante recordar que la cadena de transporte de electrones no necesariamente tiene que estar acoplada con la generación de ATP. Una proteína de la membrana interna enriquecida en la grasa parda llamada *termogenina* (o también proteína desacoplante 1 [UCP-1]) es un transportador de iones hidrógeno que puede disipar el gradiente protónico, desacoplándolo de la fosforilación oxidativa. De este modo, se produce una rápida oxidación del sustrato sin síntesis de ATP, que permite que los tejidos con altas concentraciones de UCP-1 generen calor (termogénesis sin escalofrío). Como productos intermedios naturales (aunque generalmente en concentraciones bajas) de la oxidación de sustratos y del transporte de electrones, las mitocondrias son, asimismo, una importante fuente de especies reactivas del oxígeno (radicales libres de oxígeno, peróxido de hidrógeno, etc.).

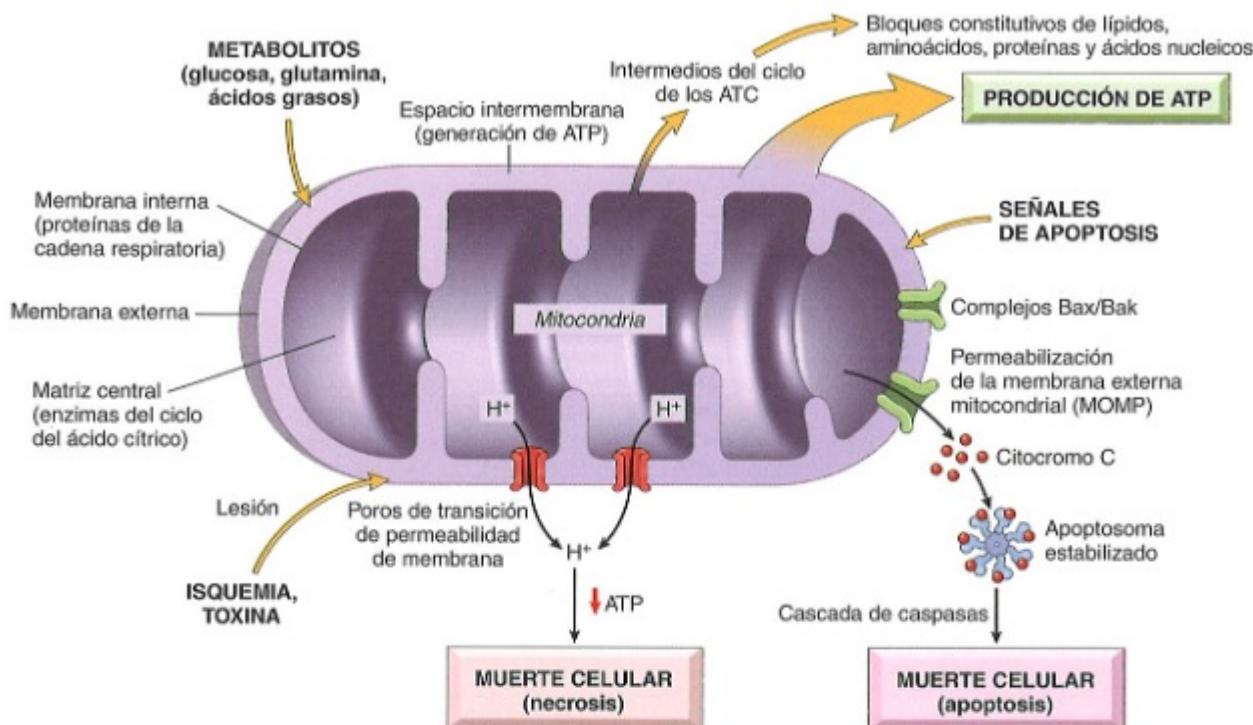


Figura 1.11 Funciones de las mitocondrias. Además de la generación eficaz de trifosfato de adenosina (ATP) a partir de sustratos de hidratos de carbono y ácidos grasos, las mitocondrias también desempeñan una importante función en el metabolismo intermedio, actuando como fuente de sustratos usados en la síntesis de lípidos, proteínas y nucleótidos. Es significativa su implicación central en las decisiones sobre la vida y la muerte celulares: 1) la lesión tóxica o isquémica induce una transición en la permeabilidad de membrana que disipa el gradiente protónico intermembranoso, dando lugar a muerte celular por incapacidad para generar ATP; 2) la señalización intracelular a partir de fuentes tanto intrínsecas como extrínsecas también puede inducir formación de poros de proteínas Bax y Bak oligomerizadas en la permeabilización de la membrana externa mitocondrial (MOMP), que facilita la liberación del citocromo C a partir de las proteínas de la cadena de transporte electrónico. El citocromo C citóslico estabiliza el apoptosoma de múltiples subunidades, promoviendo la activación de caspasas y, en última instancia, la muerte celular apoptótica. ATC, ácido tricarboxílico.

Cabe destacar que la hipoxia, las lesiones tóxicas e incluso el envejecimiento mitocondrial incrementan el estrés oxidativo, con el consiguiente incremento de las especies reactivas del oxígeno intracelulares.

- **Metabolismo intermedio.** La fosforilación oxidativa produce eficazmente de 36 a 38 moléculas de ATP por molécula de glucosa, pero también «quema» sustratos hasta generar CO₂ y H₂O, sin que queden componentes de carbono disponibles para la síntesis de lípidos y proteínas. Así pues, para asegurar la disponibilidad de ladrillos para el crecimiento, las células de crecimiento rápido (tanto benignas como malignas) incrementan su captación de glucosa y glutamina, y realizan una glucólisis aeróbica, fenómeno llamado efecto Warburg. En este contexto, cada molécula de glucosa es catabolizada a ácido láctico (incluso en presencia de una cantidad de oxígeno adecuada), y se produce una generación neta de solo dos moléculas de ATP, pero se «derivan» productos intermedios que pueden ser convertidos en nuevos lípidos, aminoácidos y proteínas, y ácidos nucleicos. Así pues, el metabolismo mitocondrial puede modularse para dar soporte al mantenimiento de la energía o la proliferación celular.
- **Muerte celular.** Además de proporcionar el ATP que permite la mayor parte de la actividad celular, las mitocondrias son fundamentales para la supervivencia de las células. El papel de las mitocondrias en la muerte celular se aborda con detalle en el capítulo 2 y se menciona aquí brevemente.

- **Necrosis:** la lesión celular externa (por toxinas, isquemia o traumatismos) puede dañar las mitocondrias, dando lugar a la formación de poros de transición de permeabilidad mitocondrial en la membrana externa. Estos canales permiten la disipación del gradiente de protones, de

manera que ya no resulta posible generar ATP por parte de las mitocondrias, por lo que la célula muere.

- **Apoptosis:** la muerte celular programada es un rasgo esencial del desarrollo y el recambio tisular normales y puede ser inducida por señales extrínsecas (incluidas las generadas por los linfocitos T citotóxicos y las citocinas inflamatorias) o por vías intrínsecas (incluidas la lesión del ADN o el estrés intracelular). Las mitocondrias integran las señales efectoras proapoptóticas y antiapoptóticas intracelulares, generando una señal final de «avanzar» o «no avanzar» en la apoptosis. Una señal proapoptótica neta determina la permeabilización de la membrana externa mitocondrial (MOMP), distinta de la transición a la permeabilidad mitocondrial y que permite que se libere citocromo C (junto con otras proteínas) al citoplasma. A su vez, estas proteínas activan las vías intracelulares de muerte celular programada. Cabe destacar que un fallo en la señalización proapoptótica normal (o demasiados efectores antiapoptóticos) puede ser la manifestación de una neoplasia maligna, aun en presencia de mutaciones que, por lo demás, podrían inducir suicidio celular. En cambio, una señal apoptótica demasiado intensa (o la ausencia de efectores antiapoptóticos) puede producir una muerte celular prematura, como sucede en los trastornos neurodegenerativos (v. capítulo 28).

ACTIVACIÓN CELULAR

La comunicación intercelular es esencial para los organismos multicelulares. En su nivel más básico, las señales extracelulares pueden determinar si una célula vive o muere, o si permanece

latente o se activa para realizar sus funciones específicas. La señalización intercelular es fundamental para el desarrollo embrionario y el mantenimiento de la organización tisular. Es, asimismo, importante en los organismos adultos, en los que asegura que todos los tejidos actúan correctamente y de manera concertada (p. ej., en respuesta a un traumatismo tisular local o a una infección sistémica). La pérdida de comunicación intercelular y de los «controles sociales» también puede dar lugar a crecimiento desregulado (p. ej., en el cáncer) o a respuestas perjudiciales al estrés extrínseco (p. ej., en el shock).

Señalización celular

Las células individuales están expuestas de forma crónica a distintas señales disonantes, que han de integrarse y racionalizarse. Algunas señales hacen que un determinado tipo celular se diferencie, mientras que otras indican proliferación u orientan a las células a funciones especializadas. Múltiples señales de una sola vez, en una determinada proporción, pueden desencadenar, no obstante, una respuesta totalmente singular. Muchas células requieren ciertas aferencias solo para continuar viviendo. En ausencia de señales exógenas apropiadas, mueren por apoptosis.

Las señales a las que responden la mayor parte de las células pueden clasificarse en diferentes grupos.

- **Peligro y patógenos.** Muchas células tienen capacidad innata para detectar células dañadas y responder en consecuencia (señales de peligro), y para hacer lo propio ante invasores extraños, como los microbios. Los receptores implicados en este proceso se comentan en los capítulos 3 y 6.
- **Contactos célula-célula,** mediados por moléculas de adhesión y/o uniones comunicantes. Como se ha indicado anteriormente, la señalización a través de las uniones comunicantes se produce entre células adyacentes a través de canales de conexiones hidrófilos, que permiten el movimiento de iones pequeños (p. ej., calcio), metabolitos y segundos mensajeros (p. ej., AMPc).
- **Contactos célula-MEC,** mediados por integrinas. Se volverán a comentar las integrinas en un contexto de la fijación de los leucocitos a otras células durante la inflamación en el capítulo 3.
- **Moléculas secretadas.** Las moléculas secretadas más importantes incluyen factores de crecimiento (tratados más adelante); citocinas, término que se reserva para los mediadores de la inflamación y las respuestas inmunitarias (abordados también en los capítulos 3 y 6), y hormonas, secretadas por órganos endocrinos (v. capítulo 24).

Las vías de señalización también pueden clasificarse en virtud de las relaciones espaciales entre las células emisoras y las receptoras.

- **Señalización paracrína.** Solo se ven afectadas las células en estrecha proximidad. Para que se produzca, solo debe haber una difusión mínima, tras la cual la señal se degrada rápidamente, es captada por otra célula o queda atrapada en la MEC.
- La **señalización autocrina** se produce cuando las moléculas secretadas por una célula afectan a la misma célula. Puede corresponder a una forma de incorporación de grupos de células sometidas a diferenciación sincrónica durante el desarrollo, o puede emplearse para amplificar (retroalimentación positiva) o atenuar (retroalimentación negativa) una determinada respuesta.
- **Señalización sináptica.** Las neuronas secretan neurotransmisores hacia las células diana en uniones celulares especializadas (p. ej., sinapsis).

- **Señalización endocrina.** Un mediador es liberado al torrente circulatorio y actúa sobre las células diana a distancia.

Con independencia de la naturaleza del estímulo extracelular (paracrino, autocriño, sináptico o endocrino), la señal que es transportada es transmitida a la célula por medio de proteínas receptoras específicas. Las moléculas de señalización (ligandos) se unen a sus respectivos receptores e inicián una cascada de episodios intracelulares que culminan en la deseada respuesta celular. Los ligandos suelen tener elevadas afinidades por sus receptores ($\leq 10^{-8}$ M) y, en concentraciones fisiológicas, se unen a ellos con una extrema especificidad. Los receptores pueden estar presentes en la superficie celular o en el interior de la célula (fig. 1.12).

- Los **receptores intracelulares** comprenden factores de transcripción activados por ligandos liposolubles que atraviesan con facilidad las membranas plasmáticas. La vitamina D y las hormonas esteroideas que activan los receptores hormonales nucleares son buenos ejemplos. En otros casos, un ligando de señalización pequeño y/o no polar producido por un tipo de célula puede influir en la actividad de las células adyacentes. Así, el óxido nítrico producido por las células endoteliales difunde hacia las células de músculo liso subyacentes, activando la enzima guanilato ciclase, con objeto de generar monofosfato de guanosina cíclico (GMPc), que provoca la relajación del músculo liso. El endotelio puede, de este modo, regular el tono vasomotor.
- Los **receptores de superficie celular** suelen ser proteínas transmembrana con dominios extracelulares que se unen a ligandos activadores. Dependiendo del receptor, la unión a los ligandos puede:
 1. Abrir los canales iónicos, en general en sinapsis entre células eléctricamente excitables.
 2. Activar una proteína reguladora de unión a GTP (proteína G).
 3. Activar una enzima endógena o asociada (a menudo una tirosina cinasa).
 4. Desencadenar un episodio proteolítico o un cambio en la unión a proteínas o en la estabilidad de estas para activar un factor de transcripción latente.

Los receptores acoplados a la proteína G y los asociados a la tirosina cinasa están habitualmente implicados en la señalización que promueve la proliferación celular. Los cambios proteolíticos o conformacionales son rasgos comunes de múltiples vías (p. ej., Notch, Wnt y Hedgehog) que influyen en el desarrollo normal. Los episodios intracelulares secundarios ulteriores con frecuencia implican fosforilación o desfosforilación de las moléculas diana, con posteriores cambios conformacionales que repercuten en el acceso nuclear o en la actividad enzimática (v. más adelante). Comprensiblemente, las señales transducidas por receptores de superficie celular están a menudo alteradas en los trastornos del desarrollo y las neoplasias malignas.

