

CAPÍTULO 7.

CITOESQUELETO Y MOVIMIENTO CELULAR

La célula tiene una estructura muy compleja que le permite realizar las innumerables funciones que aún no se acaban de describir y otras que ni siquiera se pueden imaginar. Las estructuras internas tan diversas le permiten a la célula cumplir todos sus procesos de la vida de una manera organizada que rebasa cualquier concepto de ingeniería inventado por el hombre. La complejidad de su estructura no viene únicamente de su organización en un momento determinado sino también del dinamismo con que la célula cambia y se adapta en poco tiempo a sus necesidades.

En este capítulo se describen las estructuras que forman “el esqueleto” de la célula animal en su forma estática y en su forma dinámica, y los movimientos celulares que implican necesariamente los elementos del citoesqueleto. Las células vegetales tienen una pared externa que rodea a la membrana plasmática que sirve entre otras funciones como un “exoesqueleto”, que no se describe aquí. Aunque en las células germinales vegetales se expresan algunos filamentos del citoesqueleto implicados en la organización y formación de la pared celular.

El citoplasma de una célula animal está organizado por una red de filamentos de naturaleza proteica conocida como **citoesqueleto**. Estos filamentos son de tres tipos de acuerdo a su diámetro: los **filamentos de actina** de 6 nm, los **filamentos intermedios** de 10 nm y los **microtúbulos** de 25 nm (Fig. 7.1). Estos tres tipos de filamentos están constituidos por miles de monómeros idénticos que se polimerizan, ensamblándose en estructuras lineales o filamentos. Los filamentos tienen una estructura muy dinámica, porque pueden polimerizar o despolimerizarse. La longitud de cada filamento varía en una célula y de una célula a otra dependiendo de sus necesidades. Esta dinámica de los filamentos está bajo el control de otras proteínas que determinan la estabilidad o la desorganización de ellos. Por otro lado, existen otras proteínas que intervienen en la interacción entre los filamentos y con los otros componentes celulares, implicándose así en la organización y el funcionamiento de los constituyentes del citoesqueleto con los diferentes elementos celulares.

Cada uno de los filamentos forma un almacén interno de vigas dinámicas a lo largo de todo el volumen citoplasmático (Fig. 7.1) y cumplen múltiples funciones:

1. Dan sostén interno, como un “esqueleto”, a las células y a sus diferentes constituyentes, como un soporte mecánico pero no rígido que mantiene la integridad celular.
2. Determinan las diferentes formas celulares, el posicionamiento de las células en los tejidos y la polaridad celular.
3. Permiten los movimientos y el transporte de los organelos y de las moléculas intracelulares, siendo los carriles del transporte interno celular.
4. Intervienen en los procesos de endocitosis y de exocitosis, en la interacción entre las células y de las células con la matriz extracelular.
5. Están implicados directamente en la mitosis, la citocinesis y la formación de extensiones e invaginaciones celulares.
6. Son los actores esenciales de la contracción muscular y del movimiento de las células no musculares.

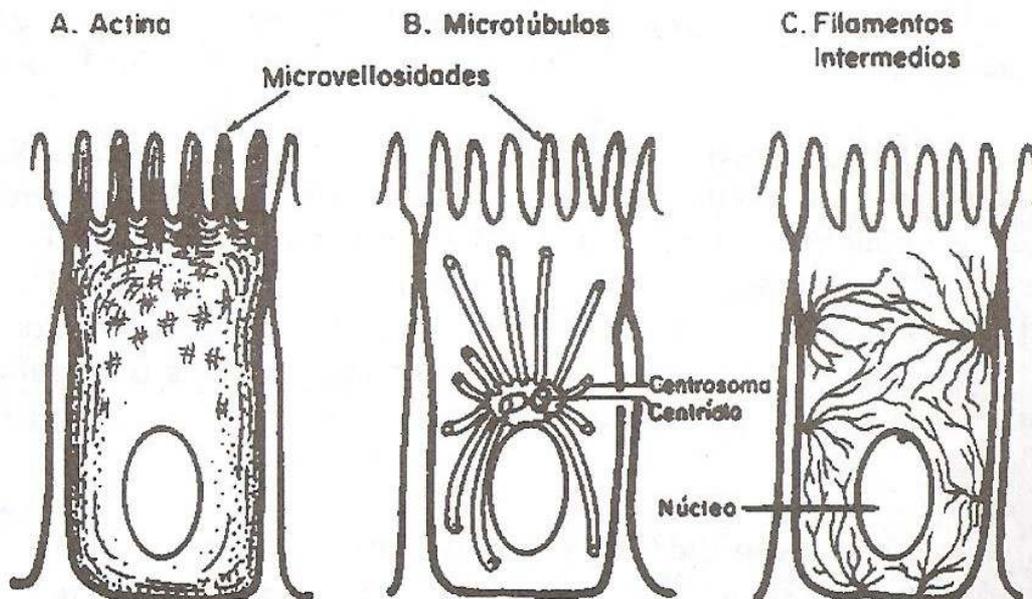


Figura 7.1. Esquema de la distribución de las tres clases de filamentos del citoesqueleto en una célula polarizada.

7.1. FILAMENTOS DE ACTINA

7.1.1. Estructura del filamento

Los filamentos de actina están presentes en todas las células eucarióticas animales y representan entre el 2% y el 5% de sus proteínas; en las células musculares

alcanzan un 15%. El filamento de actina está constituido por la polimerización de una proteína globular de 42 kD, llamada **actina-G** (Fig. 7.2 A). El filamento de actina se denomina también **actina-F** (Fig. 7.2 C) para diferenciarlo de su monómero o actina-G. La actina-F es una doble hélice de torsión α , tiene un diámetro en promedio de 6 nm y presenta un nudo cada 7 dímeros de actina-G. La distancia entre los nudos es de 37 nm aproximadamente.

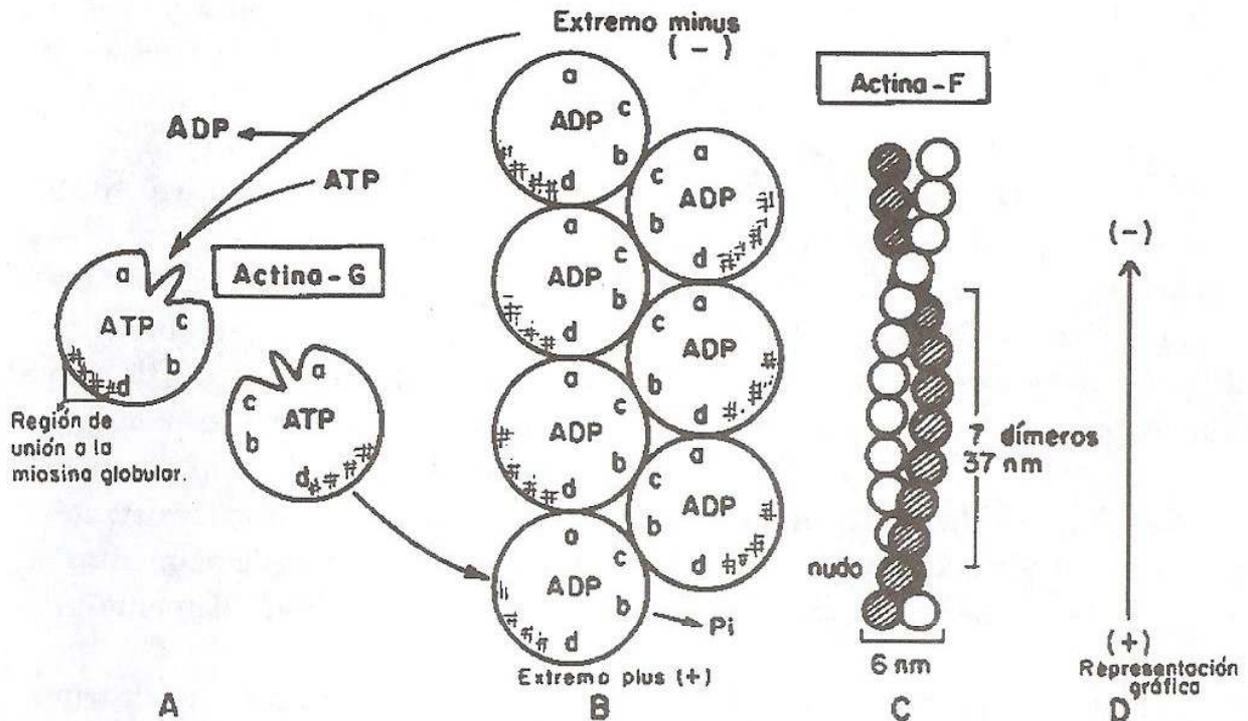


Figura 7.2. Esquema de la actina-G y de la actina-F.

- Actina-G, con sus sitios de unión (a, b, c, d) a otras actinas G y a la miosina (###).
- Polimerización en el extremo *plus* (+) y despolimerización en el extremo *minus* (-) de la actina-G para conformar la actina-F o *treadmilling* de la actina.
- Organización de la doble hélice de torsión- α de la actina-F o filamento de actina.
- Representación gráfica de un filamento de actina.

La molécula de actina-G está unida a una molécula de ATP, tiene una región de unión a la miosina (Fig. 7.2 A ###) y cuatro sitios de unión específicos (Fig. 7.2 A a, b, c y d) a otras cuatro actinas-G diferentes en el filamento (Fig. 7.2 B). Durante la polimerización de la doble hélice, la actina-G hidroliza su ATP y cambia su conformación para poder unirse al filamento por el extremo *plus* (Fig. 7.2 B). El sitio a de la actina-G reacciona con el sitio d de otra actina-G y el sitio b con el sitio c de otra actina-G (Fig. 7.2 B), dejando siempre los sitios a, b, c y d en el interior del filamento y hacia el exterior quedan siempre expuestas las mismas regiones de la actina-G en el filamento, es decir, las regiones de unión a la miosina hacia el exterior y orientadas hacia el extremo *plus* (Fig. 7.2 B ###). En general,

los filamentos de actina están constantemente polimerizándose en un extremo, denominado extremo *plus*, y despolimerizándose en el extremo *minus* (Fig. 7.2 B), dándole al filamento una polaridad determinada por sus extremos. Esta polarización reforzada por la orientación de las regiones de unión a la miosina, dirigidas hacia el extremo *plus* del filamento, lo que permite que la actina-F se represente gráficamente como una flecha (Fig. 7.2 D).

Durante la despolimerización del filamento de actina se libera la actina-G del extremo *minus* (Fig. 7.2 B) y, al mismo tiempo, se separa de su ADP y se asocia de nuevo al ATP, adquiriendo su conformación de actina-G activa (Fig. 7.2 A) para polimerizarse eventualmente otra vez.

En los años 60 se describieron los procesos continuos de polimerización de los filamentos de actina con actina-G radiomarcada; esto es, el desplazamiento (“movimiento”) de la actina-G radiomarcada a través del filamento de actina hasta su despolimerización. Estos procesos de polimerización, deslizamiento y despolimerización de la actina-G que ocurren a lo largo de cada filamento de actina son denominados actualmente *treadmilling*. Además de ese proceso de *treadmilling*, se han descrito otros dos modelos de elongación del filamento de actina: el modelo *treadmilling* se refiere a la polimerización normal de un filamento preexistente; y el modelo dendrítico corresponde a la neoformación ramificada de filamentos de actina de pequeñas longitudes como prolongaciones de un sólo filamento preexistente.

La longitud y la organización de los filamentos de actina, así como su distribución y sus funciones, están bajo el control de las proteínas asociadas a la actina (ABP o *actin-binding proteins*) que se describen a continuación.

7.1.2. Organización y función en la célula

7.1.2.1. Determinación de la forma celular

Generalmente se pueden distinguir dos zonas diferentes en la célula en función de la distribución de los filamentos de actina: la primera zona es la corteza celular (Fig. 7.3 A) que corresponde a la región periférica, inmediatamente debajo de la membrana plasmática; la segunda es el resto del citoplasma que se denomina red *gel-sol* (Fig. 7.3 D).

En la **corteza celular** los filamentos de actina forman paquetes paralelos a la membrana plasmática con la intervención de las ABP (Tabla 7.1), dando a la membrana un soporte elástico (Fig. 7.3 A). Estos paquetes están organizados con polaridades contrarias por la α -actinina y a una distancia de 40 nm los unos de los otros (Fig. 7.3 A). La α -actinina es una proteína que forma un dímero que contiene

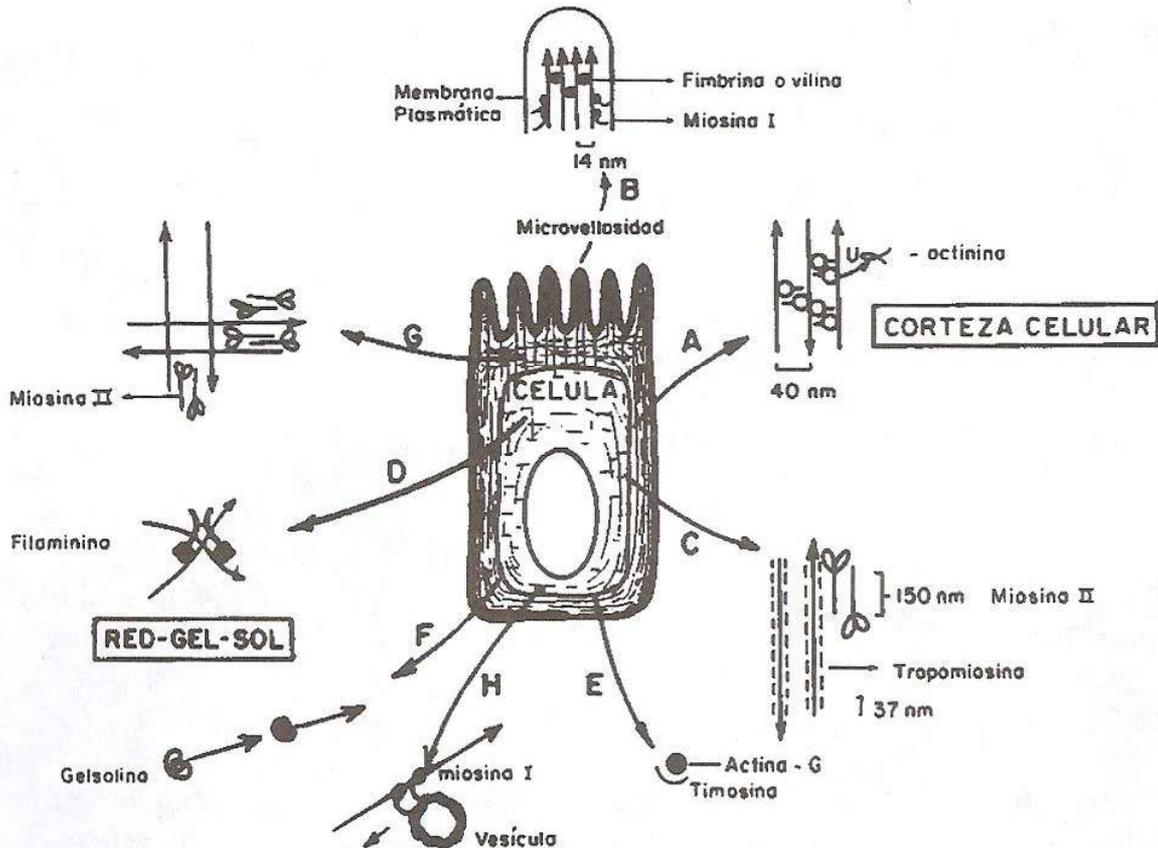


Figura 7.3. Distribución de los filamentos de actina en una célula animal.

