

MUERTE CELULAR PROGRAMADA

Dulce María Delgadillo

Dulce María Delgadillo (ciudad de México, 1965) es licenciada en biología por la UNAM, maestra en ciencias del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav) del IPN y doctora en ciencias por el Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada (Cicata) del IPN.

El cuerpo humano está conformado por miles de células, cada una con un programa genético definido que les permite trabajar sincrónicamente para regular los procesos metabólicos y fisiológicos requeridos por el organismo. Todas las células mueren (de manera no accidental), porque envejecen o porque están programadas para hacerlo. Pero ¿cómo puede estar programada una célula para morir? La primera observación de que existía un programa de muerte celular la realizó Vogt en 1842, al estudiar la morfogénesis de los anfibios. Después se encontró que este tipo de muerte también ocurría en tejidos en desarrollo tanto de vertebrados como de invertebrados. Así, el término de muerte celular programada (MCP) se empleó, en un principio, para describir el fenómeno de la muerte de células en sitios y tiempos específicos durante el desarrollo de los organismos.

El redescubrimiento de la MCP, también llamado suicidio celular, se realizó en la segunda mitad del siglo XX, encontrándose que podía suceder tanto en el desarrollo embriológico de los organismos multicelulares como en la etapa adulta de los mismos para mantener la homeostasis celular. En 1972 Kerr, Wyllie y Curie propusieron el término apoptosis para denominar a la MCP y diferenciarla de la

muerte celular patológica o necrosis. Una de las diferencias entre ambos fenómenos es que en la apoptosis existe un orden en el proceso de eliminación celular desencadenado por diversas causas, como la falta de factores de crecimiento o, a nivel molecular, por el encendido de genes específicos. Estos eventos se van sucediendo sin la propagación del mecanismo de muerte hacia células contiguas que estén fuera del programa apoptótico. Incluso se ha observado la muerte de sólo unas cuantas células en toda una sección de tejido. En la necrosis, en cambio, existe un daño celular generalizado debido a la acción de una proteína denominada factor alfa de necrosis tumoral o TNF-a. Este factor es secretado por los leucocitos o células blancas de la sangre durante la inflama-

ción y eliminación de tejidos dañados. El TNF-a es reconocido por las células a través de una proteína receptora localizada en la membrana celular. Dado que muchas células tienen en su membrana moléculas receptoras al TNF-a, éste es reconocido tanto por las células dañadas como por las sanas, lo que explica que en el proceso necrótico haya cierto grado de desorden.

Ahora bien, si el ciclo celular se realiza bajo un control finamente regulado, no es difícil pensar que cualquier alteración desencadene procesos que lleven a las células hacia su muerte o a una proliferación desmesurada. Todas las células están reguladas a través de un ciclo que comprende cuatro

fases: síntesis de DNA (fase S), crecimiento celular (fases G1 y G2) y división celular o mitosis (fase M). Las células requieren también algún tipo de metabolito producido por otras células y que funciona como un estímulo continuo para su crecimiento y desarrollo, promoviendo en algunos casos su adhesión a la superficie en la que crecen. De manera que la sobrevivencia celular depende del balance entre la recepción de señales positivas y negativas en el entramado de la comunicación celular y el medio circundante.

Ejemplos de señales positivas son la interleucina 2, un factor esencial en la proliferación de los linfocitos durante procesos infecciosos; y los factores de crecimiento, que todas las células necesitan para crecer. Entre las señales negativas se encuentran moléculas que se unen a receptores específicos en la superficie de la célula y le indican a ésta el inicio del programa de apoptosis. Las moléculas mejor conocidas como activadores de muerte son el TNF-a, las linfoxinas y el ligando de Fas.