Vías de transducción de señal

La interacción de los receptores de superficie y sus ligandos puede activar la señalización por agregación de receptores inducida por ligandos (enlaces cruzados en receptores) o induciendo un cambio físico en la estructura del receptor (v. fig. 1.12). Cualquiera de los mecanismos da lugar a un cambio conformacional en la cola citosólica del receptor que media episodios bioquímicos intracelulares adicionales.

Los receptores celulares se agrupan en distintos tipos, basándose en los mecanismos de señalización que utilizan y en las vías bioquímicas intracelulares que activan (v. fig. 1.12). La señalización de receptores habitualmente da lugar a la

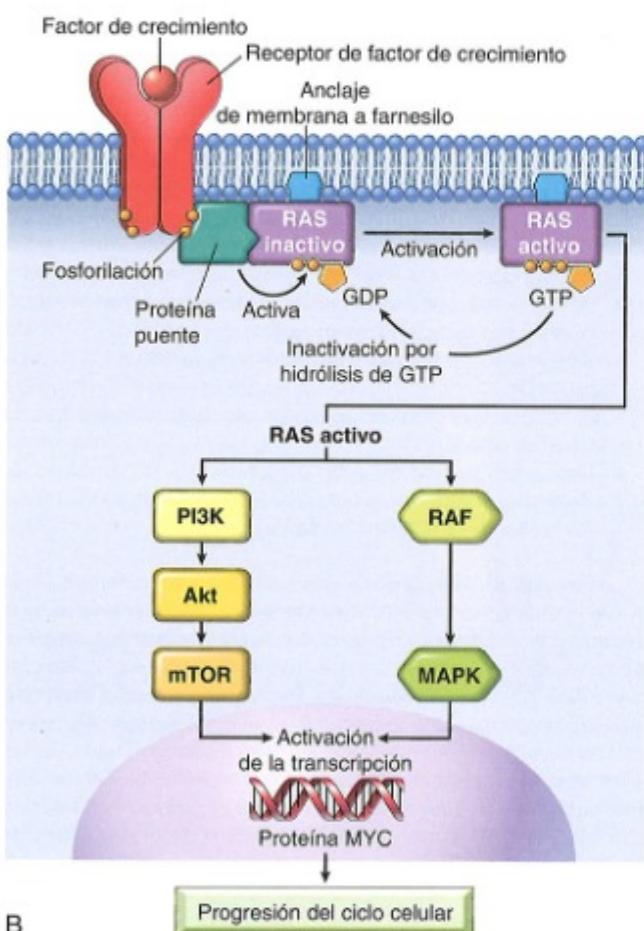
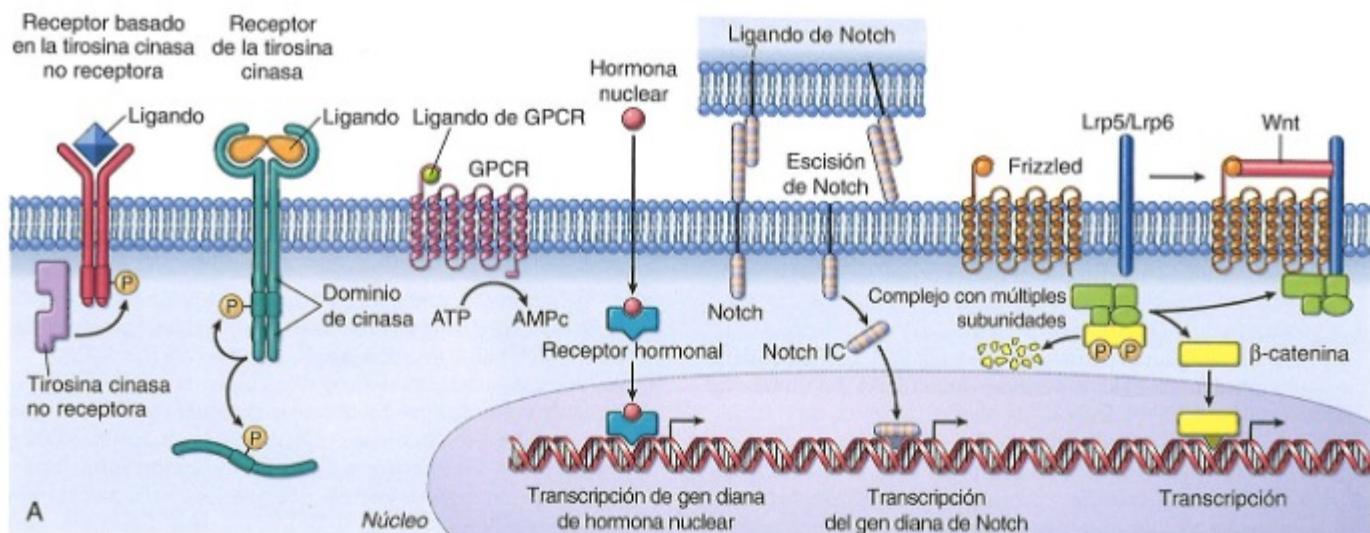


Figura 1.12 Señalización mediada por receptores. **A.** Tipos de receptores de señalización incluyendo (de izquierda a derecha) receptores que utilizan una tirosina cinasa no receptora, tirosina cinasas receptoras, receptores nucleares acoplados a la proteína G (GPCR) con siete dominios transmembrana unidos a proteínas G heterotriméricas, receptores nucleares que se unen a su ligando y pueden influir en la transcripción, receptores Notch que reconocen un ligando en una célula distinta y son escindidos dando lugar a un fragmento Notch (Notch IC) e influyen en la transcripción de genes diana específicos, y la vía Wnt/Frizzled, en la que la activación libera β-catenina intracelular a partir de un complejo de proteínas que normalmente estimula su degradación constitutiva. La β-catenina liberada puede, a continuación, migrar al núcleo y actuar como factor de transcripción. **B.** Señalización de un receptor de factor de crecimiento basado en la tirosina cinasa. La unión de factor de crecimiento (ligando) provoca dimerización de receptores y autofosforilación de residuos de tirosina. La unión de proteínas adaptadoras (o puente) acopla el receptor a RAS unido a difosfato de guanosina (GDP) inactiva, haciendo que el GDP se desplace en favor del trifosfato de guanosina (GTP), lo que da lugar a RAS activado. El RAS activado interactúa con la RAF (también conocida como la cinasa de la MAP cinasa) y la activa. A su vez, esta cinasa fosforila la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK). Por su parte, esta fosforila otras proteínas citoplásmicas y factores de transcripción nucleares, culminando en la generación de respuestas celulares. El receptor de la tirosina cinasa fosforilada puede unirse a otras proteínas, como la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K), que activa vías de señalización adicionales. La cascada se inactiva cuando la RAS activada finalmente hidroliza el GTP a GDP, convirtiendo RAS en su forma inactiva. Las mutaciones en RAS que inducen retraso de la hidrólisis de GTP pueden, en consecuencia, aumentar la señalización proliferativa. AMPc, monofosfato de adenosina cíclico; ATP, trifosfato de adenosina; Lrp5/Lrp6, proteínas 5 y 6 relacionadas con receptores de lipoproteínas de baja densidad; mTOR, diana de la rapamicina en células de mamífero.

formación o modificación de productos intermedios bioquímicos y/o a la activación de enzimas que, en última instancia, inducen la generación de factores de transcripción activos que penetran en el núcleo y alteran el patrón de expresión génica.

- **Receptores asociados a actividad cinasa.** La fosforilación anterógrada es una vía habitual de transducción de señal. Los cambios en la geometría de los receptores pueden estimular la actividad proteína cinasa intrínseca del receptor o promover la actividad enzimática de las cinasas intracelulares reclutadas. Estas cinasas añaden residuos fosfato cargados a las moléculas

diana. Las tirosina cinasas fosforilan residuos de tirosina específicos, mientras que las serina/treonina cinasas agregan fosfatos a los residuos de serina o treonina y las cinasas de lípidos fosforilan los sustratos lipídicos. Para cada episodio de fosforilación, hay también una fosfatasa que elimina los residuos fosfato, con objeto de modular la señalización. Las fosfatases suelen inhibir la transducción de señal.

- Las *tirosina cinasas receptoras (RTK)* son proteínas integrales de las membranas (p. ej., receptores de insulina, del factor de crecimiento epidérmico y del factor de

crecimiento derivado de las plaquetas). Los enlaces cruzados inducidos por ligandos activan los dominios tirosina cinasa intrínsecos localizados en sus colas citoplasmáticas.

- Varios tipos de receptores no presentan una actividad catalítica intrínseca (p. ej., los inmunorreceptores, ciertos receptores de citocinas y las integrinas). En ellos, una proteína intracelular diferenciada, conocida como *tirosina cinasa no receptora*, interactúa con los receptores tras la unión a los ligandos y fosforila motivos específicos en el receptor o en otras proteínas. El homólogo celular de la proteína transformante del virus del sarcoma de Rous, llamado Src, es el prototipo de una importante familia de estas tirosina cinasas no receptoras (*cinasas de la familia Src*). El Src contiene regiones funcionales específicas denominadas dominios de homología Src (SH). Los dominios SH2 se unen de manera característica a receptores fosforilados por otra cinasa, permitiendo la agregación de múltiples enzimas, mientras que los dominios SH3 median otras interacciones proteína-proteína, afectando a menudo a secuencias ricas en prolina.
- Los *receptores acoplados a la proteína G* (GPCR) atraviesan de manera característica la membrana plasmática siete veces (de ahí su denominación de receptores con siete dominios transmembrana o receptores en serpentina). Se han identificado más de 1.500 de estos receptores. Tras unirse al ligando, el GPCR se asocia a una proteína de unión al trifosfato de guanosina (GTP) intracelular (proteína G), que contiene difosfato de guanosina (GDP). La interacción de la proteína G con un complejo GPCR-ligando induce su activación mediada por el intercambio de GDP por GTP. Las vías de señalización mediadas por GPCR subsiguientes incluyen la generación de AMPc e inositol-1,4,5-trifosfato (IP₃), y este último estimula la liberación de calcio desde el RE.
- *Receptores nucleares*. Los ligandos liposolubles pueden entrar por difusión en células, en las que interactúan con proteínas intracelulares para formar un complejo receptor-ligando que se une directamente al ADN nuclear. Esto puede dar lugar a activación o represión de la transcripción génica.
- *Otras clases de receptores*. Otros receptores, en principio reconocidos como importantes para el desarrollo embrionario y la determinación del destino celular, en la actualidad se identifican como participantes en el funcionamiento de las células maduras, en particular en el sistema inmunitario. Estas vías dependen de las interacciones proteína-proteína para la transducción de señales, más que de la actividad enzimática.
 - Las proteínas de los receptores de la familia *Notch* se encuadran en esta categoría. La unión de ligandos a receptores Notch activa una división proteolítica del receptor y la posterior translocación al núcleo del fragmento citoplasmico (Notch intracelular) para formar un complejo de transcripción.
 - Los ligandos de proteínas *Wnt* también pueden influir en el desarrollo celular, a través de una vía canónica que afecta a receptores transmembrana de la familia *Frizzled*, un grupo diferenciado de GPCR que regula las concentraciones intracelulares de β -catenina. Normalmente, la β -catenina sufre una degradación continua dirigida por la ubicuitina. Sin embargo, la unión de Wnt a los *frizzled* (y a otros co-receptores) recluta otra proteína intracelular (*Dishevelled*), que induce la rotura del complejo orientado a la degradación. Esto estabiliza la β -catenina, lo que permite su translocación al núcleo y la formación de un complejo transcripcional.

Proteínas modulares de señalización, centros y nodos

La tradicional perspectiva lineal de la señalización, según la cual la activación de receptores desencadena una secuencia

ordenada de intermedios bioquímicos que, en definitiva, induce cambios en la expresión génica y en la respuesta biológica deseada, representa una simplificación excesiva. De hecho, está cada vez más claro que cualquier señal inicial repercute en múltiples procesos, cada uno de los cuales contribuye al resultado final. Esto es particularmente cierto en el caso de las vías de señalización que dependen de la actividad enzimática. Por ejemplo, la fosforilación específica de una proteína dada permite que esta pueda asociarse a otras muchas moléculas, dando lugar (entre otros efectos) a:

- Activación (o inactivación) enzimática.
- Localización de factores de transcripción nucleares (o citoplasmáticos) (v. más adelante).
- Activación (o inactivación) de factores de transcripción.
- Polimerización (o despolimerización) de las actinas.
- Degradación (o estabilización) de las proteínas.
- Activación de las asas de retroalimentación inhibidoras (o estimuladoras).

Las proteínas adaptadoras desempeñan un destacado papel en la organización de las vías de señalización intracelular. Estas proteínas actúan como conectores moleculares que vinculan físicamente las diferentes enzimas y promueven el ensamblaje de complejos. Los adaptadores pueden ser proteínas integrantes de la membrana o proteínas citosólicas. Un adaptador prototípico contiene dominios específicos (p. ej., SH2 o SH3) que median las interacciones proteína-proteína. Al condicionar las proteínas que son reclutadas para los complejos de señalización, los adaptadores permiten determinar los episodios de señalización anterógrada.

Por analogía con las redes computacionales, los complejos proteína-proteína pueden considerarse nodos, y los procesos bioquímicos que alimentan estos nodos o emanan de ellos pueden interpretarse como centros. Así pues, la transducción de señales puede concebirse como un fenómeno de interconexión en red. La comprensión de esta área, de alta complejidad, es objeto de estudio de la *biología de sistemas*, en la que convergen la biología y la ciencia de la computación, y que también se conoce como biología computacional.