Alrededor de la célula se esquematiza la organización de los filamentos de actina por las proteínas asociadas a la actina (ABP).

A. La α -actinina forma paquetes de actina-F paralelos a la membrana conformando la corteza celular.

B. La vilina o la fimbrina forman paquetes más compactos en las microvellosidades. La miosina I relaciona los filamentos a la membrana plasmática.

C. La tropomiosina se une a la actina-F y se localiza entre dos nudos.

D. La filaminina une dos filamentos entrecruzados para formar la red de actina del citosol.

E. La timosina se une a la actina-G e impide su polimerización.

F. La gelsolina fracciona los filamentos de actina y se une al extremo *plus* impidiendo su polimerización.

G. La miosina II relaciona los filamentos de actina de polaridades opuestas para promover el deslizamiento de los filamentos de actina sobre la miosina.

H. La miosina I se desliza sobre los filamentos de actina transportando vesículas o moléculas (Spinel & Yildiz, 1995).

los sitios de unión a la actina en sentidos opuestos, originando así la organización antiparalela de los filamentos de actina. Además, estos paquetes antiparalelos de la corteza celular son estabilizados por la **tropomiosina** (Fig. 7.3 C), una proteína fibrosa de 37 nm de longitud. La tropomiosina estabiliza los paquetes antiparalelos impidiendo la polimerización y la despolimerización continua de los filamentos de actina.

Tabla 7.1. Proteínas asociadas a la actina (ABP).

ABP	Función
Proteínas que intervienen en la organización de los filamentos de actina:	
α -actinina	Forma paquetes de filamentos de actina de polaridad opuesta.
Fimbrina	Forma paquetes de filamentos de actina con la misma polaridad.
Filaminina	Forma una red de filamentos de actina.
Tropomiosina	Estabiliza los filamentos de actina.
Capping Proteins	Estabilizan el extremo <i>minus</i> de los filamentos.
Proteínas motoras de la actina:	
Miosina I	Hidroliza ATP para deslizarse sobre el filamento de actina.
Miosina II	Hidroliza ATP para el deslizamiento del sistema actinmiosina.
Proteínas que controlan la polimerización y la despolimerización:	
Timosina, profilina	Inhiben la polimerización de la actina-G en células no musculares.
Cofilina	Inhibe la polimerización de la actina-G durante la miogénesis.
Gelsolina, Severina	Fragmenta la actina-F en presencia de iones de calcio.
Vilina	Se une a la actina-G en presencia de iones de calcio.

Cuando la corteza celular necesita más rigidez, como en las microvellosidades, los filamentos de actina forman paquetes más densos y paralelos los unos a los otros con la polaridad orientada hacia la misma dirección, siendo la distancia entre ellos de 14 nm. Esta organización que da más rigidez a los filamentos de actina se realiza por la interacción de la **fimbrina** (Fig. 7.3 B), una proteína globular que se une directamente a dos filamentos de actina.

Debajo de la corteza celular, en el resto del citosol, la organización de los filamentos de actina es diferente. Efectivamente, en lugar de formar paquetes de filamentos paralelos como en la corteza, forman una malla que se denomina **red gel-sol** (Fig. 7.3 D). Esta red puede ser muy laxa y contener pocas fibras dando como resultado un citosol muy fluido, denominado estado *sol*. Pero si aumenta la densidad de filamentos de actina, el citosol se vuelve menos fluido o altamente viscoso, y se le denomina estado *gel*. El paso de *sol* a *gel* o viceversa es determinado por las necesidades de la célula. La red *gel-sol* es estabilizada por la **filaminina**, una proteína fibrilar que forma dímeros que se encuentran asociados a los entrecruzamientos de la red de los filamentos de actina (Fig. 7.3 D). Los filamentos de actina, además de servir de soporte para la célula, sirven de carriles a través de los cuales las proteínas motoras de la actina desplazan moléculas y vesículas de endocitosis y exocitosis en la corteza celular (Ver 7.1.2.2).

Las diferentes modificaciones que presenta la membrana plasmática, como la invaginación para formar las vesículas de endocitosis, la fusión de las vesículas de exocitosis, la formación de prolongaciones hacia el exterior de la membrana y la formación de pseudópodos, están bajo el control y soporte de la corteza celular. Si se impide la formación de filamentos de actina por la citocalasina se inhibe la endocitosis y la exocitosis.

7.1.2.2. Proteínas motoras de la actina

Las proteínas motoras de la actina hidrolizan ATP, generan fuerza mecánica para desplazar moléculas o vesículas sobre los filamentos de actina (Fig. 7.3 H) y realizan el deslizamiento del sistema actino-miosina (Fig. 7.3 G y Fig. 7.5 B). Las proteínas motoras de la actina conforman dos familias llamadas miosinas I y II.

La familia de **miosinas II** es la mejor conocida debido a su presencia en el sarcómero del músculo estriado. Típicamente, la miosina II está constituida por dos cadenas pesadas idénticas de aproximadamente 2.000 aas, dos cadenas ligeras de 170 y otras dos cadenas ligeras de 190 aas (Fig. 7.4). Su estructura es asimétrica: la gran parte de las dos cadenas pesadas tienen estructura de α -hélice y se entrelazan para formar el tallo hidrófobo de 2 nm de diámetro y 150 nm de longitud. Los dos extremos amino terminales de las cadenas pesadas con las ligeras forman las dos cabezas motoras de la miosina II, ya que allí se encuentra la actividad ATPásica. Una molécula de cada tipo de cadena ligera se asocia a cada cabeza motora. En las cabezas también se encuentra el sitio de unión de las miosinas a la actina. La miosina II puede homologarse a un brazo humano que presenta dos articulaciones, una en el centro del tallo y la otra entre el tallo y la cabeza motora. Las cadenas ligeras controlan la función de la miosina II: en reposo la miosina se pliega por la articulación del tallo, pero en presencia de iones Ca^{++} la miosina quinasa fosforila las cadenas ligeras y la miosina II adquiere su aspecto filamentoso para hidrolizar el ATP y, además, forma dímeros para unirse a la actina. El dímero de miosina II, hidrolizando el ATP, se une a los filamentos de actina con polaridad opuesta y produce el deslizamiento relativo del sistema actinomiosina, y luego se libera de la actina cuando se une de nuevo a otra molécula de ATP.

El tallo de la miosina II se dimeriza por las regiones carboxi terminal de α -hélice hasta la primera articulación, formando en las células no musculares los filamentos bipolares (Fig. 7.3 C y G). Estos dímeros se localizan entre los paquetes de filamentos de actina de las microvellosidades y los filamentos de la corteza celular, permitiendo una cierta flexibilidad de las dos estructuras y, también, entre los paquetes de la corteza celular.

En el músculo estriado la miosina II se polimeriza (200 a 500 moléculas) formando los gruesos filamentos de 16 nm de diámetro del sarcómero (Fig. 7.5 B y D), cuya función se describirá después.

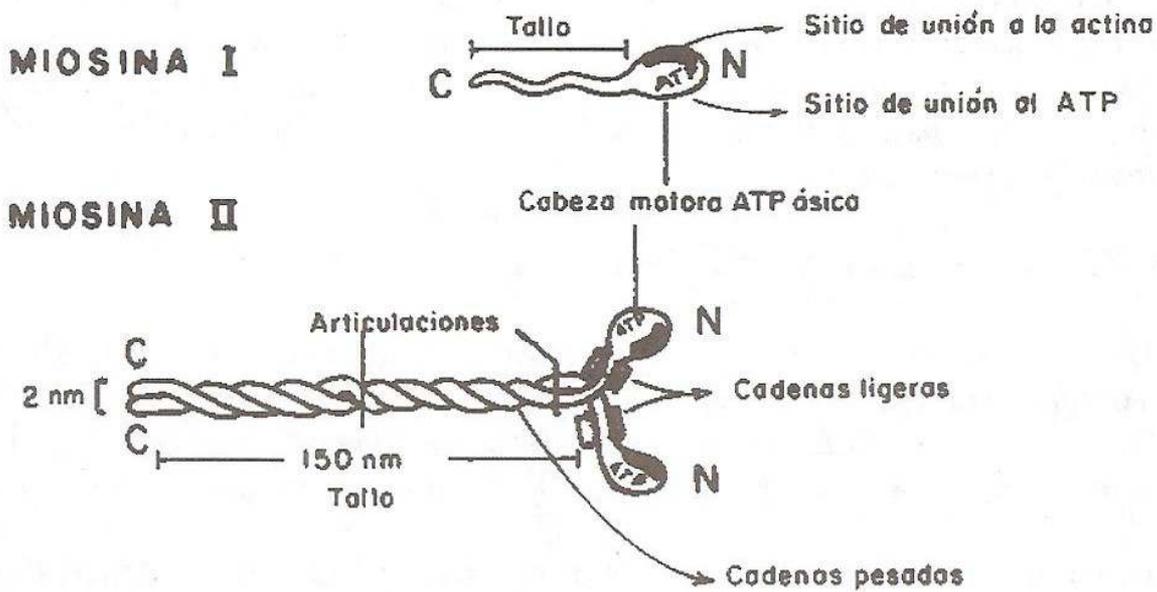


Figura 7.4. Estructura de las miosinas I y -II (Alberts y col., 1994).

C: región carboxi terminal de las miosinas; N: región amino terminal; Articulaciones: indican la articulación del tallo y la articulación entre el tallo y la cabeza motora.

Las **miosinas I** conforman 7 familias pero están menos caracterizadas que las miosinas II. Son proteínas más pequeñas no forman dímeros como las miosinas II (Fig. 7.4), y tienen en común la cabeza motora ATPásica y un tallo mucho más corto. La especificidad de la función de cada miosina I está determinada por la composición del tallo. Este tallo puede unirse a diferentes estructuras como la membrana plasmática, las moléculas, las vesículas de exocitosis o de endocitosis, incluso a otro filamento de actina. La miosina I también relaciona la membrana plasmática con los paquetes de filamentos de actina de la corteza celular y de las microvellosidades (Fig. 7.3 B). Existen diferentes miosinas I en una misma célula y sus combinaciones varían de un tipo celular a otro.

La distribución de paquetes y redes de actina se refuerza por la cooperación con las ABP. Por ejemplo, la tropomiosina, cuando está unida a la actina impide la unión de la filaminina a la actina; de la misma manera, la filaminina impide la unión de la tropomiosina a la actina. La tropomiosina, además de estabilizar los filamentos de actina, coopera también con la α -actinina y las miosinas I y II en las diferentes funciones de la corteza celular. Todas estas interacciones complejas permiten variar la forma de la membrana celular sin que se altere su estructura. Por ejemplo, durante la citocinesis se forma un anillo contráctil de actina y miosina II que interactúa con la membrana para separar las dos células hijas.

7.1.2.3. Control de la organización de la actina

La organización de los filamentos de actina es muy dinámica, pues pueden organizarse y desorganizarse rápidamente según las necesidades celulares o necesidades de una región de la célula. Varias proteínas asociadas a la actina controlan este dinamismo (Tabla 7.1). La **timosina** y la **gelsolina** inhiben su polimerización. La timosina se une en las regiones a, b c y d de la actina-G o impide la liberación del ATP (Fig. 7.3 E). La gelsolina fragmenta los filamentos e impide su polimerización uniéndose en el extremo *plus* (Fig. 7.3 F). Así, esta proteína desorganiza los filamentos de actina. Por ejemplo, cuando una célula que va entrar en mitosis necesita cambiar su forma y organizar el aparato mitótico. Para poder hacerlo se desorganiza la corteza celular y la red *gel-sol* del citoplasma, donde intervienen la gelsolina y la timosina.

La gelsolina y la timosina, bajo ciertos estímulos y de manera paradójica, pueden facilitar la estabilización y la polimerización de los filamentos de actina. Durante la miogénesis la gelsolina promueve la polimerización de los filamentos de actina del músculo estriado. La gelsolina y la timosina estabilizan los filamentos de actina que dan soporte al seudópodo de los macrófagos y polimorfonucleares neutrófilos (Fig. 7.12).

Existen otros factores que regulan la organización y la función de los filamentos de actina en la célula, como el pH, el ATP, los iones de calcio, etc. Por ejemplo, bajas concentraciones de Ca^{++} y de ATP impiden la formación de filamentos de actina, al igual que un pH inferior a 7 no permite el deslizamiento del sistema actino-miosina.

7.1.3. Movimiento celular

En los organismos el movimiento se debe a cambios de conformación de moléculas que generan el trabajo mecánico y, como todo movimiento activo, necesita de energía externa. El movimiento activo interviene en el transporte ordenado de sustancias dentro de la célula en los intercambios activos de sustancias con el medio ambiente (transportadores y bombas de la membrana plasmática, endocitosis y exocitosis), en los movimientos de organismos unicelulares con ayuda de organelos como cilios y flagelos, en los movimientos de células no musculares en animales (cambio activo de la forma de una célula, separación de una célula en dos durante la mitosis, las migraciones celulares durante la embriogénesis o de otros tipos de células como los macrófagos durante toda la vida) y, finalmente, en la contracción muscular en animales que permite no solamente el bombeo del corazón, los movimientos peristálticos del intestino, etc., sino también caminar, volar, nadar y agitarse en una infinidad de formas. El análisis de los mecanismos causantes de una amplia variedad de movimientos muestra una notable semejanza entre ellos a nivel molecular y todos son fenómenos contráctiles. El proceso contráctil

mejor comprendido es el que tiene lugar en las células del músculo esquelético de los animales. Se describe enseguida la contracción en las células del músculo esquelético y liso y los movimientos de células no musculares *in vitro* e *in vivo*. La organización y el funcionamiento de los cilios y los flagelos se estudian en la sección 7.2.

7.1.3.1. Movimiento del músculo estriado

La **fibra** o la célula muscular estriada de los músculos esqueléticos es un *syncitium* formado por la unión de muchos miocitos durante la miogénesis, cuya masa seca está constituida por dos tercios de miofibrillas (Fig. 7.5 A). Las **miofibrillas** son las unidades más pequeñas del aparato contráctil visibles al MO, aparecen al ME como unidades menores, los **miofilamentos** (Fig. 7.5 B). Los miofilamentos conforman dos clases diferentes por sus dimensiones y su composición química: los filamentos de actina de 6 nm de diámetro (Fig. 7.5 C) y los filamentos gruesos o miofilamentos de miosina de 16 nm de diámetro (Fig. 7.5 D). El patrón de bandas transversales del músculo estriado refleja la disposición de estos dos conjuntos de filamentos. Las miofibrillas son elementos cilíndricos de 1 a 2 μm de diámetro que se extienden a lo largo de la célula muscular estriada y puede alcanzar varios centímetros. Cada miofibrilla está constituida por unidades repetitivas, los **sarcómeros**. Las estrías resultan de la alternancia de bandas denominadas A e I (Fig. 7.5 A bandas). La banda A (por anisotropía en el examen a la luz polarizada) está situada en el centro del sarcómero y aparece como una banda sombra en preparaciones fijadas. La banda A está subdividida en dos por una zona más clara, llamada banda H o zona de Hansen. La banda I (por isotropía) está también subdividida en dos por una línea o el disco Z, que separa dos sarcómeros vecinos.