Y si las células están programadas para morir, ¿cómo se inicia la MCP? En general, existen dos mecanismos por los que una célula entra en apoptosis: uno generado por señales provenientes del interior celular y otro inducido por los factores de muerte que son reconocidos por las células. En el primero —la mayoría de las veces— el comienzo del programa apoptótico involucra la liberación de proteínas de las mitocondrias al citoplasma y núcleo celular. Tal es el caso del factor inductor de apoptosis (AIP), que es translocado hacia el núcleo de la célula y, una vez en él, participa en la condensación nuclear de una manera aún desconocida. Otras moléculas son el citocromo c y el factor Apaf-1, que conducen a la activación de proteínas conocidas como caspasas. Estas moléculas, a su vez, degradan sustratos específicos e inducen la activación de nucleasas que fragmentan el DNA internucleosomal. La caspasa 8 o la caspasa 10 activan en cascada a otras caspasas, algunas de las cuales son proteínas efectoras, como las caspasas 3 y 6, responsables de la inactivación o degradación de proteínas clave en diversos procesos biológicos, como: i) La inactivación de enzimas como la poli-ADP-ribosa polimerasa o PARP, cuya función es reparar las cadenas de DNA dañadas; ii) La inactivación de la DNA topoisomerasa II, esencial para la replicación del DNA y su reparación; iii) La desestabilización y degradación de proteínas estructurales como las lamininas, cuya función es mantener la forma del núcleo y mediar las interacciones entre la cromatina y la membrana nuclear, y iv) La fragmentación del DNA en unidades nucleosomales causada por una DNasa.

Por otro lado, las señales provenientes de los factores de muerte involucran proteínas integrales de la membrana plasmática, como los receptores del ligando de Fas y TNF- α . Estas proteínas se unen a sus activadores complementarios de muerte (el ligando de Fas y TNF- α , respectivamente) y promueven la transmisión de señales hacia el interior de la célula. En este proceso conocido como señalización participan varias moléculas (ATPasas, fosfatasas, etcétera) que pueden activar la cascada de caspasas. La coordinación de los mecanismos de mitosis y de apoptosis asegura que las células proliferen sólo cuando existe un balance entre ellos por efecto de los factores y estímulos a los que están expuestas las células para el mantenimiento del ciclo celular, la diferenciación celular, la viabilidad de la célula y la MCP.

Aspectos fisiológicos y moleculares de la apoptosis

Las células apoptóticas presentan cambios notables en su estructura. En su núcleo la cromatina se condensa y hay



fragmentación nuclear y citoplásmica, visualizada al microscopio como cuerpos densos que son rápidamente degradados. Pero el cambio morfológico más evidente es la reducción de su volumen.

Durante la necrosis las células tienden a ganar volumen por una pérdida de energía y de integridad en su membrana plasmática, permitiendo el movimiento de iones (en su mayoría de sodio) y agua hacia su interior. En la apoptosis los niveles de energía en el interior celular se mantienen elevados y las células retienen la integridad de su membrana hasta una etapa tardía del proceso de MCP, después se contraen y son eliminadas. El mecanismo que lleva a la pérdida de volumen en las células apoptóticas no se conoce. Sin embargo, al parecer los cambios en el volumen pueden tener un efecto en el metabolismo celular o en la expresión específica de genes reguladores. Asimismo, al contraerse las células en apoptosis regularmente modifican la estructura de su membrana, ya que los fosfolípidos, como la fosfatidilserina, que normalmente se encuentran ocultos en el interior de la membrana, quedan expuestos en la superficie de la misma, dando un aspecto de holán que rodea a la célula. Las células fagocíticas del sistema inmune, como los macrófagos y las células dendríticas, pueden reconocer a estos fosfolípidos a través de sus receptores e iniciar la eliminación celular. Estas células fagocíticas además secretan algunas citocinas que inhiben la inflamación durante el proceso apoptótico.

A nivel molecular existen proteínas clave en los mecanismos que controlan el ciclo celular, la proliferación y la muerte de las células. Las células que presentan daños en su genoma causados por la interrupción del desarrollo embrionario, o bien, células transformadas (que pierden el control de la división), responden con un incremento en la producción de una proteína conocida como p53. Esta molécula es un po-

tente inductor de la apoptosis, de hecho las células cancerosas presentan mutaciones en el gen que codifica para p53, por lo que la proteína que se produce no es funcional. Por éstas y otras observaciones la apoptosis constituye uno de los puntos más interesantes en la investigación sobre las bases moleculares que controlan la transformación celular y que desencadenan cuadros cancerosos. El objetivo de muchos medicamentos anticancerígenos y tratamientos con radiación es inducir apoptosis en las células transformadas, lo que sólo se ha logrado en algunos tipos de cáncer.