Factores de transcripción

La mayoría de las vías de transducción de señales en último término inducen efectos duraderos en la función celular, modulando la transcripción génica. Esto sucede mediante la activación y/o la localización nuclear de los factores de transcripción. Algunos factores de transcripción dirigen la expresión de un conjunto relativamente limitado de genes o de un programa genético específico, mientras que otros tienen efectos generalizados. Entre los factores de transcripción que regulan la división celular se incluyen los productos de varios genes promotores del crecimiento, como el *MYC* y el *JUN*, y de genes inhibidores del ciclo celular, como el *TP53*. Los factores de transcripción a menudo contienen dominios modulares que se unen al ADN, moléculas pequeñas como las hormonas esteroideas y proteínas reguladoras intracelulares. Las interacciones mediadas por estos dominios pueden ser controladas por modificaciones tras la traducción, como la fosforilación. Estos cambios producen en ocasiones una translocación del citoplasma al núcleo, modifican la semivida de las proteínas de los factores de transcripción, exponen motivos de unión al ADN específicos o promueven la unión a componentes del complejo de la ARN polimerasa, con objeto de aumentar la actividad de los factores de transcripción.

- Los dominios de unión al ADN permiten la unión específica a secuencias de ADN cortas. Mientras que algunos sitios de unión a factores de transcripción se encuentran en promotores próximos al lugar de inicio de la transcripción, otros sitios

pueden hallarse a lo largo del genoma. En este último caso, la activación de los factores de transcripción puede determinar la transcripción simultánea de un casete de genes (presumiblemente interrelacionados y con interacciones entre ellos). Los factores de transcripción también pueden unirse a factores reguladores de amplio espectro, como los potenciadores que actúan conduciendo a los promotores génicos a áreas situadas en proximidad geográfica de los genes que regulan. La distancia que existe entre estas localizaciones si se considera la secuencia genética lineal subraya la importancia de la organización de la cromatina en la regulación de la expresión génica.

- Los dominios de interacción proteína-proteína en el seno de los factores de transcripción reclutan directa o indirectamente proteínas adicionales, incluyendo proteínas coactivadoras, enzimas modificadoras de histonas y complejos remodeladores de la cromatina, que desenrollan y/o exponen de algún modo los sitios de inicio. El aspecto más relevante es que reclutan la ARN polimerasa, el complejo enzimático de múltiples proteínas responsable de la síntesis de ARN.

FACTORES DE CRECIMIENTO Y RECEPTORES

Los factores de crecimiento estimulan la actividad de las vías de señalización y de los genes que aumentan la supervivencia, el crecimiento y la división celulares. Los factores de crecimiento se unen a receptores específicos y, en última instancia, influyen en la expresión de genes que:

- Favorecen la entrada en el ciclo celular.
- Eliminan los bloqueos para la progresión del ciclo celular (favoreciendo así la replicación).
- Impiden la apoptosis.
- Potencian la síntesis de componentes necesarios para la división celular (ácidos nucleicos, proteínas, lípidos, hidratos de carbono).

Aunque los factores de crecimiento se consideran de manera característica como proteínas que «solo» estimulan la proliferación y/o la supervivencia celular, es importante recordar que

también regulan un conjunto de actividades no asociadas al crecimiento, como la migración, la diferenciación y la capacidad de síntesis. Algunos factores implicados en la reparación y la regeneración de los tejidos se enumeran en la tabla 1.1 y se describen con más detalle en el capítulo 3.

Los factores de crecimiento regulan la proliferación celular en estado de equilibrio y en respuesta a una lesión, cuando se deben sustituir las células que han sufrido daño irreversible. Se puede producir una proliferación descontrolada cuando la actividad de los factores de crecimiento está desregulada o cuando las vías de señalización de dichos factores están alteradas o se activan de forma constitutiva. Así pues, numerosos genes de las vías de los factores de crecimiento son *protooncogenes*. En virtud de sus efectos proliferativos, las mutaciones con ganancia de función los convierten en *oncogenes*, que inducen una división celular sin restricciones y pueden ser precursores de las neoplasias malignas. Aunque los factores de crecimiento aquí descritos implican todos ellos a receptores con actividad cinasa intrínseca, dichos factores pueden seguir las vías de señalización mostradas en la figura 1.12.

Factor de crecimiento epidérmico (EGF) y factor de crecimiento transformante α (TGF- α). Estos dos factores pertenecen a la familia de los EGF, se unen a una serie de receptores solapados y comparten numerosas actividades biológicas. El EGF y el TGF- α , producidos por macrófagos y algunas células epiteliales, son mitógenos para los hepatocitos, fibroblastos y numerosos tipos de células epiteliales. La «familia de los receptores de EGF» comprende cuatro receptores de membrana con actividad tirosina cinasa intrínseca. El mejor tipificado de dichos receptores es el EGFR1, también conocido como ERB-B1, o simplemente como EGFR. Las mutaciones y/o la amplificación de EGFR1 están presentes con frecuencia en varios cánceres, incluidos los de pulmón, cabeza y cuello, mama y encéfalo. El receptor ERB-B2 (también conocido como HER2) está sobreexpresado en un subgrupo de cánceres de mama. Los anticuerpos y los antagonistas de molécula pequeña que actúan sobre muchos de estos receptores han resultado eficaces como tratamiento de algunos cánceres.

Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF). El HGF (también conocido como factor de dispersión) tiene efectos mitógenos

Tabla 1.1 Factores de crecimiento implicados en la regeneración y la reparación

Factor de crecimiento	Orígenes	Funciones
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	Macrófagos activados, glándulas salivales, queratinocitos, muchas otras células	Mitógeno para muchos tipos celulares; estimula la migración de células epiteliales; estimula la formación de tejido de granulación
Factor de crecimiento transformante α (TGF- α)	Macrófagos activados, queratinocitos, muchas otras células	Estimula la proliferación de hepatocitos y de muchas otras células epiteliales
Factor de crecimiento de los hepatocitos (HGF) (factor de dispersión)	Fibroblastos, células estromales en el hígado, células endoteliales	Potencia la proliferación de hepatocitos y otras células epiteliales; aumenta la motilidad celular
Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)	Células mesenquimatosas	Estimula la proliferación de células endoteliales; aumenta la permeabilidad vascular
Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)	Plaquetas, macrófagos, células endoteliales, células de músculo liso, queratinocitos	Quimiotáctico para neutrófilos, macrófagos, fibroblastos y células de músculo liso; activa y estimula la proliferación de fibroblastos, células endoteliales y otras células; estimula la síntesis de proteínas de la MEC
Factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), incluyendo el ácido (FGF-1) y el básico (FGF-2)	Macrófagos, mastocitos, células endoteliales, muchos otros tipos celulares	Quimiotáctico y mitógeno para fibroblastos; estimula la angiogénesis y la síntesis de proteínas de la MEC
Factor de crecimiento transformante β (TGF- β)	Plaquetas, linfocitos T, macrófagos, células endoteliales, células epiteliales, células de músculo liso, fibroblastos	Quimiotáctico para leucocitos y fibroblastos; estimula la síntesis de proteínas de la MEC; inhibe la inflamación aguda
Factor de crecimiento de queratinocitos (KGF) (p. ej., FGF-7)	Fibroblastos	Estimula la migración, la proliferación y la diferenciación de queratinocitos

MEC, matriz extracelular.

sobre los hepatocitos y la mayoría de las células de epitelios, como el biliar, el pulmonar, en renal, el de mama y el de piel. El HGF actúa como *morfógeno* en el desarrollo embrionario (es decir, influye en el patrón de diferenciación tisular), favorece la migración celular (de ahí el nombre factor de dispersión) y aumenta la supervivencia de los hepatocitos. El HGF es producido por fibroblastos y por la mayoría de las células mesenquimatosas, endoteliales y hepáticas diferentes de los hepatocitos. Se sintetiza como un precursor inactivo (pro-HGF), que es proteolíticamente activado por las serina proteasas liberadas en las zonas de lesión. El receptor del HGF es el MET, que ejerce una actividad tirosina cinasa intrínseca. Con frecuencia el MET está sobreexpresado o mutado en tumores, particularmente carcinomas renales y papilares tiroideos. En consecuencia, los inhibidores del MET están siendo evaluados como posibles tratamientos del cáncer.

Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF). El PDGF es, en realidad, una familia de varias proteínas, cada una de las cuales consta de dos cadenas (designadas por pares de letras). Hay tres isoformas de PDGF (AA, AB y BB) que son biológicamente activas de manera directa; el PDGF-CC y el PDGF-DD deben ser activados por escisión proteolítica. Las proteínas del PDGF se almacenan en gránulos del citoplasma y se liberan por las plaquetas activadas. Aunque originalmente se aislaron en las plaquetas (de ahí su nombre), los PDGF son producidos por diversas células, como macrófagos activados, células endoteliales, células musculares lisas y células tumorales. Todas las isoformas de PDGF ejercen sus efectos mediante la unión a dos receptores de superficie celular (PDGFR α y β), ambos con actividad tirosina cinasa intrínseca. El PDGF induce la proliferación de fibroblastos, células endoteliales y musculares lisas, y es también quimiotáctico para estas células (y para las inflamatorias), por lo que favorece su reclutamiento a sitios de inflamación y lesión tisular.

Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Los VEGF constituyen una familia de proteínas homodímeras: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D y factor de crecimiento placentario (PIGF). El VEGF-A se conoce como VEGF; es el principal factor *angiogénico* (inductor de desarrollo de vasos sanguíneos) tras una lesión y en los tumores. En comparación, el VEGF-B y el PIGF participan en el desarrollo de vasos embrionarios, y el VEGF-C y el VEGF-D estimulan ambos la angiogenia y el desarrollo linfático (*linfangiogenia*). Con independencia de sus funciones en la angiogenia, los VEGF también están implicados en el mantenimiento del endotelio normal, con una expresión máxima en células epiteliales adyacentes al epitelio fenestrado (p. ej., los podocitos en el riñón, el epitelio pigmentario en la retina y el plexo coroideo). El VEGF induce todas las propiedades necesarias para la angiogenia, incluidas la migración y la proliferación de células endoteliales (brotes capilares), y promueve la formación de las luces vasculares. El VEGF también afecta a la dilatación vascular y aumenta la permeabilidad de los vasos (originariamente el VEGF se denominó factor de permeabilidad vascular para reflejar esa actividad). Como cabría prever, la hipoxia es el principal inductor de la producción de VEGF, mediante vías que implican la activación del factor de transcripción conocido como *factor inducible por hipoxia 1* (HIF-1). Otros inductores de VEGF, producidos en sitios de inflamación o cicatrización de heridas, son el PDGF y el TGF- α .

Los VEGF se unen a una familia de receptores de tirosina cinasas (VEGFR-1, VEGFR-2 y VEGFR-3). El VEGFR-2 se expresa mucho en el endotelio y es el más importante de estos factores para la angiogenia. Los anticuerpos anti-VEGF están aprobados para el tratamiento de tumores, como los cánceres renales y de colon, que requieren angiogenia para su diseminación y crecimiento. Los tratamientos anti-VEGF han resultado satisfactorios para trastornos

oftalmológicos, como la degeneración macular relacionada con la edad «húmeda» (una alteración debida a angiogenia y permeabilidad vascular inapropiadas, que causa ceguera de inicio en la edad adulta), la angiogenia asociada a retinopatía de la prematuridad y la fuga vascular causante de edema macular diabético. Por último, las concentraciones aumentadas de VEGFR-1 soluble (también conocido como s-FLT-1) en embarazadas pueden provocar pre-eclampsia (hipertensión y proteinuria) por secuestro del VEGF libre requerido para el mantenimiento del endotelio normal.

Factor de crecimiento fibroblástico (FGF). El FGF es una familia de factores de crecimiento con más de 20 miembros. El FGF ácido (aFGF) (también conocido como FGF-1) y el FGF básico (bFGF) (también conocido como FGF-2) son los mejor tipificados. El FGF-7 también se denomina factor de crecimiento de queratinocitos (KGF). Los FGF liberados se asocian al sulfato de heparano en la MEC, que sirve como depósito de factores inactivos que pueden ser posteriormente liberados mediante proteólisis (p. ej., en las heridas en cicatrización). Los FGF transducen señales a través de cuatro receptores de tirosina cinasas (de FGFR1 a FGFR4) para promover la cicatrización de heridas, la hematopoyesis y el desarrollo. El bFGF tiene todas las propiedades necesarias para la angiogenia.

Factor de crecimiento transformante β (TGF- β). El TGF- β tiene tres isoformas (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) que pertenecen a una familia más amplia, de unos 30 miembros, que incluye las proteínas morfógenas óseas (BMP), las activinas, las inhibinas y la sustancia inhibidora de Müller. El TGF- β 1 muestra la distribución más amplia y se suele designar simplemente como TGF- β . Es una proteína homodímera producida por múltiples tipos celulares, que incluyen plaquetas, células endoteliales, epiteliales e inflamatorias. El TGF- β es secretado como precursor que requiere proteólisis para dar lugar a una proteína biológicamente activa. Hay dos receptores de TGF- β (tipos I y II), ambos con actividad serina/treonina cinasa, que inducen fosforilación de diversos factores de transcripción anterógrados llamados Smad. Los Smad fosforilados forman heterodímeros, que permiten la translocación nuclear y la asociación a otras proteínas de unión al ADN y para activar o inhibir la transcripción génica. La señalización del TGF- β tiene múltiples efectos, a veces opuestos, dependiendo del tipo de tejido y de las señales concurrentes. Los agentes con esta multiplicidad de efectos se denominan *pleótropos*, y del TGF- β se dice que es «*pleótropo con una venganza*». A pesar de todo, principalmente el TGF- β puede interpretarse como un regulador de la formación de cicatriz y como elemento para frenar la inflamación que la acompaña.