La unidad funcional de la contracción es el sarcómero (Fig. 7.5 B). El tamaño de un sarcómero varía de 3.500 nm cuando el músculo está relajado o en reposo, a 1.600 nm cuando está contraído (Fig. 7.6). Durante la contracción, solo la banda I disminuye de longitud, la banda A conserva el mismo tamaño. Esto se explica por el deslizamiento de filamentos de actina sobre los de la miosina, penetrando más en la banda A. Esta organización en sarcómeros y el mecanismo de contracción son muy similares en las fibras musculares cardíacas, las que son también estriadas.

En los músculos de los vertebrados, los filamentos de actina son de 1 μm de longitud, mientras que los de miosina son de 1,6 μm . Los filamentos de miosina van de un extremo al otro de cada banda A, mientras que los de la actina cubren la banda I y una parte de la banda A. El extremo *plus* de los filamentos de actina está unido a la α -actinina que se encuentra en el disco Z (Fig. 7.5 B).

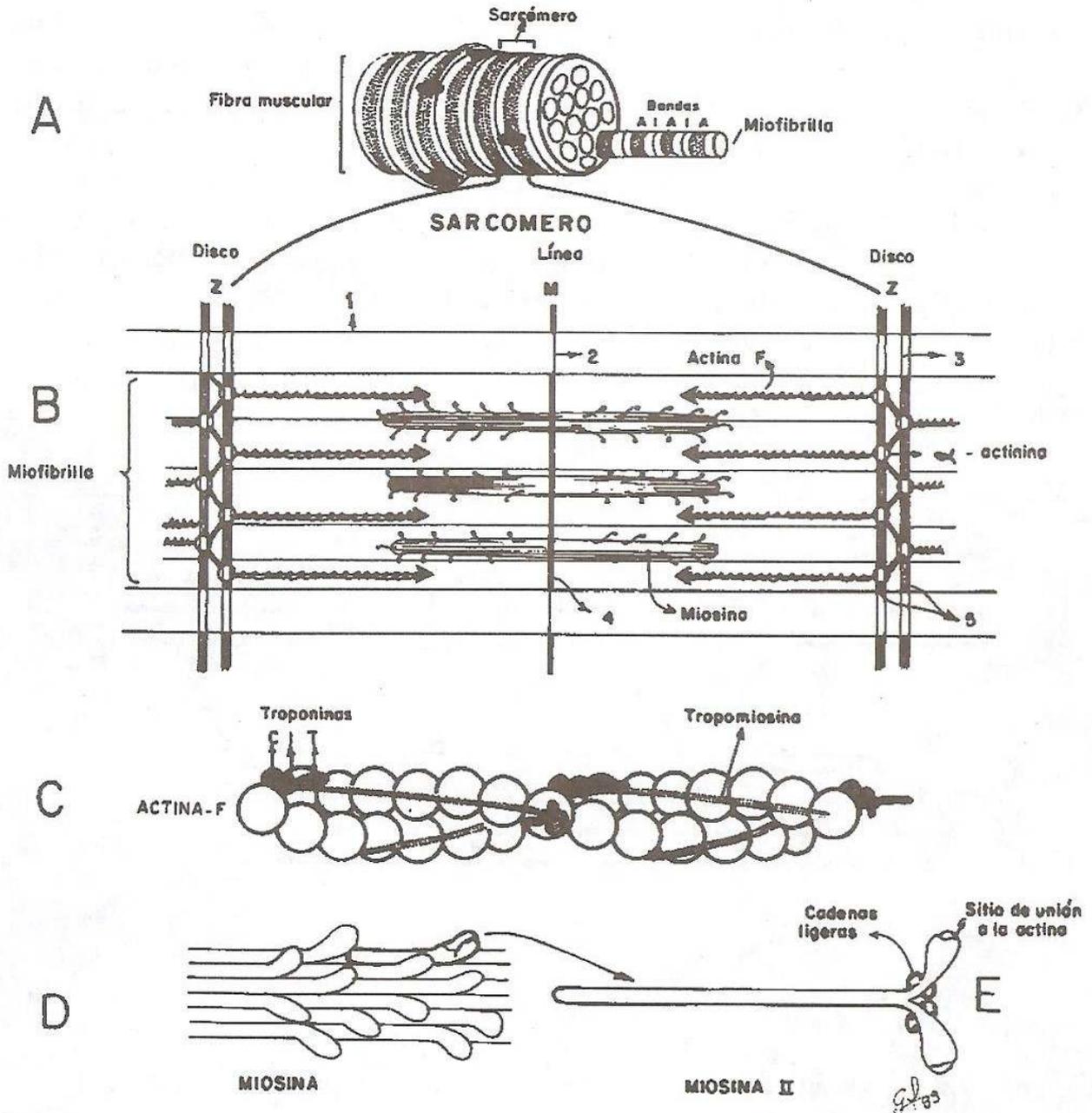


Figura 7.5. Esquema de la organización del músculo esquelético.

A. Segmento de una célula muscular esquelética y una miofibrilla donde se muestran las bandas anisotrópicas (A) e isotrópicas (I).

B. Sarcómero limitado por los dos discos Z. 1, 2, 3, 4 y 5 indican a los filamentos intermedios del músculo estriado.

C. Fragmento de un miofilamento de actina con sus proteínas asociadas.

D. Fragmento de un miofilamento de miosina.

E. Miosina II aislada del miofilamento de miosina.

La estructura de los filamentos de actina del sarcómero es idéntica a la estructura ya descrita en la sección 7.1.1, pero en el músculo estriado, la actina se asocia a otras proteínas, las tropomiosinas y las troponinas que intervienen en la regulación de la contracción por el calcio. La tropomiosina es una molécula alargada,

formada por dos cadenas polipeptídicas idénticas y se une al filamento de actina entre los dos nudos (Fig. 7.5 C). Cuando el músculo está relajado las tropomiosinas se ubican periféricamente al filamento de actina impidiendo su unión con la miosina, mientras que durante la contracción se deslizan y liberan los sitios de unión de la actina con la miosina. Las troponinas son 3 proteínas globulares denominadas T, I y C que se unen a nivel de los nudos del filamento de actina (Fig. 7.5 C). La troponina T se une a la tropomiosina durante el estado de relajación del músculo. Para el inicio de la contracción muscular la troponina C se une a cuatro moléculas de calcio y levanta la inhibición producida por la troponina I.

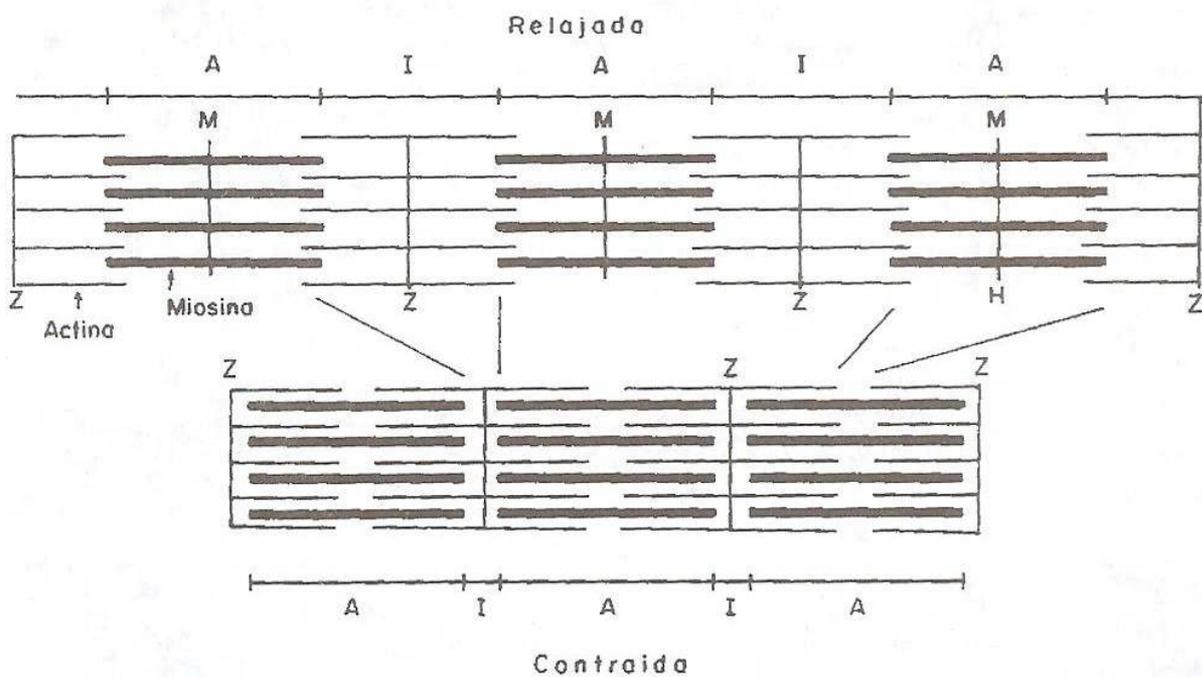


Figura 7.6. Estructura del sarcómero en reposo y en contracción.

Relajada: muestra tres sarcómeros relajados de una célula muscular estriada. En este estado existe muy poca superposición de los filamentos de actina con los de miosina.

Contraída: muestra los mismos tres sarcómeros contraídos, donde la superposición de la actina sobre la miosina es máxima. En este estado disminuyen la longitud de las bandas I y H.

Z: disco Z; A: banda anisotrópica; I: banda isotrópica; H: banda H; M: línea M.

Los miofilamentos de miosina se forman por un ensamblaje espontáneo (Fig. 7.5 D) que en los vertebrados están constituidos por 200 a 500 moléculas de miosinas II (Fig. 7.5 E), cuya estructura se describió en las proteínas motoras de la actina (Fig. 7.4). Durante este ensamblaje las cabezas de miosinas II quedan libres de un lado y otro del miofilamento. Las cabezas son las que se unen a las actinas durante la contracción muscular y las atraen hacia la línea M que es el centro del sarcómero (Fig. 7.5 B), por lo tanto los dos discos Z del sarcómero se acercan (Fig. 7.6).

Fisiológicamente, el inicio de la contracción es controlado por variaciones en las concentraciones del ion Ca^{++} en el citosol. El influjo nervioso provoca una despolarización de la membrana plasmática que se propaga rápidamente por toda la fibra por una serie de repliegues de esta membrana a nivel del disco Z. Estos repliegues (túbulo transverso) están muy cerca de los elementos del retículo endoplásmico, llamado en el músculo estriado retículo sarcoplásmico, que rodea el miofilamento. La despolarización de los túbulos transversos provoca una transferencia masiva de iones de calcio desde la luz del retículo sarcoplásmico hacia el citosol. El control de la contracción por los iones Ca^{++} se hace por intermedio de las troponinas y de la tropomiosina. La troponina provoca un desplazamiento de la tropomiosina, liberando la región de unión de la actina con la miosina. La miosina hidroliza su ATP y la cabeza motora se une a la región liberada de la actina, enseguida cambia su conformación generando el movimiento de la actina hacia el centro del sarcómero. La cabeza motora se disocia del ADP y se une de nuevo a otro ATP para poder disociarse del filamento de actina. Esta misma cabeza motora puede reiniciar su ciclo contráctil. Al final de la contracción muscular los iones de calcio son transferidos de nuevo a la luz del retículo sarcoplásmico por las bombas de iones de calcio, localizadas en la membrana del sarcoplasma.

La estructura del sarcómero es mucho más compleja que la descrita hasta ahora. Efectivamente, hay filamentos intermedios, denominados del **tercer tipo** del sarcómero, que intervienen en su estructura. Los filamentos intermedios se organizan en dos discos densos situados a la periferia del disco Z (Fig. 7.5 B.5). Otros filamentos intermedios (Fig. 7.5 B.1) unen los dos discos Z del sarcómero. Las miofibrillas de miosina están unidas por un disco fino de filamentos intermedios (Fig. 7.5 B.4). Las miofibrillas vecinas están unidas por filamentos intermedios a nivel de los discos Z (Fig. 7.5 B.3) y a nivel de las líneas M (Fig. 7.5 B.2). Además de esta distribución de filamentos intermedios, en el sarcómero se encuentran otros filamentos intermedios denominados nebulina y titina que cubren las miofibrillas de actina y de miosina. Todos estos filamentos intermedios dan un soporte a las miofibrillas, por esta razón se les denomina también el “esqueleto” del músculo esquelético.

7.1.3.2. Movimiento del músculo liso

Las células musculares lisas son mucho más pequeñas que las estriadas, no pasan de 200 μm . Ellas contienen filamentos de actina y de miosina II pero no presentan la organización en sarcómeros. La actina y la miosina del músculo liso no son idénticas a las que se encuentran en el músculo estriado. La diferencia es menor para la actina: algunos aminoácidos son diferentes sin que se sepa su significado funcional. La miosina del músculo liso presenta varias características diferentes de la del músculo estriado. Aún en condiciones óptimas, su actividad ATPásica es 10 veces inferior a la de la miosina del músculo estriado y depende de manera directa de la concentración de iones Ca^{++} . Además, la fosforilación de las

cadena ligera de la miosina es indispensable para su unión a la actina. La fosforilación y la desfosforilación de la miosina II son catalizadas por enzimas específicas. La enzima que fosforila, una miosina quinasa, sólo se activa cuando se une a la **calmodulina** asociada a cuatro iones de calcio.

La calmodulina es una proteína cuya secuencia es muy similar a la de la troponina C. Ella se encuentra en todas las células nucleadas, donde juega un papel de intermediario en muchos procesos controlados por la concentración intracelular de los iones de calcio. Como la troponina C, la calmodulina posee 4 sitios de unión de muy alta afinidad para el ion calcio y sufre un cambio de configuración importante si se une a los iones de calcio (Fig. 3.9). Se puede considerar a la troponina C como una forma especializada de la calmodulina.

En el músculo liso no se conoce con precisión la organización de la actina y la miosina II. Según un modelo (Fig. 7.7), el sistema actino-miosina se organiza como una malla teniendo como puntos de apoyo los “cuerpos densos” en los extremos de los filamentos intermedios. Los filamentos de actina del sistema actinomiosina se unen a la membrana plasmática por medio de proteínas asociadas a ella, que aún no se conocen con precisión. La contracción de la célula se realiza por el deslizamiento de la actina y la miosina II. El aspecto de la célula contraída es similar al representado en la figura 7.7 B, pero en realidad esta contracción es mucho mayor que la esquematizada.

La célula muscular lisa no debe considerarse como una versión primitiva, menos refinada, de la célula muscular estriada. Al contrario, las características del sistema contráctil del músculo liso están específicamente adaptadas a la función de estas células. Esta adaptación les permite mantener la contracción por períodos largos hidrolizando 5 a 10 veces menos ATP que lo que sería necesario para los músculos esqueléticos en las mismas condiciones.