Por otro lado, el control de la proliferación celular radica en dos aspectos: la activación y la regulación en la expresión de genes llamados protooncogenes, cuyos productos regulan el ciclo celular; y la simultánea inhibición en su expresión por genes que codifican para proteínas supresoras de tumores, que son los que evitan la multiplicación celular anormal. El aislamiento y la clonación de protooncogenes, como Bcl2, p38, p53, c-Myc, c-Fos, c-Jun, etcétera, ha permitido observar la participación específica de cada uno de ellos en el fenómeno apoptótico. Los protooncogenes existen normalmente en todas las células, pero cuando se alteran por una mutación o por la ausencia de algún factor de crecimiento pueden aumentar o apagar su expresión. Esto da como resultado la desregulación del ciclo celular, ya que las proteínas producidas por los genes alterados actúan como promotores o inductores del proceso de proliferación celular anormal, que puede terminar en un cuadro canceroso. En estas condiciones los protooncogenes son llamados oncogenes.

De la proteína p38 no se ha definido totalmente su función, pero se sabe que su expresión se induce en muchos tipos celulares tratados con agentes tóxicos. Esta molécula puede funcionar en dos direcciones: por un lado, al activarse participa en la señalización y ejecución de eventos apoptóticos; mientras que en otra dirección puede tener como objetivo iniciar mecanismos de defensa para mantener la homeostasis celular mediante la activación de algunos mitógenos (moléculas que promueven la división celular). Por otro lado, la proteína supresora de tumores p53 puede participar inhibiendo la división descontrolada de células que presentan algún daño en su genoma, deteniéndolas en la fase G1 del ciclo celular. Esta proteína presenta una función dual en la célula. Por un lado, regula la entrada de la célula a la apoptosis; y por otro participa en la supresión de la transformación celular.

Cuando p53 se elimina experimentalmente de las células de un ratón, por ejemplo, el animal desarrolla un tumor. La restitución de la función de p53 por lo regular hace que las células tumorales detengan su crecimiento excesivo o que mueran por apoptosis; p53 también está involucrada en la desregulación de la expresión de la proteína Bcl2, que es clave en el control del ciclo celular. La sobreexpresión de Bcl2 contribuye a la generación de tumores, ya que inhibe la apoptosis en muchos tipos celulares en respuesta a estímulos, como los elevados niveles de expresión de oncogenes como c-Myc. Casi la mitad de los casos de cáncer en los humanos se relacionan con la pérdida de la función normal de la proteína p53.

Participación de la apoptosis en el desarrollo animal

Con lo descrito hasta el momento, la importancia de la MCP en el desarrollo de los organismos multicelulares puede inferirse al considerarla como una forma activa de muerte celular para mantener la homeostasis a través de un proceso dinámico en el que se requiere de la síntesis de macromoléculas. Esto ha sido demostrado en estudios relacionados con la metamorfosis de anfibios e insectos al obstruir el proceso apoptótico mediante la inhibición de la síntesis de RNA y proteínas con bloqueadores específicos. La apoptosis es un fenómeno biológico necesario para el desarrollo y la sobrevivencia de los organismos y, en general, participa en cinco procesos importantes:

1) Esculpido de estructuras. Durante el desarrollo embrionario la apoptosis se presenta en la morfogénesis para ayudar a organizar los órganos y tejidos así como para modelarlos y darles su forma característica a través de la muerte específica y directa de ciertas células. Esto es, como si los órganos fueran tallados o esculpidos. Un ejemplo claro y simple de esto es la formación de los dedos de los vertebrados. La separación de los dígitos es el resultado de la muerte de las células localizadas en los espacios interdigitales.

2) Eliminación de estructuras innecesarias. En el curso del desarrollo animal varias de las estructuras formadas son eliminadas mediante apoptosis. Esto incluye estructuras vestigiales que pudieron haber sido requeridas por una especie ancestral, pero no por sus descendientes, o bien que son necesarias en un estado de desarrollo, pero no en otro. Ejemplos de esto son la reabsorción de la cola de los renacuajos en su metamorfosis hacia ranas; la eliminación del ducto Mulleriano que forman el útero y los oviductos

en las hembras de mamíferos y que no son necesarios en machos o, inversamente, la eliminación del ducto Wolffian que forma los vasos deferentes, el epidídimo y la vesícula seminal en machos, pero que las hembras no necesitan.