- El TGF- β estimula la producción de colágeno, fibronectina y proteoglucanos, e inhibe la degradación del colágeno, reduciendo la actividad de las metaloproteinasas de la matriz (MMP) y aumentando la de los inhibidores tisulares de proteínas (TIMP) (v. más adelante). El TGF- β no solo está implicado en la formación de cicatriz tras una lesión, sino que también promueve la fibrosis en el pulmón, el hígado, el intestino y el riñón en un contexto de inflamación crónica.
- El TGF- β es, asimismo, una citocina antiinflamatoria que limita y finaliza las respuestas inflamatorias, inhibiendo la proliferación de linfocitos y la actividad de otros leucocitos. Los animales que carecen de TGF- β experimentan una inflamación generalizada y persistente.

MATRIZ EXTRACELULAR

La MEC es una red de proteínas que constituye una parte significativa de cualquier tejido. Las interacciones celulares con la MEC son esenciales para el desarrollo, la cicatrización y

el mantenimiento de la arquitectura tisular normal (fig. 1.13). Mucho más que un simple «relleno de espacio» en torno a las células, la MEC actúa como:

- **Soporte mecánico para la fijación y la migración de las células y para el mantenimiento de la polaridad celular.**
- **Reguladora de la proliferación celular** por fijación y exposición de factores de crecimiento y por emisión de señales a través de receptores de la familia de las integrinas celulares. En la MEC también se almacenan factores de crecimiento latentes que pueden activarse en focos de lesión o inflamación.
- **Armazón estructural para la renovación tisular.** Dado que el mantenimiento de la estructura del tejido normal requiere una membrana basal o soportes estromales, la integridad de la membrana basal o el estroma de las células parenquimatosas es fundamental para la regeneración organizada de los tejidos. Así pues, la alteración de la MEC impide la regeneración y la reparación eficaz de los tejidos.
- **Fundamento para el establecimiento de microambientes tisulares.** La membrana basal actúa como límite entre el epitelio y el tejido conjuntivo subyacente, pero, con frecuencia, aporta algo más que su soporte estructural; por ejemplo, en el riñón, forma parte del aparato de filtración.

La MEC se remodela de forma constante, y su síntesis y degradación acompañan a procesos como la morfogenia, la regeneración y la reparación tisulares, la fibrosis crónica, y la invasión y la metástasis tumorales.

La MEC se presenta en dos formas básicas: matriz intersticial y membrana basal (fig. 1.14).

- **Matriz intersticial.** La matriz intersticial ocupa los espacios entre las células estromales en el tejido conjuntivo y entre el epitelio parenquimatoso y las estructuras de soporte vasculares y de músculo liso en algunos órganos. La matriz intersticial es sintetizada por células mesenquimatosas (p. ej., fibroblastos), formando un gel semilíquido, tridimensional y relativamente amorfó. En algunos tejidos, como los del tubo digestivo, la vejiga urinaria y los tejidos blandos peritoneales, el líquido del interior de la matriz amortigua la compresión tisular asociada al peristaltismo, la micción y el flujo de sangre arterial pulsátil. Los principales componentes no líquidos de la matriz intersticial son colágenos fibrilares y no fibrilares, así como fibronectina, elastina, proteoglucanos y hialuronato, entre otros (v. más adelante).
- **Membrana basal.** La matriz intersticial presente en los tejidos conjuntivos se organiza de forma muy importante alrededor de las células epiteliales, endoteliales y de músculo liso,

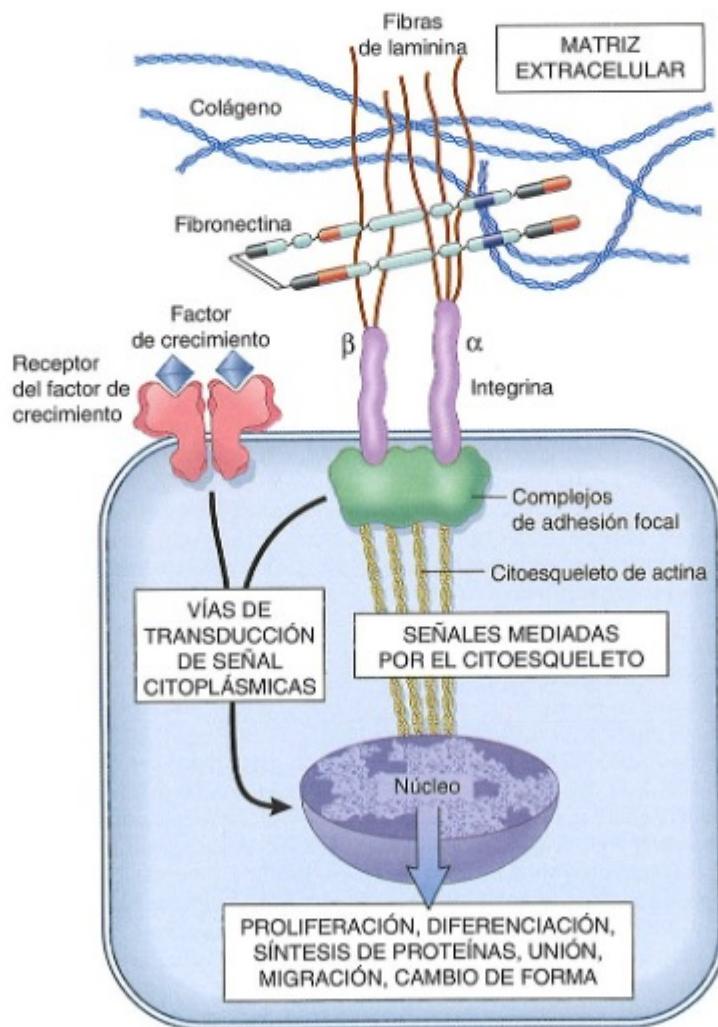


Figura 1.13 Interacciones de la matriz extracelular (MEC) y los factores de crecimiento para mediar la señalización celular. Las integrinas de la superficie celular interactúan con el citoesqueleto en complejos de adhesión focales (agregados de proteínas como vinculina, α -actinina y talina; v. fig. 1.17C). Se activa así la producción de mensajeros intracelulares o la transducción directa de las señales al núcleo. Los receptores de la superficie celular para los factores de crecimiento activan las vías de transducción de señales que se solapan con las mediadas por las integrinas. Las señales de los componentes de la MEC y los factores de crecimiento pueden ser integradas por las células, para generar respuestas como cambios en la proliferación, la locomoción y la diferenciación.

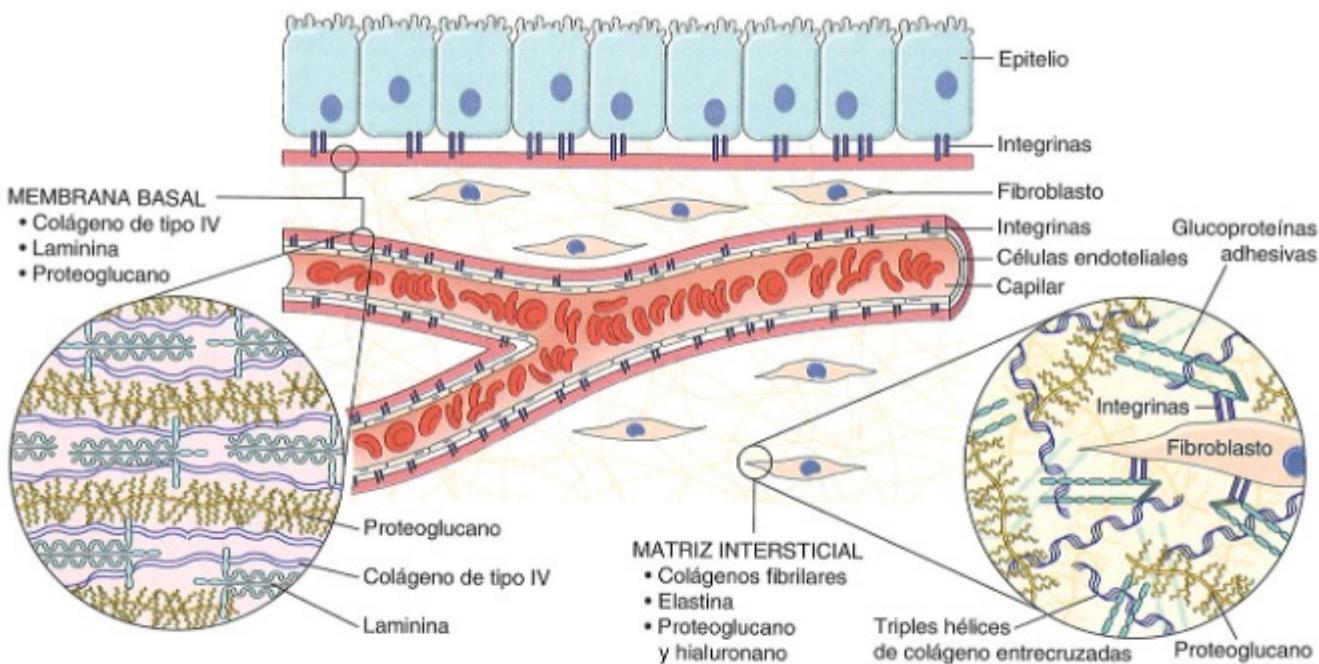


Figura 1.14 Principales componentes de la matriz extracelular (MEC), incluidos colágenos, proteoglucanos y glucoproteínas adhesivas. Las células epiteliales y mesenquimatosas (p. ej., fibroblastos) interactúan con la MEC a través de las integrinas. Las membranas basales y la MEC intersticial presentan una arquitectura y una composición general diferentes, aunque algunos componentes están presentes en ambas. Para una mayor claridad, no se muestran varios de los componentes de la MEC (p. ej., elastina, fibrilina, hialuronano y sindecano).

donde forma membranas basales, que son superficies especializadas para el crecimiento celular. Los componentes de la membrana basal, sintetizados a partir del epitelio que la cubre y las células mesenquimatosas subyacentes, forman una malla plana (aunque se denomina membrana, es bastante porosa). Sus principales constituyentes son *colágeno de tipo IV* no fibrilar amorfo y *laminina*.

Componentes de la matriz extracelular (fig. 1.15)

Los componentes de la MEC se incluyen dentro de tres familias:

- *Proteínas estructurales fibrosas*, como colágenos y elastinas, que proporcionan fuerza de tensión y capacidad de retracción.
- *Geles hidratados*, como proteoglucanos y hialuronano, que favorecen la resistencia a la compresión y la lubricación.
- *Glucoproteínas adhesivas*, que conectan los elementos de la MEC entre sí y a las células.

Colágenos. Los colágenos están compuestos por tres cadenas polipeptídicas separadas, entrelazadas formando una triple hélice a modo de cordón (fig. 1.16). Se han identificado unos 30 tipos de colágeno, algunos de los cuales son específicos de determinados células y tejidos.

- *Colágenos fibrilares*: algunos tipos de colágeno (p. ej., tipos I, II, III y V) forman fibrillas lineales estabilizadas por puentes de hidrógeno intercalados en las cadenas y constituyen una importante proporción del tejido conjuntivo en estructuras como el hueso, los tendones, el cartílago, los vasos sanguíneos y la piel, y participan, asimismo, en la cicatrización de heridas y en las cicatrices. La fuerza de tensión de los colágenos fibrilares deriva del entrecruzamiento lateral de las triples hélices, formado por enlaces covalentes que siguen a la hidroxilación de la lisina. La enzima responsable, la *lisilo hidroxilasa*, es dependiente de la vitamina C, lo que explica por qué los niños con deficiencia de ascorbato presentan deformidades esqueléticas y por qué las personas

de cualquier edad con deficiencia de vitamina C muestran tendencia a cicatrizar mal y sangran con facilidad. Los defectos genéticos, incluidas las mutaciones en el colágeno y la lisilo hidroxilasa, producen enfermedades como la *osteogenia imperfecta* y ciertas variantes del *síndrome de Ehlers-Danlos* (v. capítulo 5).

- Los *colágenos no fibrilares* (p. ej., el colágeno de tipo IV) forman parte de las estructuras de las membranas basales planas; ayudan a regular el diámetro de las fibrillas de colágeno y las interacciones colágeno-colágeno, por medio de los llamados colágenos asociados a fibrillas con triples hélices interrumpidas (FACIT) (p. ej., el colágeno de tipo IX del cartílago), o bien proporcionan fibrillas de anclaje que mantienen la estructura del epitelio escamoso estratificado (p. ej., en el colágeno de tipo VII; las mutaciones dan lugar a enfermedades cutáneas ampollosas).

Elastina. La capacidad de los tejidos para retraerse de forma elástica y recuperar su forma original tras una deformación física la aporta la elastina (v. fig. 1.15A). La elasticidad es especialmente importante en las válvulas cardíacas y los grandes vasos, que necesitan acomodar el flujo pulsátil recurrente, así como en el útero, la piel y los ligamentos. Desde el punto de vista morfológico, las fibras elásticas constan de un núcleo central de elastina, con una red a modo de malla asociada de la glucoproteína *fibrilina*. Esta última relación explica parcialmente el motivo por el que los defectos de la síntesis de fibrilina causan anomalías esqueléticas y paredes aórticas debilitadas, como en los pacientes con *síndrome de Marfan*. La fibrilina también controla la disponibilidad de TGF- β , y su función desempeña un papel destacado en la patogenia del *síndrome de Marfan* (v. capítulo 5).