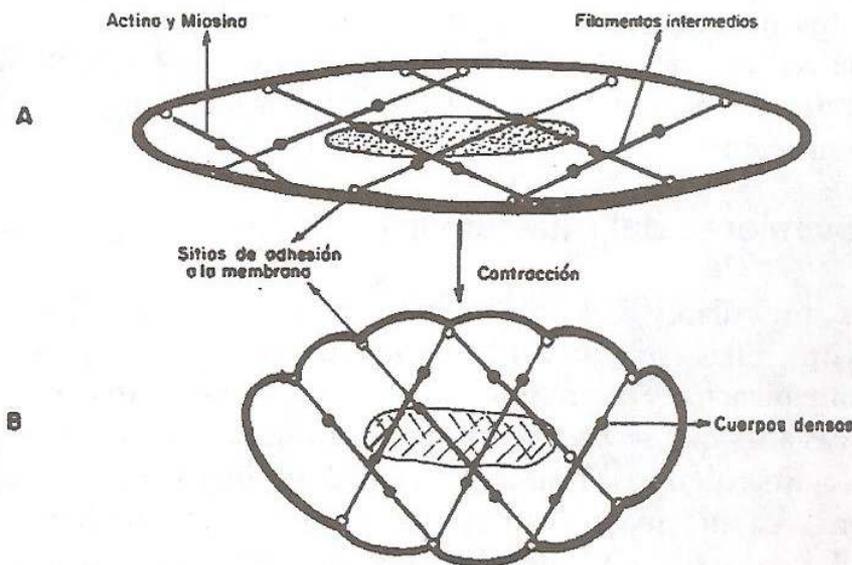


Figura 7.7. Modelo del aparato contráctil en las células del músculo liso.
A. Célula relajada. B. Célula contraída (Alberts y col., 1994).

7.1.3.3. Movimiento de las células no musculares *in vitro*

Las múltiples funciones relacionadas con la actina se debe a que existen distintas estructuras que pueden formarse por la actina-F. Los diferentes ensamblajes y formaciones de los filamentos de actina están bajo el control de un gran número de proteínas reguladoras de la actina, que le permiten tener un dinamismo a la célula dependiendo de las necesidades y de los estímulos que le llegan.

Las drásticas modificaciones que sufre una célula en su forma y estructura cuando es sometida a los procesos de disociación del tejido antes de ponerla en cultivo, sin perder su integridad, son el reflejo del dinamismo de su citoesqueleto y donde han sido mejor estudiadas las modificaciones de la organización de la actina.

Una célula es generalmente redonda cuando se aísla y se coloca en cultivo (Fig. 7.8 A), pero inmediatamente comienza a formar microespículas (Fig. 7.8 B). Mas tarde se forman lamelipodios entre las microespículas (Fig. 7.8 C). Todos estos procesos implican un cambio muy rápido e importante de la forma de la membrana y de su corteza celular. Los lamelipodios crecen en la región celular dirigida hacia el soporte, formando elseudópodo que le da a la célula una forma piramidal o de huella de pie (Fig. 7.8 D). Cuando la célula entra en contacto con el soporte, la membrana celular se adhiere al soporte y el resto de la célula se desplaza activamente hacia el soporte. Por último, la célula se vuelve plana, adhiriendo mayor superficie de su membrana al soporte por medio de las placas de adhesión (Fig. 7.8 E).

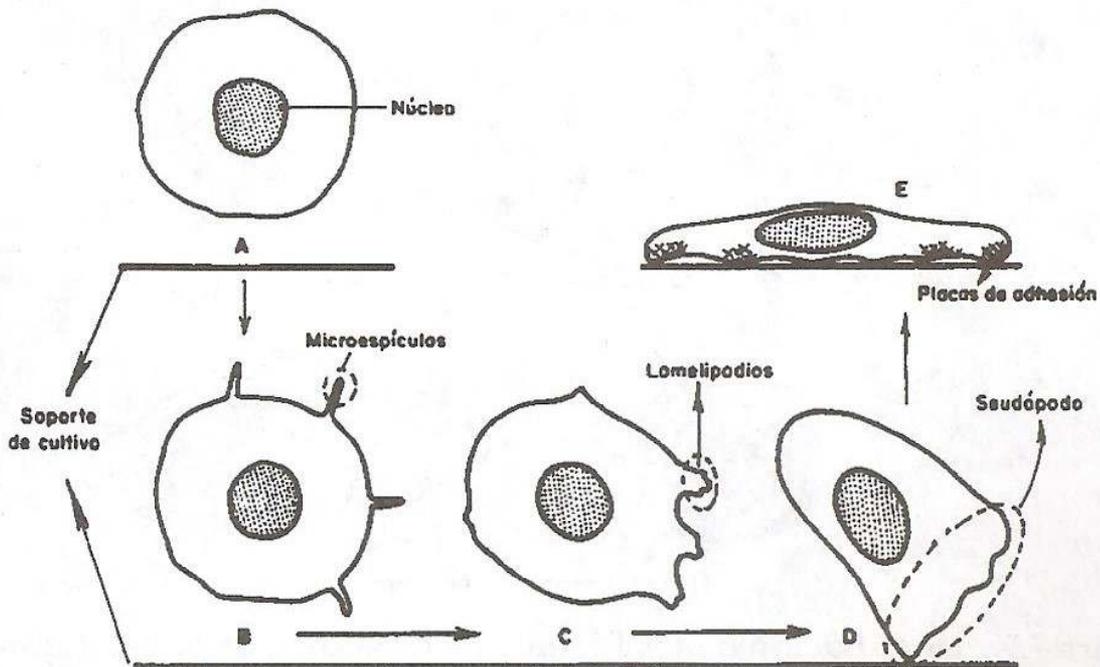


Figura 7.8. Esquema de los cambios morfológicos de una célula no muscular colocada en cultivo.

A. Inicio del cultivo. B, C y D representan las modificaciones antes de adherirse al soporte de cultivo. E. Representa la adhesión de la célula al soporte y formación de las placas de adhesión.

Los estadios B, C y D de la figura 7.8 están representados en B, C y D de la figura 7.9, en donde se esquematiza la organización de la actina y de sus proteínas asociadas como la α -actinina, la tropomiosina y la miosina dentro de una célula colocada en cultivo.

Al inicio del cultivo la célula redonda no tiene filamentos organizados, pero los filamentos de **actina** se polimerizan en paquetes de 5 a 10 filamentos formando el eje de las microespículas (Fig. 7.9 B1). En la región de la corteza celular no hay filamentos de actina, sino los monómeros de actina-G. Al mismo tiempo, en el centro de la célula comienza a formarse una red de filamentos de actina muy

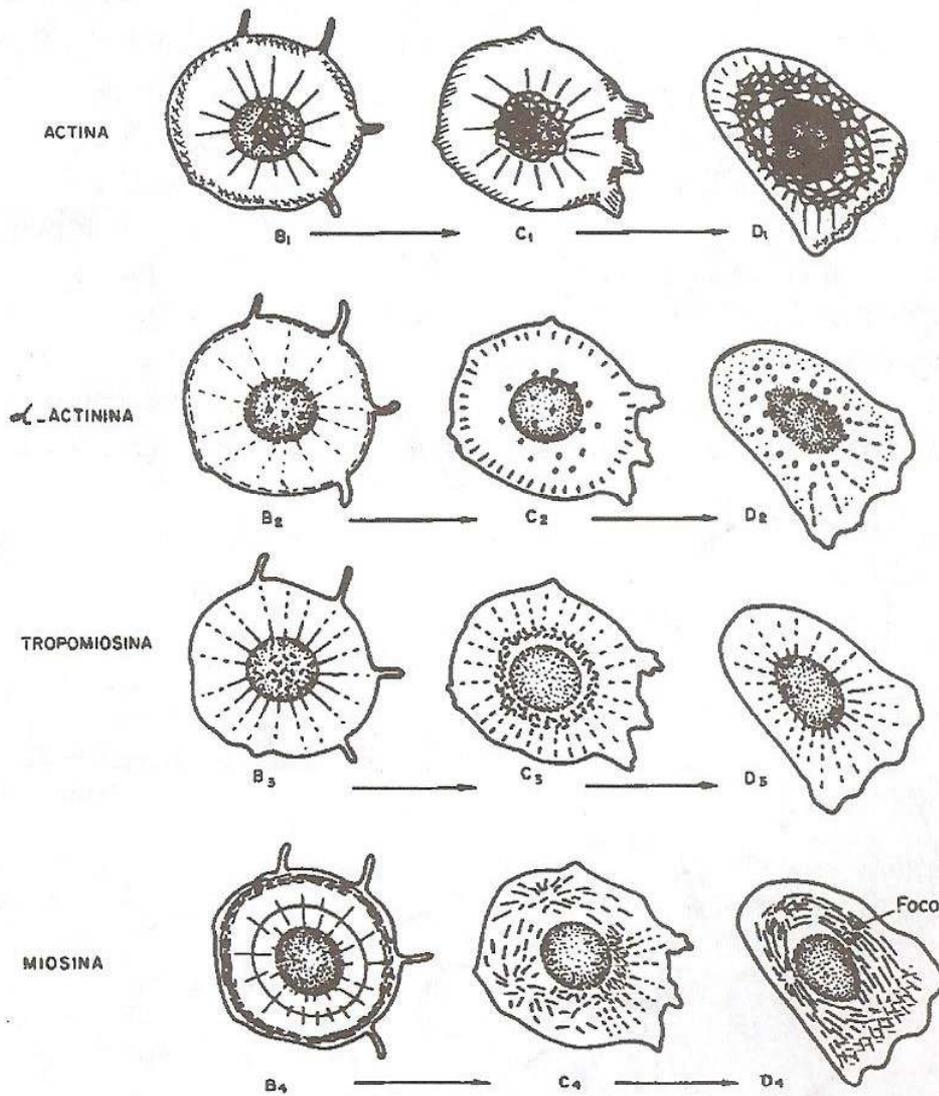


Figura 7.9. Distribución de los filamentos de actina, de la α -actinina, la tropomiosina y la miosina de una célula cuando se mueve para adherirse al soporte de cultivo.

Las etapas B, C y D corresponden a las B, C, y D de la figura 7.8 durante las diferentes fases que tiene una célula para dirigirse y adherirse al soporte de cultivo. Los cuatro aspectos (1 a 4) representan el mismo estadio de la célula, pero se separaron para facilitar la descripción.

organizada, con irradiaciones de filamentos hacia la periferia celular. Enseguida, la red crece alrededor del núcleo (Fig. 7.9 C1), progresando hasta la membrana plasmática (Fig. 7.9 D1). A esta malla muy regular de filamentos de actina que cubre el núcleo de la célula, como una canastilla, expandiéndose hacia la membrana plasmática, se le denomina **geodomo** de actina. Se forman más paquetes de actina en los lamelipodios (Fig. 7.9 C1). A medida que se va desplazando la membrana plasmática en la periferia de los lamelipodios y se van formando los pseudópodos, se forman filamentos de actina más largos y además se entrelazan.

Cuando la célula ha formado las microespículas, la **α -actinina** muestra tres aspectos: el primero, en la región perinuclear (Fig. 7.9 B2), como puntos esparcidos regularmente que corresponden a los ángulos del geodomo de actina que se está formando (Fig. 7.9 B1); el segundo, en la región citoplasmática, como filamentos estriados irregularmente que parten de los puntos esparcidos de la región perinuclear hacia la periferia celular; y el tercero, se localiza en contacto con la membrana plasmática. A medida que el geodomo de actina va creciendo, los puntos de α -actinina también van aumentando y van disminuyendo las que están en contacto con la membrana (Fig. 7.9 C2). Como los puntos esparcidos representan la α -actinina localizada exactamente en los ángulos del geodomo de actina, su extensión corresponde al geodomo de actina ya organizado en toda la célula cuando se ha formado el pseudópodo (Fig. 7.9 D2). Además, se forman filamentos de α -actinina a lo largo del eje de los pseudópodos.

La **tropomiosina** presenta una distribución similar a la actina cuando la célula ha formado las microespículas, pero no se localiza en la región de la corteza celular ni en las microespículas (Fig. 7.9 B3). Ella se organiza en una malla idéntica y superpuesta a la malla de actina en la región perinuclear, y como la actina, de esta malla se irradian filamentos de tropomiosina hacia la periferia celular. La malla de tropomiosina interviene en la formación de mallas de actina durante su crecimiento (Fig. 7.9 C3) para formar finalmente el geodomo (Fig. 7.9 D3). A medida que se forma el geodomo de actina la malla de tropomiosina se desorganiza.

Hay que anotar que los filamentos de **miosina** de las células no musculares no forman el filamento grueso de 16 nm de diámetro como en el sarcómero, sino finos filamentos de 6 nm de diámetro. La distribución de la miosina es muy diferente de las tres proteínas anteriores en la célula (Fig. 7.9 B4, C4 y D4). Porque ella no participa en la organización de los filamentos de actina ni en la estructura del geodomo. Al inicio de la formación de las microespículas, paquetes de filamentos de miosina cubren el núcleo irregularmente con irradiaciones hacia la periferia. En la región de la corteza celular se concentran miosinas sin formar filamentos (Fig. 7.9 B4). Luego la miosina forma una malla entre el núcleo y los lamelipodios con irradiaciones de filamentos discontinuos hacia los lamelipodios, y cortos filamentos en el lado opuesto a los lamelipodios (Fig. 7.9 C4). Una vez que la célula se adhiere al soporte, se desorganizan los filamentos de miosina del pseudópodo y los del citoplasma convergen hacia focos en la periferia celular (Fig. 7.9 D4).

Dinámicamente, la α -actinina sería el punto de formación de los filamentos de actina y permite la interacción entre los filamentos de actina al inicio de la formación del geodomo. A medida que el geodomo de actina crece, la α -actinina del centro se queda en los ángulos y hacia la periferia del geodomo da los puntos de interacción, hasta que el geodomo esté completamente formado. La α -actinina pierde su afinidad por la actina en la región del pseudópodo, y allí se organiza en filamentos.

La tropomiosina al inicio de la formación del geodomo de actina jugaría un papel de cofactor en la polimerización de la actina que se hace a partir de la α -actinina, o un papel de estabilizador de los filamentos de actina que acaban de polimerizarse. Es posible que juegue uno o los dos papeles al mismo tiempo. Hay células que presentan un geodomo de tropomiosina similar al de la actina como están en el sarcómero; cuando él está en reposo la tropomiosina se une a la actina y en contracción se libera de la actina y se une a la troponina T. Ésta podría ser la razón por la cual la tropomiosina se vuelve filamentosa después del movimiento celular.

Una vez que la célula se adhiere al soporte por una parte de la membrana del pseudópodo, se presenta un movimiento activo de la célula hacia el soporte para poder adherirse más y formar las placas de adhesión. La contracción se realiza gracias al deslizamiento del sistema actinmiosina entre el pseudópodo y el geodomo, desplazando todo el resto de la célula con el geodomo hacia el punto de adhesión de la membrana. Esta contracción es posible porque, de una parte, los filamentos de actina que no forman malla, pero que salen del geodomo, tienen una polaridad opuesta a los de los pseudópodos. Se puede considerar la orientación de estos filamentos como equivalentes a la orientación de los filamentos de actina en un sarcómero, donde los filamentos que salen de una línea Z tienen una polaridad opuesta a los filamentos de la otra línea Z en el mismo sarcómero. De otra parte, los filamentos de actina del pseudópodo están unidos a la membrana adherida al soporte, como homólogo a un disco Z del sarcómero, y los filamentos de actina con polaridad opuestas están unidos a la α -actinina del geodomo como a otro disco Z del mismo sarcómero. La miosina forma una red entre el geodomo y los filamentos del pseudópodo asemejándose a la posición de los gruesos filamentos del sarcómero, de esta manera la célula puede desplazarse hacia el soporte de cultivo como si fuera un sarcómero. De otro lado hay focos de miosina por donde se irradian sus filamentos en la célula (Fig. 7.9 D4). Estos focos podrían ser los centros de tensión o de extensión durante el movimiento de la célula no muscular.