3) Control y ajuste del número celular. En muchos organismos hay una sobreproducción de ciertos tipos celulares, parte de los cuales son eventualmente eliminados por apoptosis. Por ejemplo, en el sistema nervioso de los vertebrados tanto las neuronas como los oligodendrocitos son generados en exceso y más de la mitad de ellos son eliminados aparentemente para ajustar su número a la cantidad de células blanco que inervan o al número de axones que mielinizan. Esto da como resultado conexiones sinápticas adecuadas.

4) Eliminación de células anormales, fuera de lugar, no funcionales o que pueden dañar al resto del organismo. Un ejemplo claro está dado en el sistema inmune de vertebrados, por la destrucción de linfocitos T que fallan en la producción de receptores antígeno-específicos potencialmente útiles o que producen receptores autorreactivos que pueden llegar a promover el desarrollo de enfermedades autoinmunes, como el lupus eritematoso o la artritis reumatoide. Otro ejemplo es la eliminación de la capa interna del útero (endometrio) en el inicio de la menstruación.

5) Inducción de diferenciación en células con pocas estructuras organelares. Ciertos tipos celulares, entre los que se incluyen los queratinocitos de la piel, células epiteliales del cristalino del ojo y eritrocitos o células rojas de la sangre de mamíferos, pierden sus núcleos y otros organelos en un proceso de diferenciación terminal. Las células diferenciadas del cristalino y los eritrocitos continúan su ciclo de vida en el sentido de que su metabolismo prosigue mientras que los queratinocitos mueren y forman la capa escamosa de la piel. Se postula que éstas pueden ser formas modificadas del proceso de MCP.

Apoptosis en procesos patológicos

Además de ser un mecanismo normal de eliminación celular, la apoptosis se ha observado también en trastornos patológicos. Durante el curso de una enfermedad infecciosa, por ejemplo las causadas por virus y parásitos, la respuesta inmune montada por el organismo afectado responde con la activación de linfocitos T citotóxicos que inducen la muerte de las células dañadas o infectadas a través de la inducción de apoptosis mediada por Fas y su ligando, o bien por

gramzimas, que son proteínas que activan la cascada caspasas. Sin embargo, en enfermedades como el cáncer y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida), la apoptosis puede inhibirse por varios mecanismos, por ejemplo: i) En algunos tipos de cáncer causado por virus, como el cáncer cervical (ocasionado por el virus del papiloma humano o HPV) o el linfoma de Burkitt (provocado por el virus de Epstein-Barr o EBV), se ha observado que las células infectadas por el virus no entran en apoptosis y se reproducen de manera desproporcionada. Pero ¿cómo hacen esto? HPV produce una proteína que se une al promotor del gen de p53 e inhibe su expresión. EBV produce una molécula similar a Bcl-2 y por mimetismo molecular bloquea la recepción de señales apoptóticas. ii) Cuando el cáncer no es de origen viral, como en algunas leucemias de células B o en el melanoma, las células también pueden expresar altos niveles de Bcl-2, o bien inhiben la expresión de genes como el que codifica para Apaf-1. Por otro lado, en el cáncer de pulmón y de colon se ha observado que las células secretan altas cantidades de moléculas solubles que se unen al ligando de Fas impidiendo su unión a Fas. iii) En el sida, la enfermedad es causada por el virus HIV y los pacientes infectados presentan bajos niveles de linfocitos T citotóxicos o células T-CD4+. Dada la importancia de estas células para montar una respuesta inmune efectiva contra el virus y otros agentes patógenos, la disminución en su población provoca que los pacientes tengan infecciones recurrentes. El HIV infecta a las células T y, una vez dentro de ellas, expresa un gen denominado Nef cuyo producto induce la expresión de altos niveles del ligando de Fas en la superficie celular. De una manera aún desconocida, la célula infectada previene la interacción con su propio Fas evitando su autodestrucción, pero promueve la interacción de esta molécula con Fas de las células sanas, induciendo así la muerte por apoptosis de estas últimas.

Lo antes descrito nos muestra que la MCP representa uno de los polos en la homeostasis celular y que su control preciso contribuye para evitar la proliferación anormal de las células. El estudio detallado de los mecanismos y factores que participan, regulan y determinan la apoptosis, puede ayudar a entender procesos evolutivos y a desarrollar nuevas formas de terapia para el control de enfermedades y comprender por qué este tipo de muerte da soporte a la vida. Es decir, estaríamos frente a la posibilidad de manejar la muerte para mejorar la vida. •