Proteoglucanos y hialuronano (v. fig. 1.15B). Los proteoglucanos forman geles compresibles altamente hidratados que proporcionan resistencia frente a las fuerzas compresivas. En el cartílago articular, también proporcionan una capa de lubricación entre las superficies óseas adyacentes. Los proteoglucanos

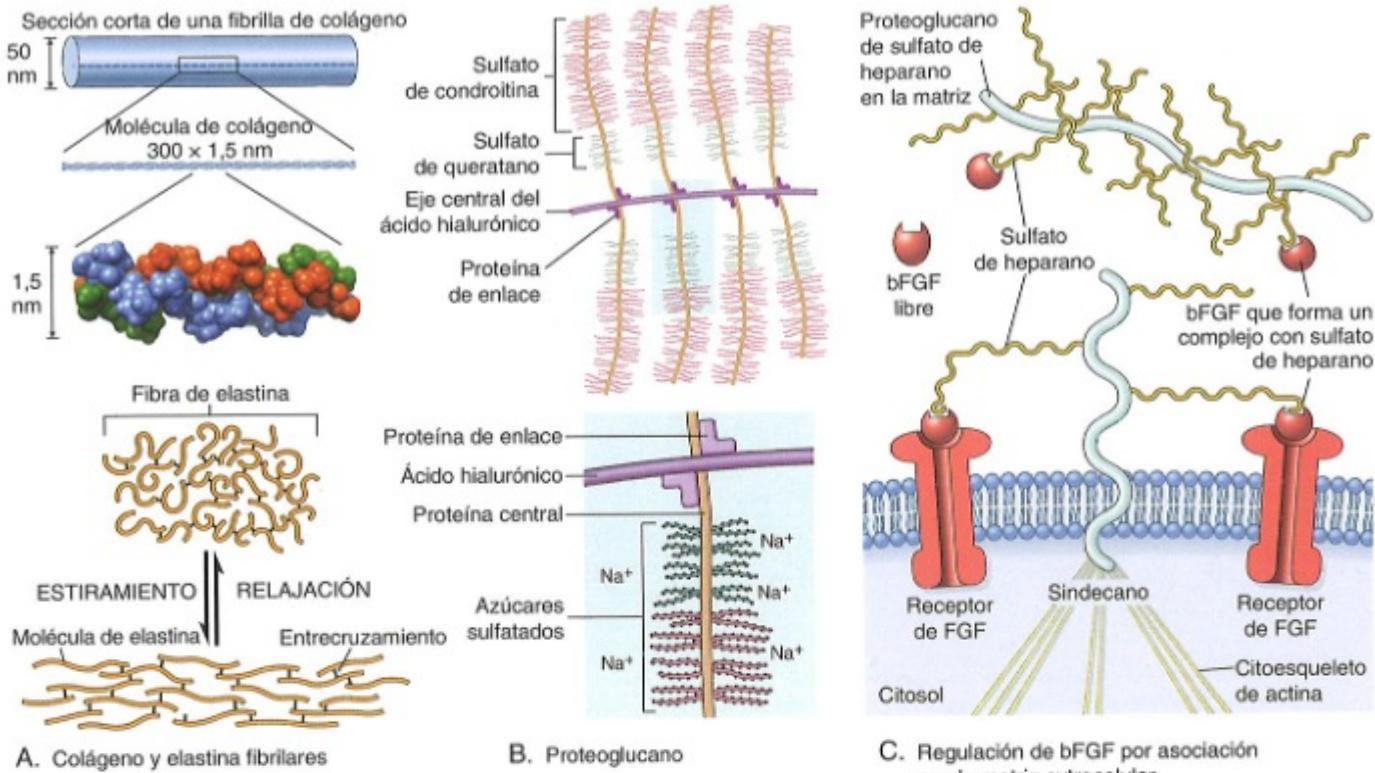


Figura 1.15 Componentes de la matriz extracelular (MEC). **A.** Colágeno fibrilar y estructuras fibrilares elásticas. Debido al apilamiento y al extenso entrecruzamiento lateral de fibrillas similares a bastones, las fibras de colágeno presentan una notable fuerza de tensión, pero no mucha elasticidad. La elastina está también entrecruzada, pero se distingue por presentar grandes segmentos hidrófobos, que forman una densa configuración globular en reposo. Al provocar estiramiento, los dominios hidrófobos tienden a abrirse, pero las fibras entrecruzadas mantienen el tejido intacto. La relajación de la tensión de estiramiento permite que los dominios hidrófobos de las proteínas vuelvan a plegarse. **B.** Estructura de los proteoglicanos. Los azúcares sulfatados con carga altamente negativa de las «cerdas» de los proteoglicanos atraen sodio y agua, generando una matriz viscosa, pero compresible. **C.** Regulación de la actividad del factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF, también conocido como FGF-2) por la MEC y los proteoglicanos celulares. El sulfato de heparano se une al bFGF secretado en la MEC. El sindecano es un proteoglicano de la superficie celular, con una proteína nuclear transmembrana y cadenas laterales de glucosaminoglucano extracelular, que puede unirse al bFGF, y con una cola citoplasmática que interacciona con citoesqueleto de actina intracelular. Las cadenas laterales de sindecano se unen al bFGF liberado por la MEC dañada, facilitando la interacción del bFGF con los receptores de la superficie celular. FGF, factor de crecimiento de fibroblastos.

constan de largos polisacáridos, llamados *glucosaminoglucanos* (ejemplos de los cuales son los sulfatos de queratano y condroitina), unidos a una proteína central. Estos se enlanzan a continuación a un polímero largo de ácido hialurónico, llamado *hialuronano*, con una disposición que recuerda a la de las cerdas de un cepillo redondo. La carga altamente negativa de los azúcares sulfatados, densamente agrupados, atrae cationes (sobre todo de sodio) y, con ellos, abundante agua atraída por ósmosis, que produce una matriz viscosa similar a un gel. Además de aportar compresibilidad a los tejidos, los proteoglicanos sirven como depósitos de factores de crecimiento secretados a la MEC (p. ej., FGF y HGF). Algunos proteoglicanos son proteínas integrales de la membrana celular implicadas en la proliferación, la migración y la adhesión de las células (p. ej., por unión a factores de crecimiento y quimiocinas, y concentración de tales compuestos) (v. fig. 1.15C).

Glucoproteínas adhesivas y receptores de adhesión. Las glucoproteínas adhesivas y los receptores de adhesión son moléculas estructuralmente diversas implicadas de maneras diferentes en las interacciones célula-célula, célula-MEC y MEC-MEC (fig. 1.17). Las glucoproteínas adhesivas prototípicas comprenden la *fibronectina* (un importante componente de la MEC intersticial) y la *laminina* (un constituyente destacado de la membrana basal). Las *integrinas* son representantes de los receptores de adhesión, también conocidos como moléculas de adhesión

celular (MAC), que también comprenden miembros de la familia de las inmunoglobulinas, las cadherinas y las selectinas.

- La *fibronectina* es un heterodímero grande (450 kDa), con puentes disulfuro, que presenta formas tisulares y plasmáticas. Es sintetizada por diversas células, entre ellas fibroblastos, monocitos y células endoteliales. La fibronectina tiene dominios específicos que pueden unirse a diferentes componentes de la MEC (p. ej., colágeno, fibrina, heparina y proteoglicanos), así como a integrinas celulares (v. fig. 1.17A). En las heridas en cicatrización, la fibronectina tisular y plasmática aporta un armazón para el posterior depósito de MEC, la angiogénesis y la reepitelización.
- La *laminina* es la glucoproteína más abundante en las membranas basales. Se trata de un heterotrímero en forma de cruz (820 kDa), que conecta las células a los componentes de la MEC subyacente, como el colágeno de tipo IV y el sulfato de heparano (v. fig. 1.17B). Además de mediar la unión celular a la membrana basal, la laminina también modula la proliferación, la diferenciación y la motilidad celulares.
- Las *integrinas* son una gran familia de glucoproteínas transmembrana heterodiméricas, compuestas por subunidades α y β . Estas proteínas permiten a las células unirse a elementos de la MEC, como la laminina y la fibronectina, vinculando funcional y estructuralmente el citoesqueleto intracelular al medio externo. Las integrinas también facilitan las interacciones adhesivas célula-célula. En los leucocitos, median

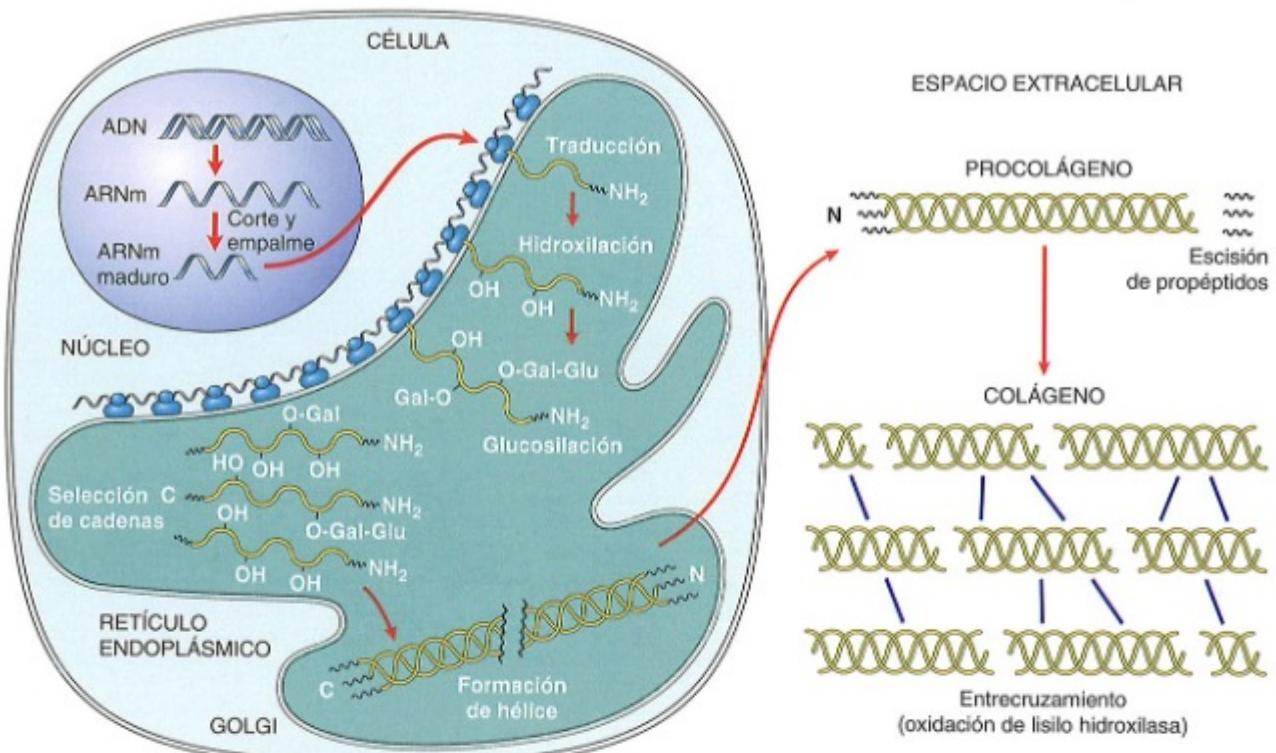


Figura 1.16 Vía biosintética del colágeno. Algunos tipos de colágeno son heterotriméricos (tipos I, V y XI), mientras que otros son homotriméricos (tipos II y III). Las cadenas α que conforman las moléculas de colágeno fibrilar son sintetizadas como cadenas precursoras pro- α , con grandes regiones polipeptídicas globulares que flanquean el dominio de triple hélice central. Tras la hidroxilación de la prolina y la lisina, y la glucosilación de esta última en el retículo endoplásmico, tres cadenas de procolágeno se alinean para formar una triple hélice. En todos los colágenos fibrilares, el extremo carboxilo del propéptido es eliminado por la actividad de la endoproteasa tras la secreción, y los consiguientes dominios similares a bastones de la triple hélice se polimerizan de forma espaciada para formar fibrillas. El propéptido del extremo N es procesado de modo variable, dependiendo de la cadena de colágeno. Para los tipos de colágeno I y II, el procesamiento del N-propéptido es completo, mientras que en los colágenos V y XI una parte importante de los N-propéptidos permanece unida. Este procesamiento «incompleto» puede regular el tamaño de las fibrillas. Tras la secreción, el colágeno obtiene estabilidad lateral mediante entrecruzamiento, que implica a la lisilo oxidasa y a residuos previamente hidroxilados. Los defectos en la secuencia primaria, el procesamiento por la procolágeno endopeptidasa, la hidroxilación o el entrecruzamiento pueden producir laxitud del tejido conjuntivo. Las estructuras específicas (p. ej., vasos sanguíneos, piel, hueso, ligamentos) afectadas por estos trastornos dependen predeciblemente del colágeno que predomina en cada tejido. ARNm, ARN mensajero.

la adhesión firme y la migración a través del endotelio y el epitelio en los sitios de inflamación (v. capítulo 3). Asimismo, desempeñan un papel esencial en la agregación plaquetaria (v. capítulo 4). Las integrinas se unen a los componentes de la MEC mediante un motivo tripeptídico arginina-glicina-ácido aspártico (consignado como RGD). Además de proporcionar unión focal a los sustratos subyacentes, la unión por medio de receptores de integrinas puede activar cascadas de señalización, que regulan el movimiento, la proliferación, la forma y la diferenciación celulares (v. fig. 1.17C).

que no experimentan el ciclo de forma activa se encuentran en estado G_0 (*gap 0*) (fig. 1.18). Las células pueden pasar a G_1 desde la reserva de células quiescentes en G_0 o bien tras completar un ciclo de mitosis. Cada fase exige la terminación del paso anterior, así como la activación de los factores necesarios (v. más adelante). La falta de fidelidad en la replicación del ADN o la deficiencia de cofactores dan lugar a parada del ciclo en varios puntos de transición.