Conociendo esta particularidad del movimiento celular se supone que el movimiento (como desplazamiento de la célula entera) de las células no musculares se realice por el mismo mecanismo, o sea por deslizamientos de la actina y de la miosina como en un sarcómero. Sin embargo, no se conoce bien la interacción de otras moléculas con este sistema actinmiosina.

Evidentemente la organización molecular es mucho más dinámica y compleja que lo que se acaba de describir. A continuación se considerará con más detalles algunos aspectos de esta organización en una célula que se está adhiriendo al soporte e iniciando la formación de la placa de adhesión. Esta situación se representa en la figura 7.10, la que corresponde al estadio de la célula representado en las figuras 7.8 D, y 7.9 D1, D2, D3 y D4.

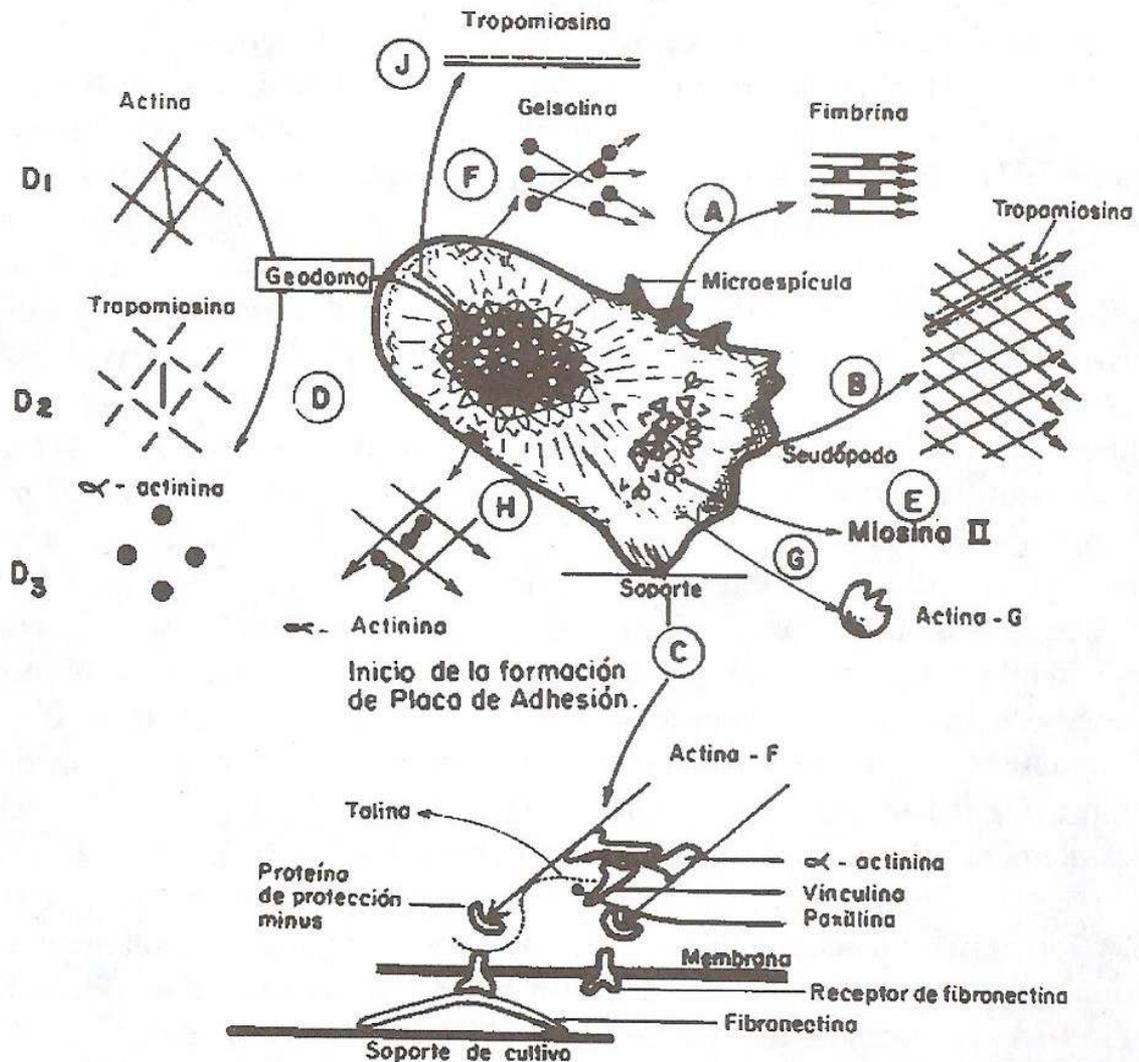


Figura 7.10. Esquema de la organización de los filamentos de actina y sus proteínas de unión en una célula que está adhiriéndose al soporte.

- A. Filamentos de actina en el eje de las microespículas.
- B. Filamentos de actina en los pseudópodos.
- C. Filamentos de actina en una placa de adhesión.
- D. Filamentos de actina organizados, formando el geodomo.
- E. Relación de la miosina II con los filamentos de actina.
- F. Acción de la gelsolina sobre los filamentos.
- G. Monómeros de actina-G libres en el citosol.
- H. Organización de los filamentos de actina, formando la corteza celular.
- J. Estabilización de los filamentos de actina radiales del geodomo por la tropomiosina.

El eje de las microespículas está compuesto por paquetes pequeños de actina-F, similar a las microvellosidades (Fig. 7.10 A). En los pseudópodos los filamentos de actina se entrecruzan y son estabilizados por la tropomiosina antes de adherirse al soporte (Fig. 7.10 B). Cuando los pseudópodos entran en contacto con el soporte los filamentos de actina-F se reorganizan con otras proteínas para formar la **placa de adhesión** celular (Fig. 7.10 C).

En la placa de adhesión el extremo *minus* de los filamentos de actina está recubierto por la **proteína de protección** que inhibe la despolimerización de la actina. La α -actinina estabiliza los filamentos de actina y se une a la **vinculina**, que estabiliza a su vez la α -actinina; otra proteína, la **paxilina**, estabiliza a la vinculina; finalmente, la **talina** estabiliza más la placa de adhesión uniendo la vinculina con el filamento de actina y con el receptor de la fibronectina o de la laminina que se encuentran en soporte de cultivo. Las fibronectinas o las lamininas son proteínas de adhesión extracelular, secretadas por las mismas células cuando se colocan en cultivo o añadidas al medio de cultivo que favorecen la formación de las placas de adhesión.

El geodomo de actina está organizado por las mallas de actina (Fig. 7.10 D1) y de tropomiosina (Fig. 7.10 D2) y por las moléculas de α -actinina en los ángulos de la malla de actina (Fig. 7.10 D3). Los filamentos de miosina II se organizan entre el geodomo y los filamentos de actina de los pseudópodos (Fig. 7.10 E). La α -actinina estabiliza los filamentos de actina que formarán la corteza celular (Fig. 7.10 H) y los filamentos de actina que se irradian del geodomo hacia el citosol son estabilizados por la tropomiosina (Fig. 7.10 J). Los filamentos de actina del lado opuesto a la placa de adhesión se desorganizan por la intervención de la gelsolina (Fig. 7.10 F). Hay un gran número de actinas-G libres para la formación de los filamentos de actina de la placa de adhesión (Fig. 7.10 G).

Cuando la célula entera se ha desplazado completamente sobre el soporte (Fig. 7.8 E), forma más placas de adhesión, entonces se desorganizan los filamentos de miosina y del geodomo de actina, distribuyéndose de nuevo en toda célula, formando haces de paquetes de filamentos de actina que van de una placa de adhesión a otra.

7.1.3.4. Movimiento de las células no musculares *in vivo*

Hay dos tipos de células que se desplazan muy activamente por pseudópodos en nuestro organismo: los macrófagos (Fig. 7.11) y los polimorfonucleares neutrófilos. El mecanismo básico de sus movimientos es también el sistema actino-miosina, pero su organización difiere de la de las células en cultivo.

En reposo, la corteza celular del macrófago tiene una consistencia de *gel* y la red citoplásmica de *sol* (Fig. 7.11). Cuando el macrófago va a desplazarse la corteza celular se desorganiza en la región de la célula que ha recibido un estímulo

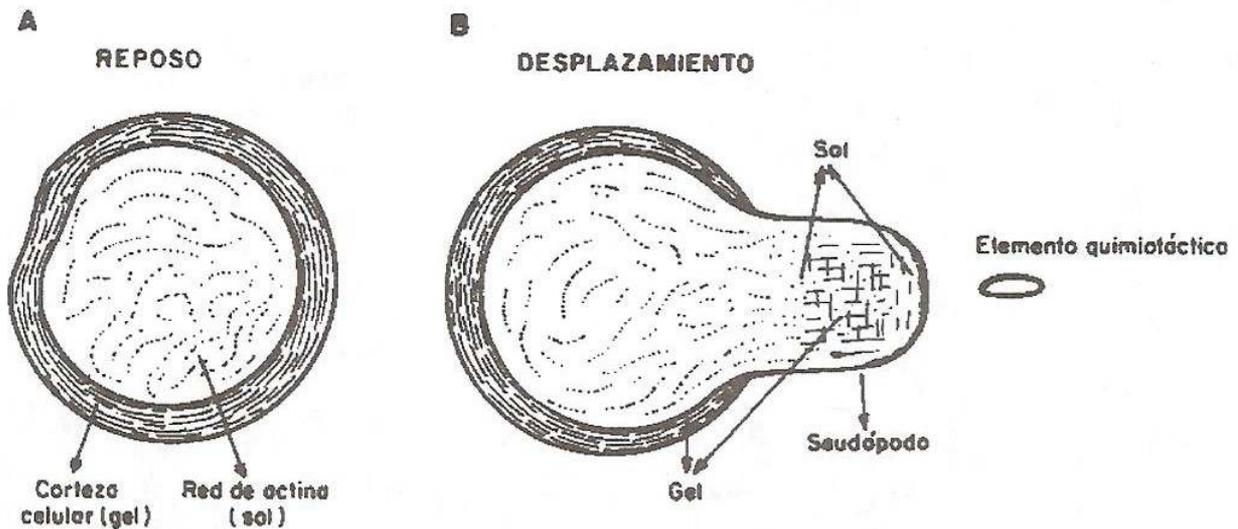


Figura 7.11. Organización de los filamentos de actina en un macrófago.
 A. Esquema de la organización de los filamentos de actina en un macrófago en reposo.
 B. Esquema de la formación de un pseudópodo por estimulación de un agente quimiotáctico y modificación de la corteza celular (Stossel, 1994).

quimiotáctico, por ejemplo, de una bacteria. En esta región se forman varias protuberancias de la membrana que dan origen al pseudópodo para su desplazamiento. Efectivamente, se forma un pseudópodo que se adhiere a la matriz extracelular y atrae el resto de la célula hacia el sitio de adhesión, con una contracción similar a la descrita en el movimiento de la célula *in vitro*. Este movimiento se repite, cambiando el sitio de adhesión, hasta llegar a la fuente quimiotáctica. Finalmente, fagocitará la bacteria (Fig. 4.9) con la participación de los elementos del citoesqueleto y del movimiento celular (Ver 4.2).

En cuanto a los cambios moleculares durante el desplazamiento del macrófago, después de la formación de las protuberancias de la membrana, comienza una reorganización de los filamentos de actina de la corteza celular y de sus proteínas de unión que culmina en una red muy organizada de filamentos de actina en el interior de los pseudópodos (Fig. 7.12). Las gelsolinas que fragmentaron los filamentos de la corteza celular en la región de la protuberancia se quedan unidas a los filamentos de actina de 8 dímeros, impidiendo su despolimerización.

La timosina se une a las actinas-G liberadas por la despolimerización de los filamentos de actina (Fig. 7.12 1) y son transportadas a la región apical del pseudópodo liberando las actinas-G que se polimerizan en filamentos de actina de 8 dímeros (Fig. 7.12 2). A este nivel, los fosfoinositolbifosfatos de la membrana se agrupan y eliminan la gelsolina de los filamentos de actina. Las proteínas de unión a la actina,

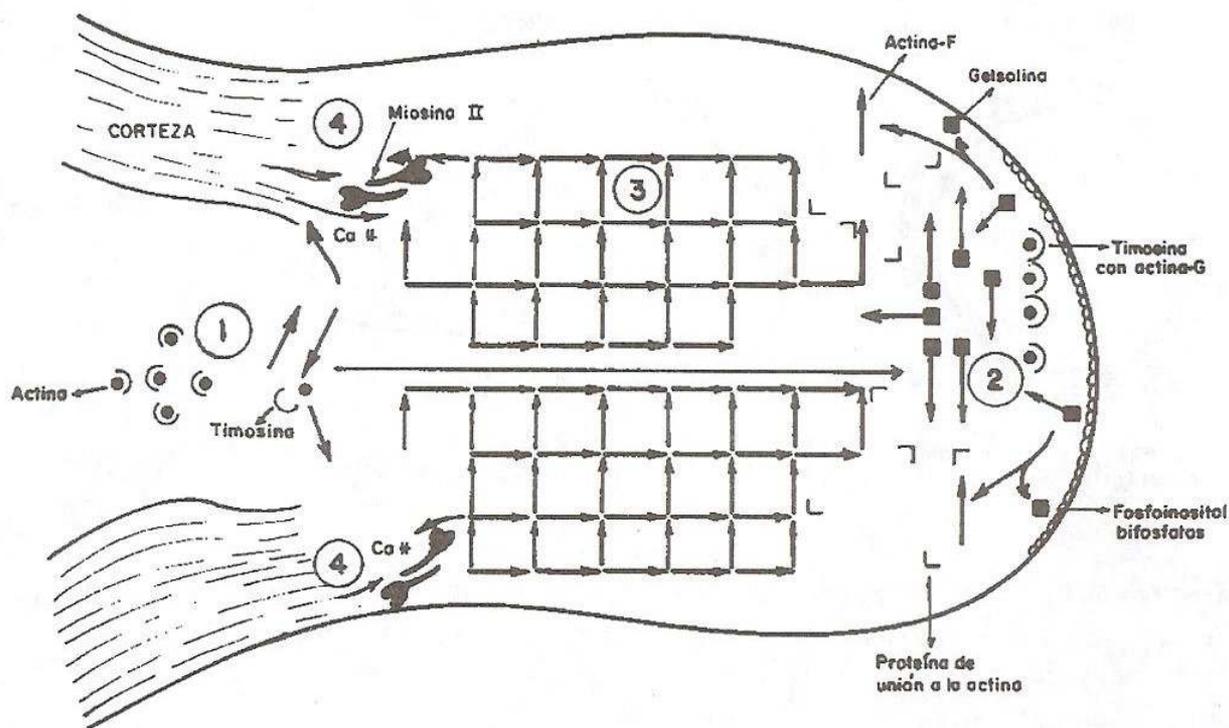


Figura 7.12. Modelo de la organización de los filamentos de actina en un pseudópodo de un macrófago.