El ciclo celular es regulado por activadores e inhibidores. La progresión del ciclo celular se ve facilitada por unas proteínas llamadas *ciclinas*, que reciben este nombre por la naturaleza cíclica de su producción y su degradación, y por unas enzimas asociadas a ciclinas, denominadas *cinasas dependientes de ciclinas* (CDK) (fig. 1.19). Las CDK sintetizadas constitutivamente adquieren actividad cinasa, es decir, capacidad de fosforilar los sustratos de las proteínas, formando complejos con las correspondientes ciclinas. El aumento transitorio de la síntesis de una determinada ciclina se asocia a un aumento de la actividad cinasa de la pareja de unión a CDK correspondiente. Cuando la CDK completa su ciclo de fosforilación, la ciclina asociada es degradada y la actividad de la CDK disminuye. En consecuencia, a medida que las concentraciones de las ciclinas aumentan o disminuyen, sucede lo mismo con la actividad de las CDK asociadas.

Se han identificado más de 15 ciclinas. Las ciclinas D, E, A y B aparecen secuencialmente durante el ciclo celular, y se unen a una o más CDK. El ciclo celular se asemeja, pues, a una carrera

MANTENIMIENTO DE LAS POBLACIONES CELULARES

Proliferación y ciclo celular

La proliferación celular es fundamental para el desarrollo de los organismos, el mantenimiento de la homeostasis celular en estado de equilibrio y la reposición de células muertas o dañadas. Los elementos clave de la proliferación celular son la replicación precisa del ADN, la síntesis coordinada de otros constituyentes celulares y la distribución equitativa del ADN y los orgánulos a las células hijas, a través de los procesos de la mitosis y la citocinesis.

La secuencia de episodios que determina la proliferación celular es el *ciclo celular*, consistente en las fases G_1 (*gap 1*), S (síntesis de ADN), G_2 (*gap 2*) y M (mitótica). Las células quiescentes

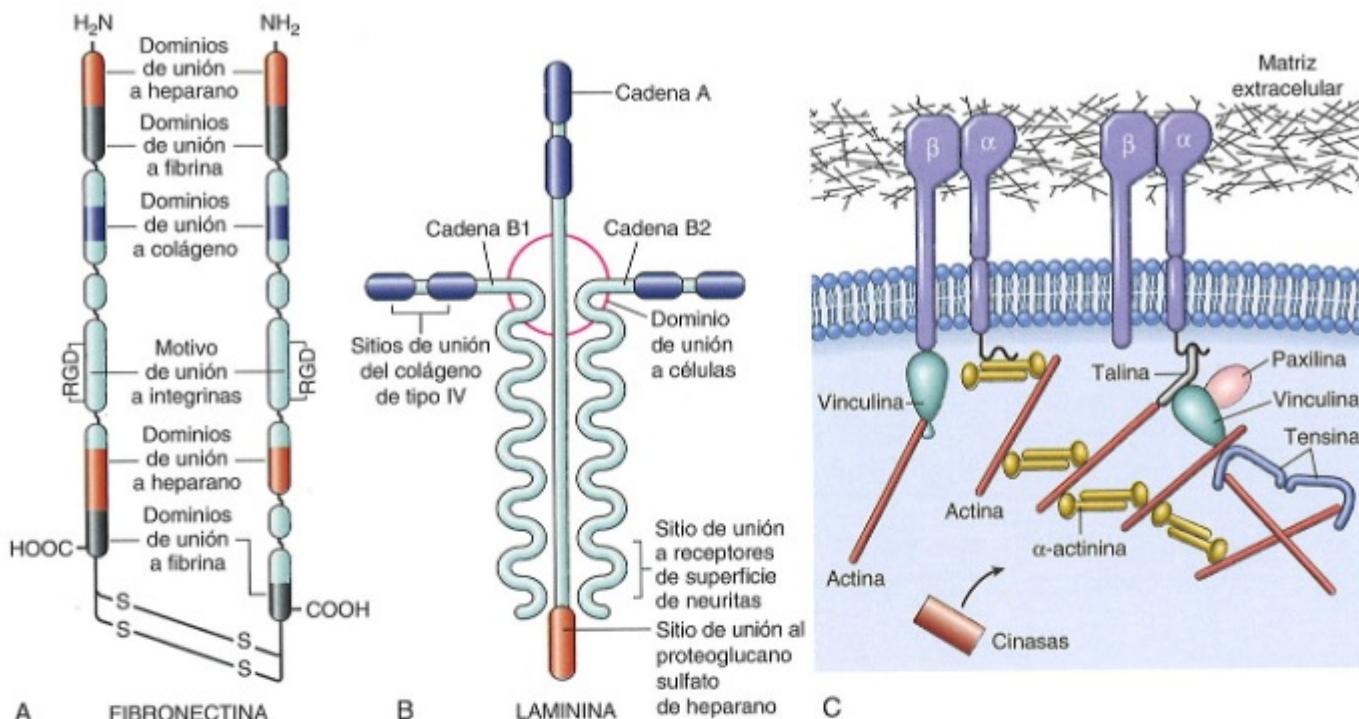


Figura 1.17 Interacciones entre las células y la matriz extracelular (MEC): señalización de glucoproteínas adhesivas e integrinas. **A.** La fibronectina es un dímero con enlaces disulfuro, con diversos dominios que permiten la unión a MEC e integrinas, en este último caso mediante unidades arginina-glicina-ácido aspártico (RGD). **B.** La molécula de laminina, con forma de cruz, es uno de los principales componentes de las membranas basales; presenta una estructura multidominio que favorece la interacción entre el colágeno de tipo IV, otros componentes de la MEC y receptores de superficie celular. **C.** Integrinas y episodios de señalización mediados por ellas en los complejos de adhesión focales. Cada receptor de integrina heterodimérica α/β es un dímero transmembrana que une la MEC y el citoesqueleto intracelular. También se asocia a un complejo de moléculas de unión (p. ej., vinculina y talina) que recluta y activa cinasas y, en última instancia, desencadena cascadas de señalización anterógrada.

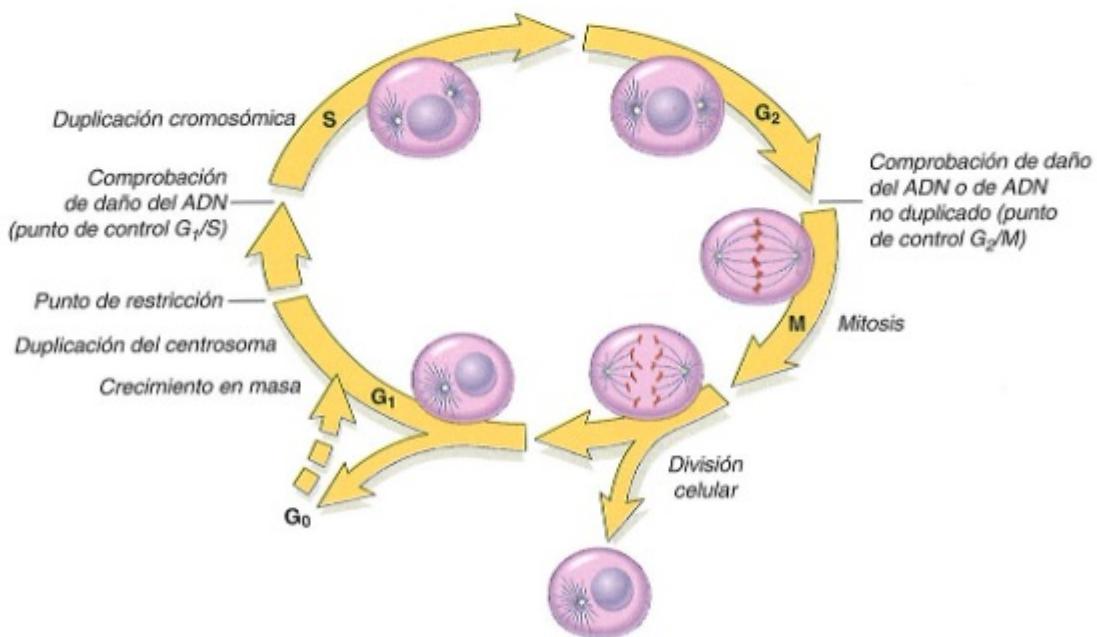


Figura 1.18 Puntos de referencia del ciclo celular. La figura muestra las fases del ciclo celular (G_0 , G_1 , S , G_2 y M), la localización del punto de restricción G_1 , y los puntos de control G_1/S y G_2/M . El punto de restricción G_1 hace referencia al estadio en G_1 en el que la célula está implicada en el avance en el ciclo celular sin requerir ya la señal de crecimiento que inicia la división celular. Las células de tejidos lábiles, como la epidermis y el tubo digestivo, pueden presentar ciclos continuos. Las células estables, como los hepatocitos, se mantienen latentes, aunque pueden entrar en el ciclo celular; las células permanentes, como las neuronas y los miocardiocitos, han perdido su capacidad de proliferación. (Modificado de Pollard TD, Earnshaw WC: Cell Biology, Philadelphia, 2002, Saunders.)

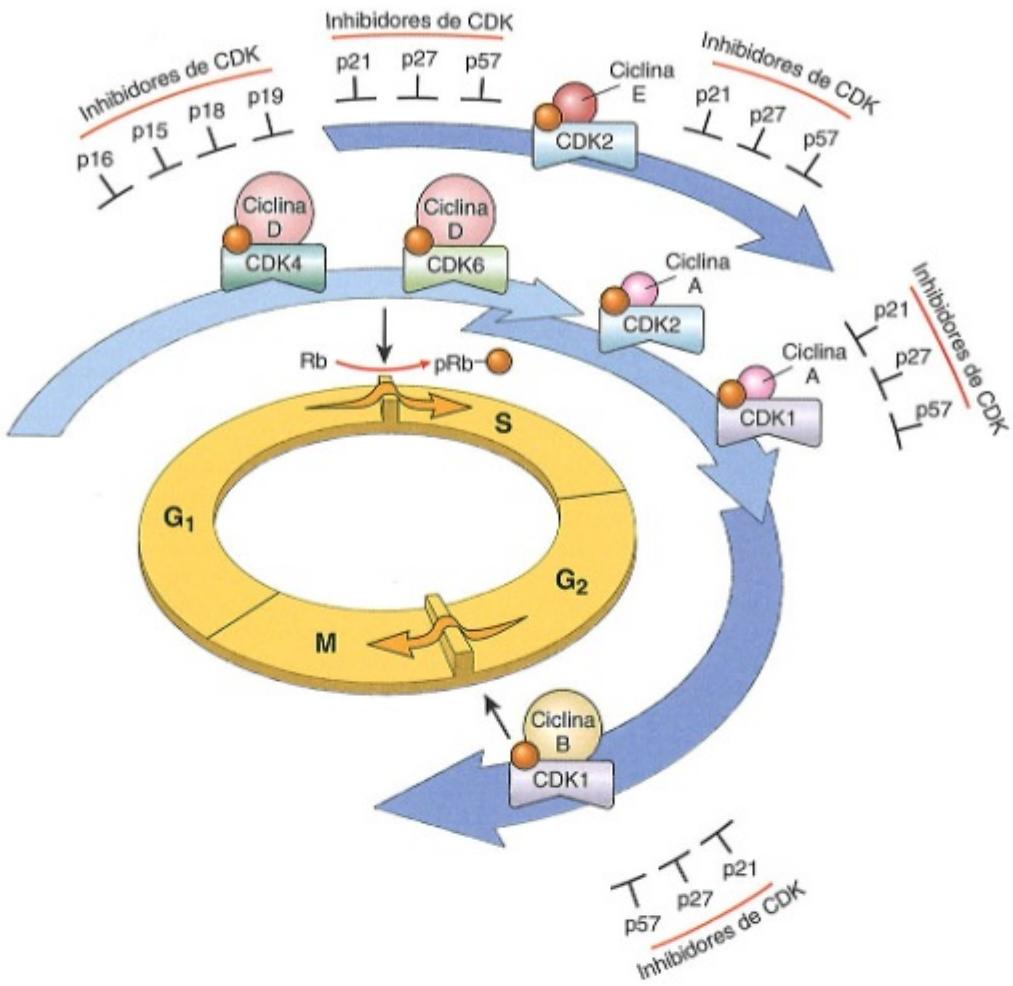


Figura 1.19 Función de las ciclinas, las cinasas dependientes de ciclinas (CDK) y los inhibidores de CDK (CDKI) en la regulación del ciclo celular. Las flechas sombreadas representan las fases del ciclo celular durante las que los complejos ciclina-CDK específicos están activos. Como se ilustra, los complejos ciclina D-CDK4, ciclina D-CDK6 y ciclina E-CDK2 regulan la transición de G₁ a S por fosforilación de la proteína Rb (pRb). Los complejos ciclina A-CDK1 y ciclina B-CDK1 están activos en la fase S. El complejo ciclina B-CDK1 es esencial para la transición de G₂ a M. Dos familias de inhibidores de CDK pueden bloquear la actividad de las CDK y su progresión a lo largo del ciclo celular. Los llamados inhibidores INK4, compuestos por p15, p16, p18 y p19, actúan sobre la ciclina D-CDK4 y la ciclina D-CDK6. La otra familia de tres inhibidores, p21, p27 y p57, puede inhibir todas las CDK.

de relevos en la que cada uno de los relevos es regulado por un conjunto de ciclinas distinto: cuando un conjunto de ciclinas abandona la pista, el siguiente entra en acción.