1. Monómeros de actinas-G unidas a la timosina que luego migrarán a la región apical del pseudópodo.
2. Región apical del pseudópodo; la gelsolina organiza los filamentos de actina de 8 dímeros en interacción con los fosfoinositolbifosfatos de la membrana plasmática.
3. Formación de una malla de actina en la región del pseudópodo.
4. Zona de la interacción de los filamentos de la malla de actina del pseudópodo con la corteza celular mediada por miosina II (Stossel, 1994).

como la α -actinina o la filaminina, organizan los filamentos de actina liberados de la gelsolina en una malla similar a la del geodomo, pero aquí no son triángulos sino cuadrados (Fig. 7.12 3). La formación de esta malla de actina en la región apical promueve el crecimiento del pseudópodo. La región apical del pseudópodo se adhiere al soporte. Entre la corteza celular y la malla de actina del pseudópodo se localizan las miosinas II que realizan los deslizamientos actino-miosina desplazando el resto de la célula hacia el pseudópodo (Fig. 7.12 4). El macrófago se mueve, desplazando más sus pseudópodos y adhiriéndose otra vez, y así repite este ciclo descrito.

Los movimientos de los polimorfonucleares neutrófilos son similares a los de los macrófagos, pero aún no se han descrito las modificaciones que sufren los filamentos de actina.

7.2. MICROTÚBULOS

Los microtúbulos están constituidos por **tubulinas**, que son proteínas globulares de 55 kD. Existen dos clases de tubulinas denominadas α y β que derivan de una molécula ancestral común, pues existen importantes homologías entre las secuencias de sus aminoácidos. En solución las moléculas de tubulinas α y β se asocian espontáneamente, constituyendo los heterodímeros α - β , como *in vivo*, que son las unidades básicas de los microtúbulos (Fig. 7.13).

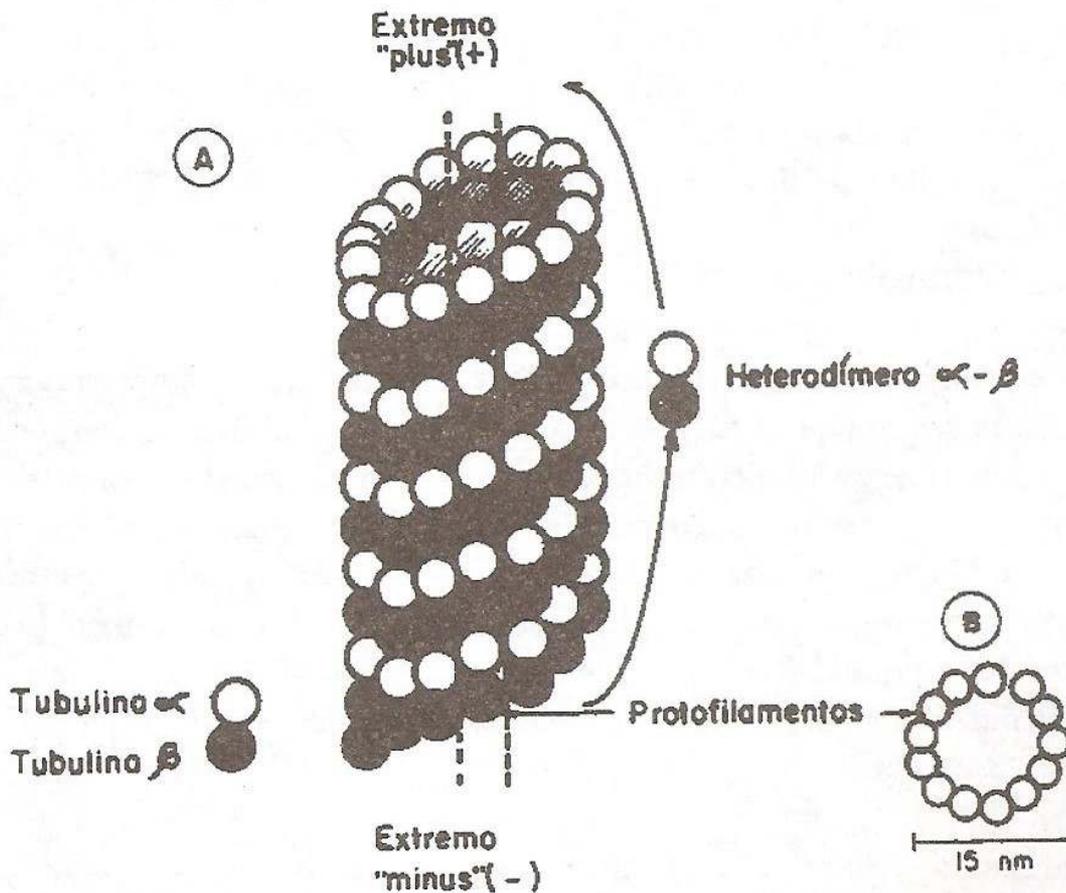


Figura 7.13. Estructura de los microtúbulos.

A. Vista tridimensional de un microtúbulo mostrando los sitios de polimerización o extremo *plus* y de despolimerización o extremo *minus* (*treadmilling*). Las tubulinas α y β alternan periódicamente en los 13 protofilamentos que conforman el microtúbulo.

B. Esquema de un microtúbulo en corte transversal. Cada uno de los trece círculos representa un protofilamento.

7.2.1. Organización y distribución en la interfase

Los microtúbulos son estructuras alargadas y huecas, es decir que son tubos con un diámetro de 25 nm en promedio. Los microtúbulos tienen una polaridad:

un extremo *plus* (+) por donde se polimeriza, acompañado de la hidrólisis del GTP de la tubulina β , y el otro extremo *minus* (-) por donde se despolimeriza los heterodímeros α y β . El conjunto de heterodímeros α y β alineados a lo largo del eje longitudinal del microtúbulo forma un **protofilamento**. Los heterodímeros α y β se alternan regularmente a lo largo de cada protofilamento (Fig. 7.13 A). La “pared” del microtúbulo está constituida por trece protofilamentos (Fig. 7.13 B).

Los microtúbulos se polimerizan y despolimerizan bajo el control del **centrosoma**, pero el mecanismo de su control es desconocido. A partir del centrosoma pueden crecer cientos de microtúbulos hacia la corteza celular, pero también pueden despolimerizarse rápidamente en el seno del centrosoma (Fig. 7.14).

Los microtúbulos que se polimerizan y despolimerizan constantemente son llamados **microtúbulos lábiles**, en oposición a los **microtúbulos estables**, que como su nombre lo indica, forman estructuras de microtúbulos fijos.

7.2.2. Microtúbulos lábiles

En el cuerpo de los microtúbulos lábiles hay un movimiento constante de tubulinas del extremo *plus* hacia el extremo *minus*, es decir hacia el centrosoma. La persistencia de estos microtúbulos depende de la velocidad de polimerización y de despolimerización y pueden ser reemplazados constantemente en caso de necesidad. Al igual que para los filamentos de actina, en los años 60 se describieron estos procesos continuos con tubulina radiomarcada y actualmente lo denominan *treadmilling* de los microtúbulos. En condiciones *in vitro* los microtúbulos pueden autoensamblarse, a diferencia de los filamentos de actina que necesitan proteínas asociadas.

En el centrosoma se aloja el centriolo denominado *microtubule-organizing center* (MTOC) y una tubulina especializada la γ -tubulina, que tiene la forma de un anillo discreto en el centro del centriolo. Durante su formación los microtúbulos se estabilizan (se impide la despolimerización), embebiéndose en el centrosoma por su extremo *minus*. Los microtúbulos crecen rápidamente por polimerización en su extremo *plus* que se dirige hacia la corteza celular (Fig. 7.14). La γ -tubulina del MTOC facilita el ensamblaje y polimerización de los microtúbulos lábiles.

El centrosoma es llamado así porque generalmente se localiza en la región central de la célula. El centrosoma, con los microtúbulos que emanan de él, juega un papel importante como centro de la célula. Si la célula cambia de forma o se mueve, el centrosoma se desplaza a una nueva región que corresponderá al nuevo centro de la célula.

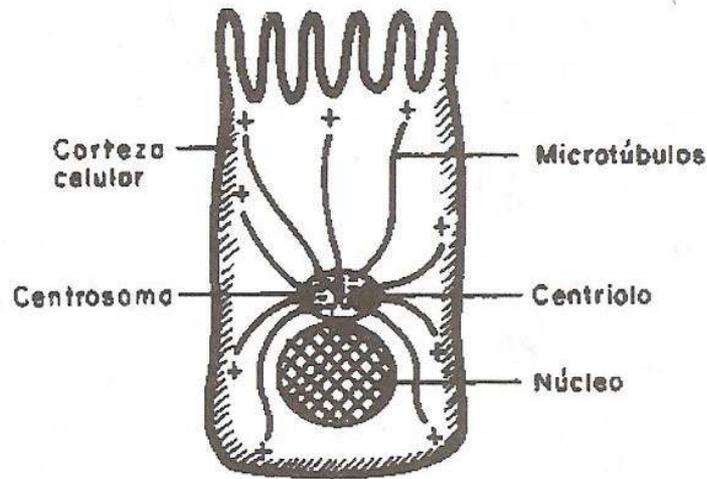


Figura 7.14. Organización de los microtúbulos en una célula.

Los extremos *minus* están embebidos en el centrosoma y los extremos *plus* se forman hasta alcanzar la corteza celular.

Los microtúbulos lábiles se pueden estabilizar por diferentes mecanismos:

1. Por la aceleración de la polimerización. Normalmente cuando se polimeriza un microtúbulo el GTP de la tubulina β se hidroliza en GDP, pero cuando se requiere una rápida polimerización los heterodímeros se unen al microtúbulo sin hidrolizar el GTP y forman un *casquete* de heterodímeros GTP que acelera la polimerización y aumenta la estabilidad del microtúbulo.
2. Por la inhibición de la despolimerización por las **proteínas asociadas a los microtúbulos** (MAP). Existen dos familias de MAP: las de alto peso molecular, de 200 kD denominadas MAP-1; y las de bajo peso molecular, de 55 a 62 kD, denominadas MAP-2 que incluye las proteínas *tau*. Estas proteínas intervienen además en la interacción de los microtúbulos con los otros filamentos del citoesqueleto y con los organelos celulares.
3. Por la acetilación y la destirosinación de las tubulinas en el microtúbulo. Son reacciones muy lentas y se presentan principalmente en las células que necesitan por mucho tiempo los microtúbulos lábiles estabilizados como en las neuronas. En otras células, el papel de estas reacciones es aún controvertido, por ejemplo, en los fibroblastos estas dos reacciones son rápidas, a veces estabilizan y otras veces desestabilizan sus microtúbulos. No se conoce bien su mecanismo de estabilización y de desestabilización.

Los microtúbulos no sólo sirven para dar soporte a los organelos de la célula, sino también son los carriles para el desplazamiento y la organización de los organelos dentro de la célula. Si se impide la formación de los microtúbulos, los organelos como el retículo endoplásmico y el complejo de Golgi se vesiculan, perdiendo su estructura normal. Para poder ejercer esta función dinámica, inter-

vienen también las **proteínas motoras asociadas** de los microtúbulos (que son otras proteínas MAP), al igual que la miosina con los filamentos de actina. Estas proteínas motoras usan repetidos ciclos de hidrólisis de ATP para desplazar los organelos unidos a ellas a lo largo de los microtúbulos.

Hay dos grandes superfamilias de proteínas motoras de microtúbulos: las **quinesinas** que se mueven del extremo *minus* al *plus*, alejándose del centrosoma, y las **dineínas** que lo hacen en sentido contrario, de la corteza celular hacia el centrosoma (Fig. 7.15). Las quinesinas y las dineínas desplazan las mitocondrias, los lisosomas, las vesículas y las moléculas citosólicas sobre los microtúbulos. En las neuritas (prolongaciones de las neuronas) es espectacular el transporte de vesículas sobre los microtúbulos. Este desplazamiento desde el pericarión o cuerpo de la neurona hacia la terminación sináptica se realiza por intermedio de las quinesinas, y desde la periferia hacia el centrosoma por medio de las dineínas. Estos desplazamientos de vesículas se presentan de la misma forma en las otras células, excepto en las vesículas de endo y exocitosis a nivel de la corteza celular que son transportadas sobre la actina por la miosina I como se ha descrito anteriormente. No se conoce bien cómo la energía de la hidrólisis del ATP induce el movimiento vectorial de organelos y de moléculas. Pero se puede suponer un cambio conformacional activo generando la fuerza mecánica.

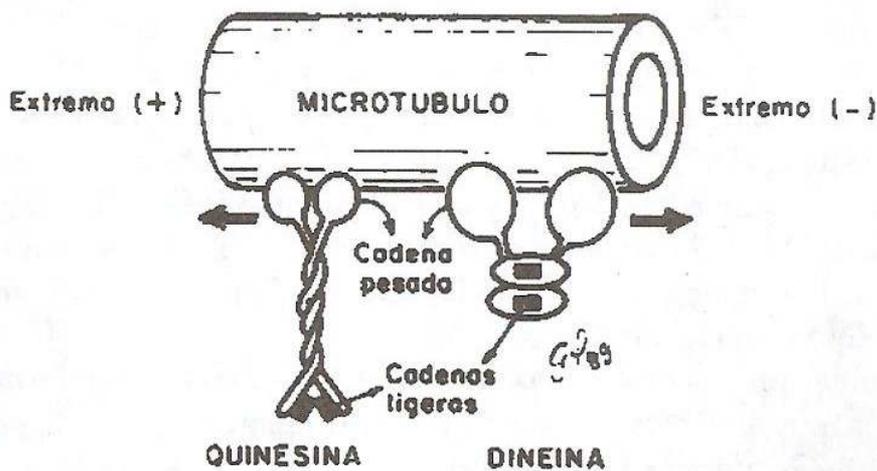


Figura 7.15. Proteínas motoras de los microtúbulos.

Las quinesinas se mueven del extremo *minus* al *plus*, o sea del centro de la célula a la periferia, mientras que las dineínas lo hacen en sentido contrario. Ambas proteínas motoras son dímeros y su cabeza globular tiene una actividad ATPásica (Alberts y col., 1994).

Las células eucarióticas inferiores no tienen la maquinaria del citoesqueleto que les permita una distribución espacial del complejo de Golgi y del RE. En estas células la transición entre el CG y el RE no es nítida y el transporte de moléculas

se hace por difusión entre los dos organelos. En cambio, en las células eucarióticas superiores los dos organelos ocupan una distribución espacial bien definida (Fig. 7.16). La red y las prolongaciones del RE se ubican sobre las extensiones apicales de

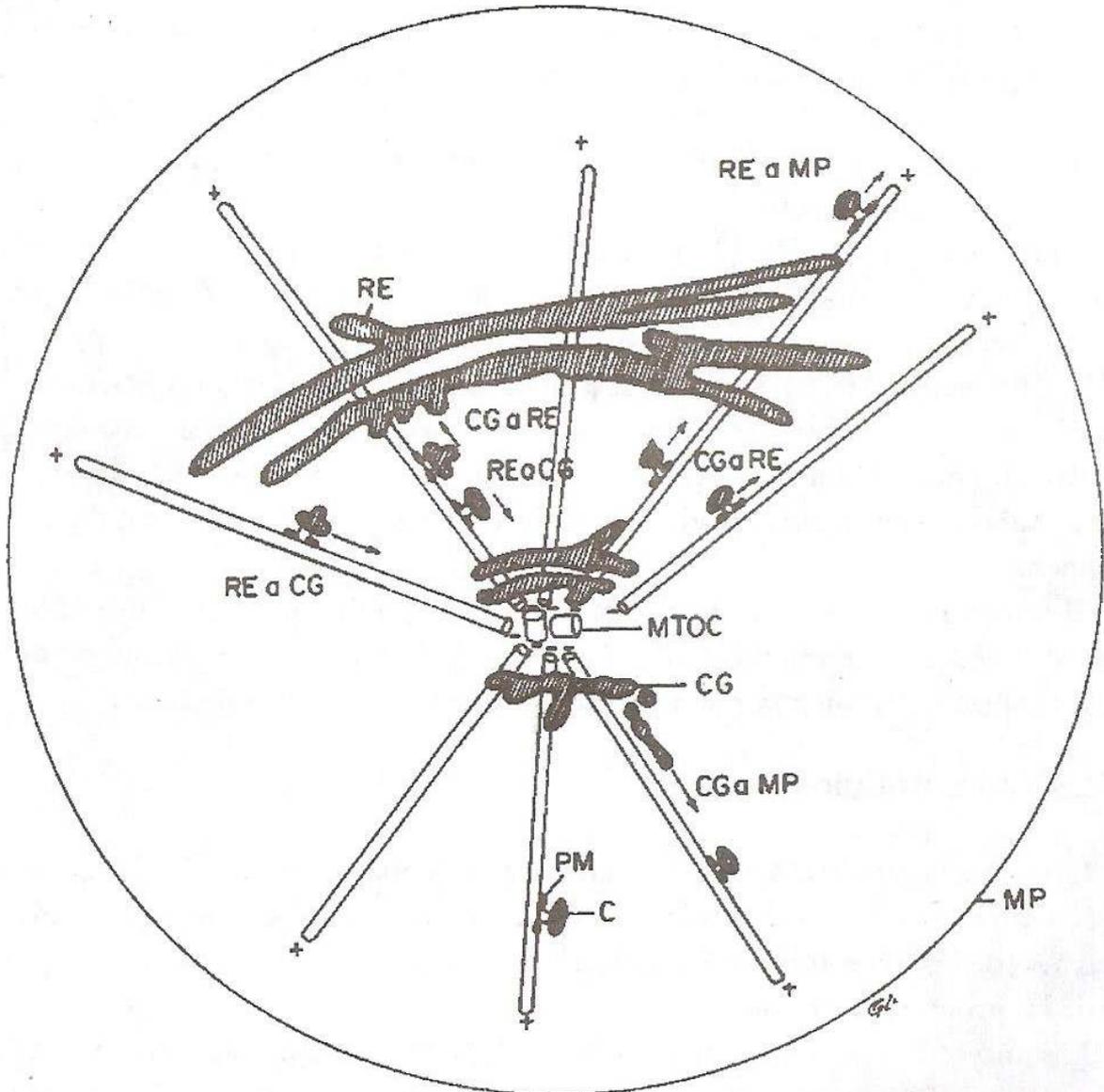


Figura 7.16. Esquema de la relación de los microtúbulos lábiles con el RE, el CG y las vesículas.

Los microtúbulos sirven de soporte para la organización característica de los organelos e intervienen en el transporte intracelular de organelos y vesículas. Las proteínas motoras quinesinas transportan las vesículas del extremo *minus* al extremo *plus* y las dineínas lo hacen en sentido contrario, lo que permite el direccionamiento y desplazamiento adecuado de vesículas y moléculas a sus diferentes destinos (Lippicott-Schwartz, 1998).

Flechas: indican la dirección del movimiento de las proteínas motoras de los microtúbulos; PM: proteína motora de los microtúbulos; C: molécula o vesícula cargo; MP: membrana plasmática; CG: complejo de Golgi; RE: retículo endoplásmico; MTOC: *microtubule-organizing center* o centriolo; -: extremo *minus* o de los microtúbulos; +: extremo *plus* de los microtúbulos.

los microtúbulos lábiles a través de toda la célula, mientras que las cisternas y las redes del CG están organizadas por los microtúbulos en paquetes alrededor de la región cercana del centrosoma (Fig. 7.16). El transporte intracelular de moléculas, con o sin vesículas, se hace generalmente por las proteínas motoras de los microtúbulos. La distancia que puede recorrer una estructura desde la periferia del RE hasta el CG puede alcanzar 20 μm de distancia (Fig. 7.16).

Los microtúbulos interactúan con los filamentos de actina a través de las dineínas, las proteínas intermedias de dineínas o DIC, las dinactinas, las moléculas similares a la actina-F 1 (Arp1) y, en algunos casos, con cortos filamentos de espectrina, para mantener las estructuras celulares y la distribución de los filamentos del citoesqueleto y su interacción con los componentes celulares.

Los filamentos de espectrina son muy abundantes en el citoesqueleto de la membrana de los glóbulos rojos de los mamíferos, donde no existe una corteza celular sino una red inmediatamente debajo de la membrana plasmática muy especializada para permitirles la adaptación de su forma al pasar por los capilares sin romperse.

El movimiento vesicular del CG o del RE a la membrana plasmática se hace por intermedio de los microtúbulos (Fig. 7.16). Sin embargo, este transporte puede ser realizado también por la miosina II sobre los filamentos de actina.

7.2.3. Microtúbulos estables

Otros microtúbulos forman estructuras mucho más estables en las células que se denominan microtúbulos estables. Las tubulinas que los constituyen son idénticas a las de los microtúbulos lábiles. La estabilidad de estos microtúbulos depende de las proteínas asociadas.

Los microtúbulos estables se agrupan en dobletes como los del axonema de los cilios (Fig. 7.17) y de los flagelos, y en tripletes como el centriolo y el corpúsculo basal del axonema (Fig. 7.18). En estos casos los microtúbulos se designan A, B y C, partiendo del microtúbulo con una pared completa de trece protofilamentos. El microtúbulo A con su pared completa tiene la forma de la letra O, mientras que los microtúbulos B y C tienen 11 protofilamentos y la forma de una C. De esta manera, dos protofilamentos son comunes a dos microtúbulos vecinos.

Los dos **centriolos** de un centrosoma están compuestos por una estructura cilíndrica idéntica de 0,5 μm de longitud y 0,15 μm de diámetro en promedio (Fig. 7.14 y 7.18), y cada uno se localiza con respecto al otro formando un ángulo de 90 grados. Cada centriolo es idéntico al **corpúsculo basal** de los cilios o de los flagelos. Los dos centriolos se duplican en la fase S del ciclo celular.

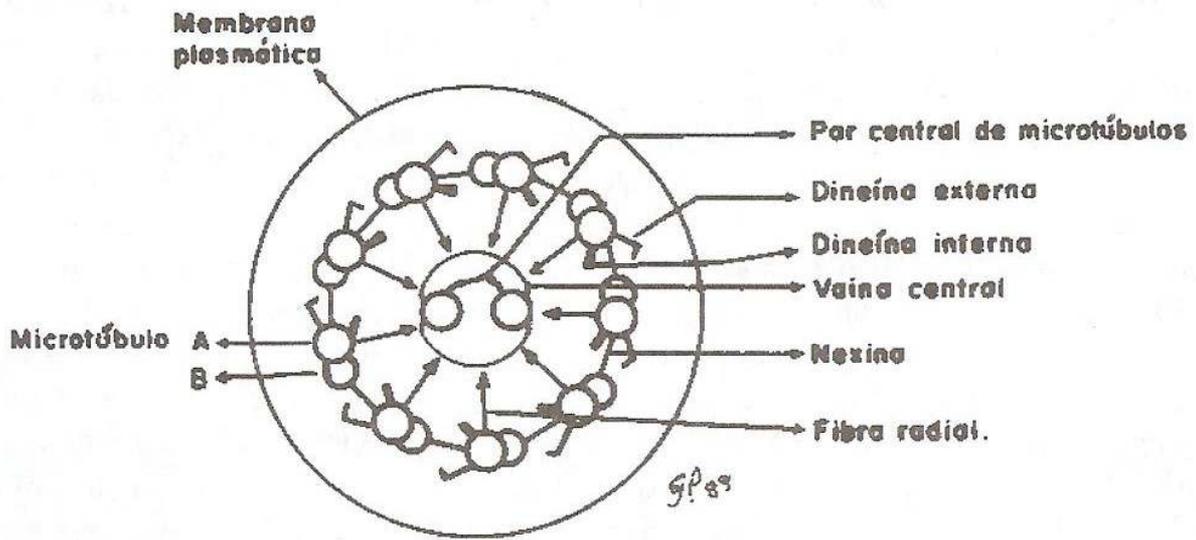


Figura 7.17. Corte transversal de un cilio.

En el corte transversal de un corpúsculo basal o de un centriolo se observa la organización típica de sus microtúbululos: nueve grupos de tres microtúbululos (tripletes) distribuidos de manera regular en el contorno (Fig. 7.18). Las proteínas que parten del microtúbululo A de un triplete se unen al microtúbululo C del triplete vecino, formando así el arreglo cilíndrico hueco del corpúsculo basal o de los centriolos. El cilindro del corpúsculo basal parece cerrado del lado distal, es decir cerca de la base del cilio, por un material denso que forma la **placa terminal** (Fig. 7.18 B). En su lado proximal, el cilindro está abierto hacia el citoplasma o muestra poca acumulación de material (Fig. 7.18 A). En cortes transversales a nivel de la placa terminal se observa a menudo una estructura típica de 9 láminas radiales, que parten del microtúbululo A de cada triplete hacia la masa proteica central (Fig. 7.18 B).

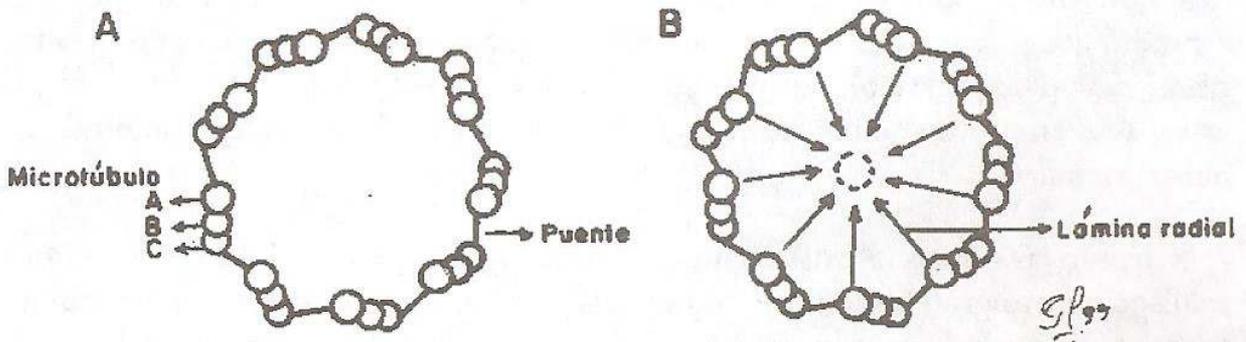


Figura 7.18. Cortes transversales de un corpúsculo basal del axonema de un cilio.

- A. Región central y basal del corpúsculo basal.
- B. Región apical del corpúsculo basal (Baudhuin, 1985).

Los **cilios**, como los de las células epiteliales de la tráquea, y los **flagelos**, como el de los espermatozoides, son proyecciones del citoplasma dotados de movimientos. La distinción entre los dos tipos de estructuras está basada en las características de sus movimientos y en su organización con otros elementos celulares. Los cilios tienen un movimiento de bateo simple y son relativamente cortos. Los flagelos tienen un movimiento hidrodinámico: a veces combina la ondulación con un movimiento giratorio y pueden alcanzar hasta una longitud de varios milímetros. A nivel molecular, el eje central de los dos es el mismo, denominado **axonema**, aunque el flagelo tenga otros componentes que le permiten sus movimientos más complejos, son considerados como equivalentes en las siguientes descripciones (Fig. 7.17). Hay que anotar que los **estéreocilios** de las células del epidídimo, al contrario de su nombre, son simplemente prolongaciones citoplasmáticas que no tienen la capacidad de movimiento como los cilios, porque carecen de una estructura de microtúbulos, pero su eje está constituido por filamentos de actina con una organización aún no determinada.

La estructura de un cilio es muy constante, salvo los cilios de los procarióticos. El eje central del cilio es el axonema, compuesto por los nueve dobletes periféricos y un doblete central de microtúbulos, y está rodeado por la membrana plasmática. El microtúbulo A del axonema del cilio es la continuación del microtúbulo A del corpúsculo basal, lo mismo ocurre con el microtúbulo B; el microtúbulo C del corpúsculo basal se discontinúa a nivel del nacimiento del cilio. El microtúbulo A tiene dos brazos proteicos, que son las **dineínas ciliares** con actividad ATPásica. Cada uno de estos brazos es un complejo proteico de 9 a 12 cadenas polipeptídicas y se denominan según su localización en el cilio; la dineína, que va hacia la membrana plasmática es la exterior y la que se dirige al centro del axonema es la interior (Fig. 7.17). Estas dineínas son diferentes de las dineínas de los microtúbulos lábiles. El microtúbulo A se une con el microtúbulo B del doblete vecino por una proteína fibrilar, la **nexina**, formando uniones permanentes muy elásticas. Alrededor de los dos microtúbulos centrales se encuentra una vaina central, formada por una espiral o por una serie de anillos inclinados. Adicionalmente se encuentran unas fibras radiales que establecen contacto del microtúbulo A con la vaina central, espaciadas en promedio por una longitud de 30 nm a lo largo del eje longitudinal del axonema.

Cuando las células ciliadas terminan la mitosis, los dos centriolos rápidamente se disocian y migran hacia la membrana plasmática, localizándose perpendicularmente a ella y para formar los corpúsculos basales de los cilios; éstos se autoduplican para formar más corpúsculos basales. Los microtúbulos A y B se polimerizan empujando la membrana plasmática hacia el exterior de la célula, formando el axonema. La parte apical del corpúsculo basal, denominada placa terminal da origen a los dos microtúbulos centrales del axonema. Como en toda polimerización de un microtúbulo, la polimerización de estos dos microtúbulos se hace en su

parte distal que es la parte más alejada del corpúsculo basal. Esta polimerización se acompaña también por la organización de las proteínas asociadas al axonema. La longitud del cilio es constante en cada tipo celular, pero su mecanismo de control no se conoce.

7.3. FILAMENTOS INTERMEDIOS

7.3.1. Organización y función

Los filamentos intermedios tienen en promedio de 10 nm de diámetro y están constituidos por proteínas fibrilares entrelazadas, contrariamente a la actina o a los microtúbulos descritos anteriormente. Su nombre intermedio proviene precisamente porque su diámetro se encuentra entre los filamentos de actina y los microtúbulos. Estos filamentos son especialmente abundantes en las células que están sometidas a tensiones mecánicas como los queratinocitos, pero se encuentran en todas las células animales.