Integrados en el ciclo celular, hay mecanismos de vigilancia habilitados para detectar el daño del ADN o cromosómico. Estos *puntos de control* de calidad aseguran que las células con imperfecciones genéticas no completan su replicación. De este modo, el punto de control G₁-S valora la integridad del ADN antes de asignar de manera irreversible recursos celulares a la replicación del ADN. En una fase posterior del ciclo celular, el punto de restricción G₂-M asegura que se ha producido una replicación genética adecuada antes de que la célula se divida realmente. Cuando las células detectan irregularidades en el ADN, la activación de los puntos de control retrasa la progresión del ciclo celular y activa los mecanismos de reparación de dicho ADN. Si la alteración genética es demasiado grave para ser reparada, las células experimentan apoptosis o entran en un estado no replicativo llamado *senescencia*, principalmente a través de mecanismos dependientes de p53 (v. más adelante).

El refuerzo de los puntos de control del ciclo celular compete a los *inhibidores de la CDK* (CDKI). Estos realizan esta labor modulando la actividad del complejo CDK-ciclina. Hay varios CDKI diferentes.

- Una familia de CDKI, compuesta por tres proteínas llamadas p21 (CDKN1A), p27 (CDKN1B) y p57 (CDKN1C), que inhibe a múltiples CDK.
- Otra familia de CDKI ejerce efectos selectivos sobre las ciclinas CDK4 y CDK6; estas proteínas se denominan p15 (CDKN2B), p16 (CDKN2A), p18 (CDKN2C) y p19 (CDKN2D).
- Las proteínas de control de CDKI defectuosas permiten que las células con ADN dañado se dividan, dando lugar a hijas mutadas con riesgo de transformación maligna.

Un aspecto igualmente importante del crecimiento y la división celulares es la biosíntesis de las membranas, las proteínas citosólicas y los orgánulos necesarios para generar dos células hijas. Así, cuando la señalización de los receptores de factores de crecimiento estimula la progresión del ciclo celular, también activa episodios promotores de cambios metabólicos que dan soporte al crecimiento. Destaca, entre ellos, el cambio a glucólisis aeróbica (con reducción contraria a la lógica de la fosforilación oxidativa), también llamada *efecto Warburg*. Estas alteraciones del metabolismo celular son un importante elemento en el crecimiento de células cancerosas y se tratan con más detalle en el capítulo 7.

Células madre

Las células madre tienen la doble propiedad de ser capaces de autorrenovarse y de dar lugar a células y tejidos diferenciados. Durante el desarrollo, las *células madre totipotenciales* pueden generar el espectro completo de tejidos diferenciados. En el organismo maduro, las *células madre adultas* solo tienen capacidad de reemplazar células dañadas y mantener poblaciones celulares en los tejidos en los que residen. Hay también poblaciones de células madre situadas entre estos dos extremos, con capacidades variables para diferenciarse en estirpes celulares múltiples (aunque limitadas). Así pues, dependiendo del origen y de la fase de desarrollo, hay límites para los tipos celulares que una «célula madre» puede generar.

En tejidos normales, sin cicatrización, degeneración o neoplasia, hay un equilibrio homeostático entre replicación, autorrenovación y diferenciación de las células madre y muerte de las células maduras plenamente diferenciadas (fig. 1.20). La relación dinámica entre las células madre y el parénquima diferenciado terminalmente es, sobre todo, evidente en el epitelio en división continua de la piel. Las células madre en la capa basal del epitelio se dividen y sus células hijas se diferencian progresivamente, a medida que migran a las capas superiores del epitelio antes de morir y ser eliminadas.

En condiciones de homeostasis, las células madre se mantienen por autorrenovación, que puede conllevar dos tipos de división celular:

- La *división asimétrica* es la replicación celular en la que una célula hija entra en una vía de diferenciación y da lugar a células maduras, mientras que la otra permanece indiferenciada y mantiene su capacidad de autorrenovación.
- La *división simétrica* se produce cuando ambas células hijas conservan la capacidad de autorrenovación. Esta forma de replicación tiene lugar al principio de la embriogenia, cuando las poblaciones de células madre están en expansión,

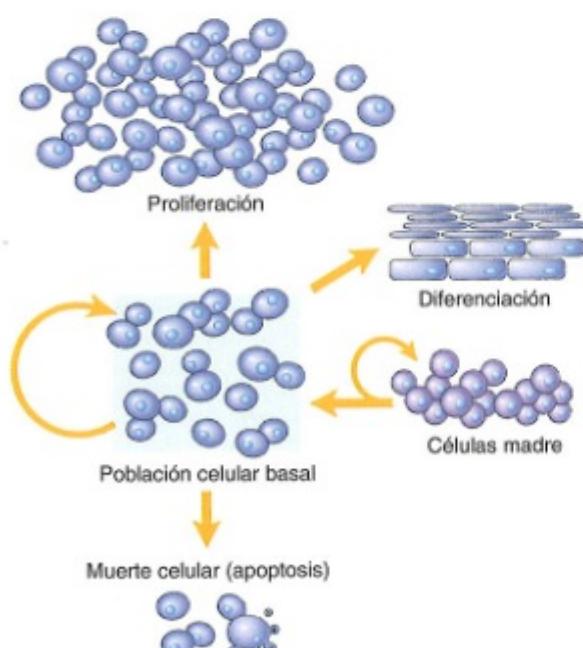


Figura 1.20 Mecanismos que regulan las poblaciones celulares. El número de células puede alterarse por aumento o disminución del aporte de células madre, por muerte celular debida a apoptosis o por cambio en la velocidad de proliferación o diferenciación. (Modificado de McCarthy NJ, et al: Apoptosis in the development of the immune system: growth factors, clonal selection and bcl-2, *Cancer Metastasis Rev* 11:157, 1992.)

y en condiciones de estrés, como en la repoblación de médula ósea tras la quimioterapia ablativa.

Aunque algunos investigadores separan las células madre en múltiples subgrupos diferentes, hay fundamentalmente dos únicas variedades.

- Las *células madre embrionarias (ES)* son las más indiferenciadas. Están presentes en la masa celular interna del blastocisto, tienen una capacidad de renovación prácticamente ilimitada y pueden generar cualquier célula del cuerpo, por lo que se dice de ellas que son *totipotenciales* (fig. 1.21). Aunque las células ES pueden mantenerse durante períodos prolongados sin diferenciarse, en ocasiones son inducidas en condiciones de cultivo apropiadas para formar células especializadas de las tres capas celulares germinales.
- Las *células madre tisulares* (también llamadas *células madre adultas*) se encuentran en íntima asociación con las células diferenciadas de un determinado tejido. Normalmente están protegidas en microentornos tisulares especializados, llamados *nichos de células madre*. Tales nichos se han hallado en numerosos órganos y, sobre todo, en la médula ósea, donde es característico que las células madre hematopoyéticas se congreguen en nichos perivasculares, y en los intestinos, donde las células madre epiteliales están confinadas a las criptas. Otros nichos de células madre comprenden la región de la protuberancia de los folículos pilosos, el limbo de la córnea y la zona subventricular en el cerebro. Otras células y factores solubles presentes en los nichos regulan el equilibrio entre la latencia de las células madre y la expansión y diferenciación (fig. 1.22).

Las células madre adultas tienen un repertorio (*potencial de estirpe*) limitado en cuanto a las células diferenciadas que pueden generar. En consecuencia, aunque pueden mantener los tejidos con un grado de recambio celular alto (p. ej., en la piel y el tubo digestivo) o bajo (p. ej., en el endotelio), las células madre adultas en cualquier tejido, en general, producen solo las células que normalmente se encuentran en dicho tejido.

Las células madre hematopoyéticas reponen de manera continua todos los elementos celulares de la sangre, a medida que salen de la circulación, entran en senescencia o se consumen de cualquier otro modo. Pueden aislar directamente de la médula ósea, así como de la sangre periférica tras la administración de determinados factores estimuladores de colonias que inducen su liberación a partir de los nichos de la médula ósea. Aunque en conjunto son poco numerosas, las células madre hematopoyéticas pueden purificarse hasta un grado de pureza casi completa, basándose en los marcadores de superficie celular. Desde el punto de vista clínico, estas células madre se emplean para reposar mèdulas agotadas tras la quimioterapia (p. ej., por leucemia) o para aportar precursores normales, con objeto de corregir diferentes defectos de las células sanguíneas (p. ej., la drepanocitosis; v. capítulo 14).

Además de las células madre hematopoyéticas, la médula ósea (y también otros tejidos, como el adiposo) contienen una población de *células madre mesenquimatosas*. Se trata de células multipotenciales que se diferencian en diversas células estromales, como condrocitos (cartílago), osteocitos (hueso), adipocitos (grasa) y miocitos (músculo). Dado que estas células pueden expandirse de forma masiva y generar un microentorno inmunodepresor a nivel local (y pueden evitar el rechazo), son posibles medios para fabricar soportes estructurales para las células estromales, aplicables a la regeneración tisular.

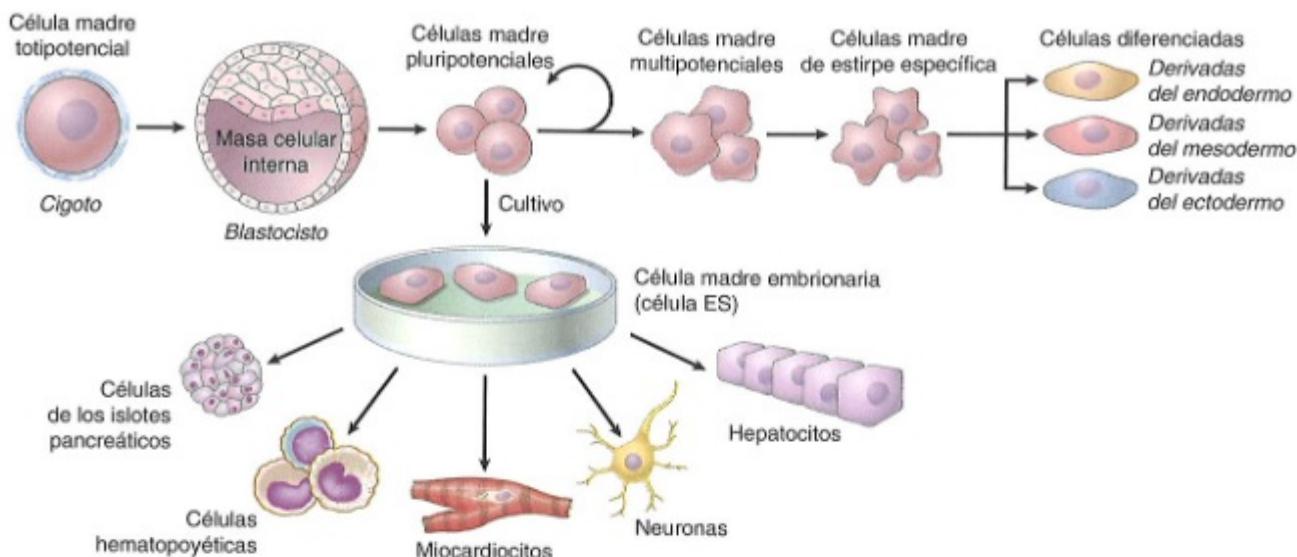


Figura 1.21 Células madre embrionarias (ES). El cigoto, formado por la unión de un espermatozoide y un óvulo, se divide para formar blastocistos, y la masa celular interna del blastocisto genera el embrión. Las células pluripotenciales de la masa celular interna, conocidas como células ES, pueden ser inducidas para que se diferencien en células de múltiples estirpes. En el embrión, las células madre pluripotenciales pueden dividirse de forma asimétrica para dar lugar a una reserva estable de células ES y para generar poblaciones con capacidad de desarrollo progresivamente restringida que, en última instancia, producen células madre que participan solo en estirpes específicas. Las células ES pueden cultivarse *in vitro* e inducirse para que se diferencien a células características de las tres capas germinales.

Medicina regenerativa

El creciente campo de la medicina regenerativa se ha hecho posible gracias a la capacidad de identificar, aislar, expandir y trasplantar células madre. En teoría, la estirpe diferenciada de células ES o de células madre adultas puede utilizarse para repoblar tejidos dañados o incluso para construir órganos enteros. Existe, pues, un considerable interés por las opciones terapéuticas relacionadas con la recuperación de tejidos que tienen escasa capacidad regenerativa intrínseca, como el miocardio o las neuronas, o con la promoción de la cicatrización tras un infarto de miocardio o un accidente cerebrovascular, respectivamente. A pesar de la mejora de la capacidad para purificar o expandir las células madre, el éxito se ha visto hasta el momento limitado por las dificultades en la introducción y

la integración funcional de células de sustitución en los focos de lesión.

Otra cuestión se plantea a partir de la reactividad inmunitaria de la mayoría de las células madre. Aunque las células madre mesenquimatosas pueden considerarse relativamente privilegiadas desde el punto de vista inmunológico, la mayor parte de las demás células madre adultas, así como de las células ES (obtenidas de blastocistos fecundados), expresan moléculas de histocompatibilidad, del antígeno leucocítico humano (HLA) en humanos (v. capítulos 3 y 6), que provocan rechazo inmunitario cuando las células son trasplantadas. De ahí que se haya dedicado un notable esfuerzo a generar células con las características de las células ES a partir de células que pueden obtenerse de un paciente individual. En principio, ello permitiría que se generaran nuevos tejidos que pudieran trasplantarse sin miedo

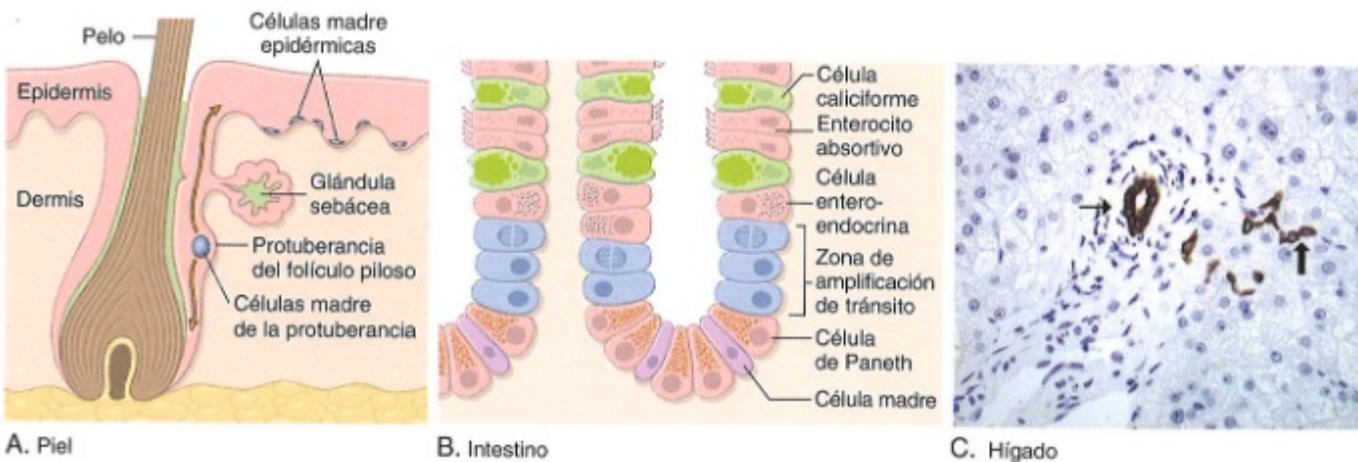


Figura 1.22 Nichos de células madre en varios tejidos. **A.** Las células madre cutáneas se localizan en el área de la protuberancia del folículo piloso, en las glándulas sebáceas y en la capa basal de la epidermis. **B.** Las células madre cilíndricas de la base de las criptas (CBC) del intestino delgado se localizan en la base de las criptas, entremezcladas con células de Paneth. **C.** Las células madre hepáticas (células ovales) se localizan en los canales de Hering (flecha gruesa), estructuras que conectan los conductillos biliares (flecha fina) con los hepatocitos del parénquima. Las células de los conductos biliares y los canales de Hering aparecen aquí destacados en una tinción inmunohistoquímica para citoqueratina 7. (**C**, por cortesía de Tania Roskams, MD, University of Leuven, Belgium.)

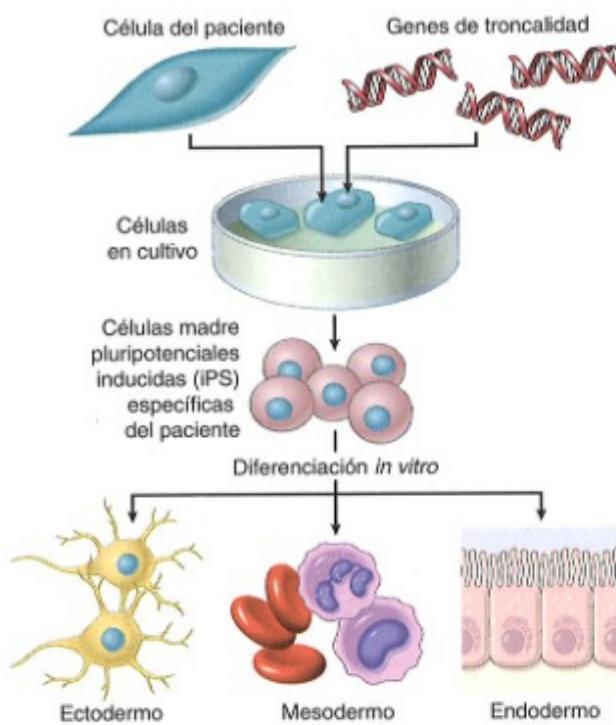


Figura 1.23 Células madre pluripotenciales inducidas (iPS). Los genes que confieren propiedades de las células madre se introducen en las células diferenciadas de un paciente, dando lugar a células madre que pueden ser inducidas para diferenciarse en varias estirpes. (Modificado de Hochedlinger K, Jaenisch R: Nuclear transplantation, embryonic stem cells, and the potential for cell therapy, *N Engl J Med* 349:275, 2003.)

al rechazo del injerto inmunológico. Para la consecución de tal objetivo, se han identificado unos pocos genes cuyos productos pueden, de manera sorprendente en cierto modo, reprogramar a las células somáticas para conseguir la «condición de células madre» de las células ES. Cuando tales genes se introducen en células completamente diferenciadas (p. ej., fibroblastos), se generan *células madre pluripotenciales inducidas (iPS)* (fig. 1.23). Aunque todavía no tiene aplicación práctica, su estirpe diferenciada podría dar lugar a notables agentes terapéuticos, por ejemplo, generar células β secretoras de insulina en un diabético.

Conclusiones. Esta revisión de temas seleccionados en el campo de la biología celular servirá como base para nuestras sucesivas exposiciones sobre patología y nos remitiremos a ella a lo largo del libro. Los estudiantes deben, no obstante, recordar que este resumen es intencionadamente breve y que se puede encontrar con facilidad más información sobre algunos de los aspectos más fascinantes aquí expuestos en otros textos dedicados a la biología celular y molecular.

LECTURAS RECOMENDADAS

Genética y epigenética

Batista PJ, Chang HY: Long noncoding RNAs: cellular address codes in development and disease, *Cell* 152:1298, 2013. [Buena revisión relativa a la biología del ARN largo no codificante.]

Cech TR, Steitz JA: The noncoding RNA revolution – trashing old rules to forge new ones, *Cell* 157:77, 2014. [Excelente revisión de las funciones desempeñadas por los ARN no codificantes.]

Meller VH, Joshi SS, Deshpande N: Modulation of chromatin by non-coding RNA, *Annu Rev Genet* 49:673, 2015. [Excelente resumen de las funciones desempeñadas por los ARN no codificantes en la organización nuclear.]

Minarovits J, Banati F, Szenthe K, et al: Epigenetic regulation, *Adv Exp Med Biol* 879:1, 2016. [Breve introducción a las vías que regulan la estructura de la cromatina y la accesibilidad a ella.]

Rowley MJ, Corces VG: The three-dimensional genome: principles and roles of long-distance interactions, *Curr Opin Cell Biol* 40:8, 2016. [Interesante análisis referido a los mecanismos a través de los cuales las conformaciones tridimensionales pueden influir en la transcripción nuclear.]

Sun Q, Hao Q, Prasanth KV: Nuclear long noncoding RNAs: key regulators of gene expression, *Trends Genet*, 2017. [Revisión actualizada del papel del ARN largo no codificante en la organización de la cromatina, así como en la expresión génica transcripcional y posttranscripcional.]

Wright AV, Nuñez JK, Doudna JA: Biology and applications of CRISPR systems: harnessing nature's toolbox for genome engineering, *Cell* 164:29, 2016. [Excelente revisión sobre la tecnología CRISPR/Cas a cargo de algunos de los investigadores que descubrieron y desarrollaron sus posibles aplicaciones.]

Mantenimiento celular

Andersson ER: The role of endocytosis in activating and regulating signal transduction, *Cell Mol Life Sci* 69:1755, 2011. [Resumen sobre la endocitosis, con especial atención a su función en la modulación de la señalización celular.]

Choi AM, Ryter SW, Levine B: Autophagy in human health and disease, *N Engl J Med* 368:651, 2013. [Magnífica revisión de los aspectos fisiológicos y fisiopatológicos de la autofagia.]

English AR, Zurek N, Voeltz GK: Peripheral ER structure and function, *Curr Opin Cell Biol* 21:596, 2009. [Resumen referido a la organización estructural y funcional del retículo endoplásmico y su relación con otros orgánulos celulares.]

Guillot C, Lecuit T: Mechanics of epithelial tissue homeostasis and morphogenesis, *Science* 340:1185, 2013. [Análisis temático sobre las interacciones celulares y la base mecánica del mantenimiento de los tejidos.]

Hetz C, Chevet E, Oakes SA: Proteostasis control by the unfolded protein response, *Nat Cell Biol* 17:829, 2015. [Mecanismos subyacentes a la edición del retículo endoplásmico y la homeostasis celular.]

Johnson DS: Establishing and transducing cell polarity: common themes and variations, *Curr Opin Cell Biol* 51:33, 2017. [Perspectiva general bien argumentada de la arquitectura intracelular que dirige y mantiene la polaridad.]

Kaur J, Debnath J: Autophagy at the crossroads of catabolism and anabolism, *Nat Rev Mol Cell Biol* 16:461, 2015. [Excelente revisión de los mecanismos y consecuencias de la autofagia celular.]

Simons K, Sampaio JL: Membrane organization and lipid rafts, *Cold Spring Harb Perspect Biol* 3:1, 2013. [Atractiva revisión de los principios generales de la arquitectura de la membrana, con especial atención a la organización de dominios.]

Wong E, Cuervo AM: Integration of clearance mechanisms: the proteasome and autophagy, *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2:1, 2010. [Resumen de las vías de degradación intracelular, con abordaje específico de la eliminación de los componentes aberrantes o anómalos.]

Metabolismo celular y función mitocondrial

Andersen JL, Kornbluth S: The tangled circuitry of metabolism and apoptosis, *Mol Cell* 49:399, 2013. [Sólida revisión de la interacción entre metabolismo, proliferación y muerte celular.]

Burke PJ: Mitochondria, bioenergetics and apoptosis in cancer, *Trends Cancer* 3:857, 2017. [Análisis bien documentado que vincula las funciones de la generación de energía mitocondrial y la muerte celular, con especial atención a las posibles aplicaciones terapéuticas contra el cáncer.]

Friedman JR, Nunnari J: Mitochondrial form and function, *Nature* 505:335, 2014. [Excelente resumen sobre la replicación mitocondrial y la respuesta a la lesión celular.]

Tait SW, Green DR: Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond, *Nat Rev Mol Cell Biol* 11:621, 2010. [Revisión de la función de las mitocondrias en las vías de muerte celular.]

Activación celular

Duronio RJ, Xiong Y: Signaling pathways that control cell proliferation, *Cold Spring Harb Perspect Biol* 5:1, 2013. [Excelente revisión general de la señalización y la proliferación celular.]

- Morrison DK: MAP kinase pathways, *Cold Spring Harb Perspect Biol* 4:1, 2012. [Revisión de las vías de señalización de las cinasas activadas por mitógenos.]
- Nusse R, Clevers H: Wnt/β-catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities, *Cell* 169:985, 2017. [Interesante resumen sobre las vías de señalización Wnt/β-catenina, con particular atención a su papel en la biología de las células madre y las neoplasias malignas.]
- Perona R: Cell signalling: growth factors and tyrosine kinase receptors, *Clin Transl Oncol* 8:77, 2011. [Revisión de las vías de señalización, con especial hincapié en su desregulación en las neoplasias malignas.]
- Mantenimiento de poblaciones celulares**
- Alvarado AS, Yamanaka S: Rethinking differentiation: stem cells, regeneration, and plasticity, *Cell* 157:110, 2014. [Magnífica revisión de los conceptos fundamentales de la biología de las células madre.]
- Blau HM, Daley GQ: Stem cells in the treatment of disease, *N Engl J Med* 380:1748, 2019. [Excelente revisión de la biología de las células madre y su potencial terapéutico.]
- De Los Angeles A, Ferrari F, Xi R, et al: Hallmarks of pluripotency, *Nature* 525:469, 2015. [Excelente resumen sobre las células madre pluripotenciales y sobre las vías moleculares de su capacidad de renovación y diferenciación.]
- Fuchs E, Chen T: A matter of life and death: self-renewal in stem cells, *EMBO Rep* 14:39, 2013. [Revisión erudita del marco conceptual y las bases experimentales de nuestro conocimiento sobre la renovación de las células madre, utilizando las células madre cutáneas como paradigma.]
- Jang S, Collin del Hortet A, Soto-Gutierrez A: Induced pluripotent stem cell-derived endothelial cells: overview, current advances, applications, and future directions, *Am J Pathol* 189:502, 2019. [Revisión centrada en las aplicaciones de las células madre endoteliales derivadas de células inducidas.]
- Martello G, Smith A: The nature of embryonic stem cells, *Annu Rev Cell Dev Biol* 30:647, 2014. [Buen resumen general de la plasticidad y la troncalidad celulares.]
- Scadden DT: Nice neighborhood: emerging concepts of the stem cell niche, *Cell* 157:41, 2014. [Trabajo bien fundamentado que describe la función del nicho en la biología de las células madre.]
- Wu J, Izpisua Belmonte JC: Stem cells: a renaissance in human biology research, *Cell* 165:1572, 2016. [Revisión de alto nivel de las oportunidades que ofrecen las nuevas tecnologías y los nuevos planteamientos de la biología de las células madre, para mejorar los conocimientos sobre el desarrollo humano y la enfermedad.]