Los filamentos intermedios son uno de los componentes más estables de las células y los más insolubles del citosol. Luego de someter una célula a fuerte o débil fuerza iónica o incluso a detergentes no iónicos, siempre quedaba una red fibrilar, que se denominó **citoesqueleto**, antes de relacionar los otros dos tipos de filamentos celulares. Este fue el origen de la palabra citoesqueleto que designaba la red de proteínas fibrilares no solubles. En las células animales una red extensa de filamentos intermedios se extiende alrededor del núcleo hasta la periferia celular donde interactúa con la membrana plasmática (Fig. 7.1 C).

El tamaño de las proteínas fibrilares varía de un tipo a otro de filamento intermedio y el peso molecular aún más, va desde 40 hasta 200 kD. Contrario a la actina-G o a la tubulina α y β , que son proteínas muy conservadas filogenéticamente, el número y la secuencia de las cadenas proteicas de los filamentos intermedios varían mucho según la especie animal y el tipo celular en la misma especie. Los monómeros de los filamentos intermedios son proteínas fibrosas alargadas que tienen tres regiones (Fig. 7.19 A): la cabeza, formada por la región amino terminal; la cola por la región carboxi terminal; y el tallo por la región central de la proteína a modo de varilla.

La región central o tallo consta de una región extensa de α -hélice que contiene largas secuencias de aas repetidos en tándem (4 repeticiones en heptadas) que permiten la formación de dímeros enrollados entre las dos hélices α paralelas. Esta región superenrollada permite la formación y estabilización de los dímeros (Fig. 7.19 B). Regiones superenrolladas se encuentran también en otras proteínas dímeros asociadas a la actina, como la tropomiosina o la α -hélice de las miosinas II. Los dímeros se asocian en tetrámeros antiparalelos (Fig. 7.19 C). Existen

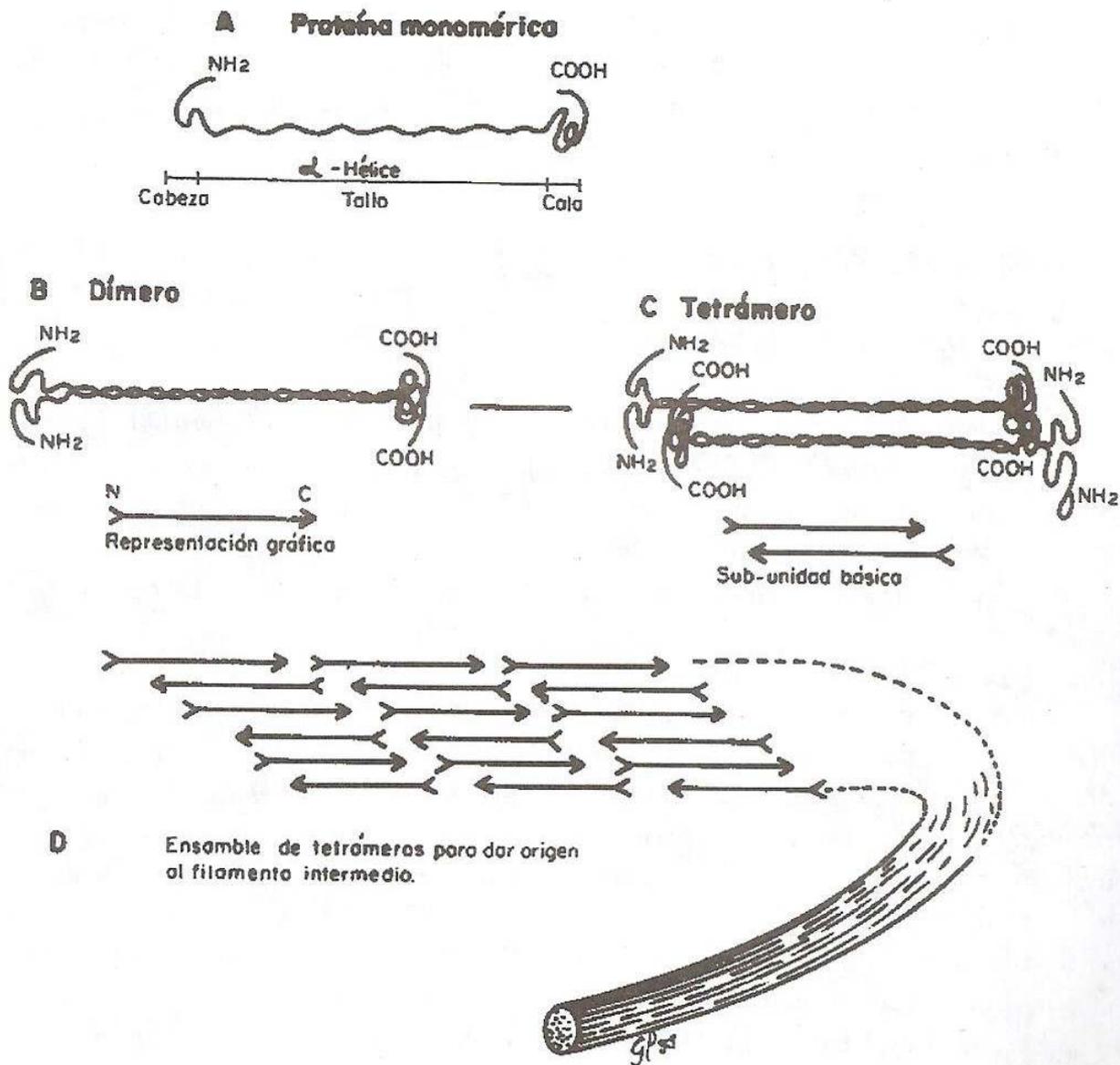


Figura 7.19. Esquema de la organización de los filamentos intermedios.

A. Monómero de un filamento intermedio.

B. Formación del dímero.

C. Ensamblaje del tetrómero por dos dímeros antiparalelos.

D. Modelo de la organización del filamento intermedio (Alberts y col., 1994).

pequeñas cantidades de tetrámeros en el citosol, lo que hace pensar que sean las subunidades necesarias para el ensamblaje de los filamentos intermedios, y además no se encuentran monómeros ni dímeros en el citosol. El hecho de que los tetrámeros sean antiparalelos hace que el filamento no sea una estructura polarizada, es decir que los dos extremos no son polarizados. No se ha podido dilucidar el mecanismo de ensamblaje de los filamentos intermedios (Fig. 7.19 D), pero se piensa que se debe al crecimiento de tetrámeros imbricados a la largo de su eje y de su diámetro, empaçados en patrón de α -hélice. Uno de los mecanismos de

control de ensamblaje se basa en la fosforilación de la serina en el dominio amino terminal de las proteínas. La longitud de los dominios centrales o tallo es de 310 aas en las proteínas de los vertebrados, en los invertebrados se encuentran 42 aas más dando origen a 6 heptadas.

Los filamentos intermedios de las células de los vertebrados se pueden agrupar en cinco tipos, cuatro citoplasmáticos y uno nuclear (Tabla 7.2).

Los tipos I y II se encuentran en las células epiteliales constituidas por las proteínas de queratinas que forman los **filamentos de queratinas**. El tipo I se caracteriza por ser proteínas ácidas, mientras que el tipo II por ser básicas o neutras. Los heterodímeros de los ácidos pueden reaccionar con los básicos o neutros y formar heteropolímeros en igual número de tipo I y II. Una gran variedad de queratinas pueden copolimerizarse en un solo filamento.

El tipo III se denomina también como los filamentos de **vimentina** y sus filamentos relacionados y contiene al menos 4 subtipos. La vimentina es el filamento citoplasmático más ampliamente distribuido, se encuentra en muchas células de origen mesodérmico como los fibroblastos, los glóbulos blancos de la sangre, etc. La **desmina** se encuentra en las células musculares. Las **proteínas fibrilares ácidas** denominadas GFAP (*Glial Fibrillary Acidic Proteins*) y los **filamentos gliales** se encuentran en los astrocitos y en algunas células de Schwann. La **periferina** se localiza en el sistema nervioso periférico. Todas estas proteínas se copolimerizan con la vimentina o entre ellas, pero no con las queratinas.

El tipo IV comprende 3 proteínas que conforman las tres clases de **neurofilamentos**. Las neuronas contienen únicamente los neurofilamentos como filamentos intermedios, que se expresan en diferentes regiones del sistema nervioso y en diferentes estados específicos de su desarrollo. Se designan de acuerdo con su bajo (*Low*), mediano (*Medium*) y alto (*High*) peso molecular como NF-L, NF-M y NF-H respectivamente. También se encuentran en este grupo la α -internexina y la nestina. La última está restringida al cristalino del ojo.

En el núcleo de las células eucarióticas se encuentra una clase especial de filamentos intermedios que no forma fibras, conocido como el tipo V que está conformado por las **láminas nucleares A, B y C** (Tabla 7.2 B). Las láminas tienen un tallo más largo que los monómeros de los filamentos intermedios citosólicos. Las láminas nucleares se organizan en una red muy densa, inmediatamente debajo de la membrana interna, para formar la **lámina nuclear** de la envoltura nuclear (Fig. 7.20 A LN). Por inmunohistoquímica se ha determinado que a partir de la lámina nuclear se irradian láminas hacia el centro del núcleo y alrededor del nucléolo, pero su organización molecular aún no ha sido descrita (Fig. 7.20 A L). La lámina nuclear da soporte a la envoltura nuclear y también a la cromatina condensada cerca de ella y contribuye a la organización espacial de algunos elementos de la maquinaria de la duplicación del ADN.

Tabla 7.2. Principales filamentos intermedios (FI) en las células de los vertebrados.

Tipo de FI	Polipéptidos	Células donde predominan
A. Citoplasmáticas.		
Tipo I	Queratinas ácidas (40 a 70 kD)	Células epiteliales y sus derivados.
Tipo II	Queratinas básicas o neutras (40 a 70 kD)	Células epiteliales y sus derivados.
Tipo III	Vimentina (54 kD.)	Células mesenquimatosas, fibroblastos, glóbulos blancos.
	Desmina (53 kD)	Músculo.
	Proteína fibrilar ácida (50 kD)	Astroцитos y células de Schwann.
	Periferina (66 kD)	Neuronas del SNP.
Tipo IV	NF-L, NF-M y NF-H (60 a 130 kD)	Neuronas.
B. Nucleares.		
Tipo V	Laminas A, B y C (65 a 75 kD)	Núcleo de las células.
	a-internexina	
	Nestina	Cristalino.

SNP: sistema nervioso periférico; NF: neurofilamento; kD: peso molecular en kilodaltons.

A diferencia de las proteínas de los filamentos intermedios citoplasmáticos, las laminas sufren varias modificaciones luego de la síntesis proteica en el extremo carboxi terminal como la isoprenilación de una cisteína, la remoción de 3 aas y la ometilación de la cisteína terminal. La metilación de la cisteína da un carácter hidrofóbico a la lamina que le permite relacionarse con la membrana interna de la envoltura nuclear. Otra diferencia es la presencia de una señal de localización nuclear en las tres laminas.

En las células de los mamíferos los filamentos de laminas son homólogos a los filamentos intermedios del citoplasma, pero difieren en cuatro aspectos: 1. su región central es más larga; 2. se desorganizan cuando se fosforilan por quinasas; 3. se ensamblan en un plano formando una malla laminar y no un filamento, permitiendo la asociación con muchas otras proteínas del núcleo; y 4. son más dinámi-

cos que otros filamentos intermedios. Las láminas se desensamblan rápidamente al iniciarse la mitosis por la fosforilación de algunas serinas de las láminas A y C y desfosforilación de la lámina B. El reensamblaje ocurre igualmente rápido al desfosforilarse las serinas de las láminas A y C por la fosforilación de la lámina B cuando se termina la mitosis.

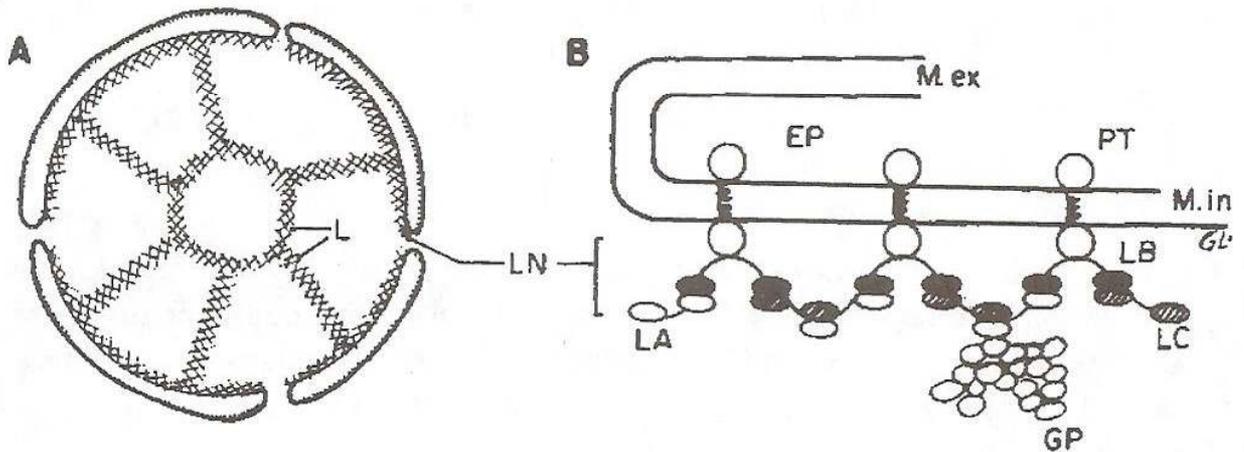


Figura 7.20. Esquema de la organización de las laminas nucleares.

A. Distribución de las láminas en la lámina nuclear y el resto del núcleo.

B. Organización molecular de las láminas en la lámina nuclear.

LN: lámina nuclear; L: distribución de láminas en la matriz nuclear; LA: lámina A; LB: lámina B; LC: lámina C; PT: proteínas transmembranas; Mex: membrana externa de la envoltura nuclear; Min: membrana interna de la envoltura nuclear; EP: espacio perinuclear; GP: gránulos de heterocromatina.

Los filamentos intermedios, para proveer la estabilidad mecánica a la célula, entran en relación con otros componentes celulares por sus extremos amino y carboxi terminales (Fig. 2.7). Estos dos extremos están íntimamente involucrados en sus organizaciones y en sus interacciones. Además, las funciones de los tres tipos de filamentos del citoesqueleto son reforzadas por la interacción entre ellos mismos. Por ejemplo, las proteínas MAP-2, especialmente la *tau* de los microtúbulos, permiten la interacción entre los microtúbulos y los filamentos intermedios y así estabilizan más el citoesqueleto. Los filamentos de actina también entran en relación con los filamentos intermedios en la corteza celular y en las regiones implicadas en las uniones celulares como en los desmosomas de banda. De otra parte, existen otras proteínas que cooperan con las proteínas motoras de los microtúbulos y de los filamentos de actina.

7.3.2. Proteínas asociadas a los filamentos intermedios

Hay una serie de proteínas asociadas a los filamentos intermedios, genéricamente llamadas Proteínas Asociadas a los Filamentos Intermedios (PAFI). Las PAFI están implicadas en la organización supramolecular de la red de los filamen-

tos intermedios y se relacionan con los filamentos de actina y con los microtúbulos. Las PAFI han sido identificadas y clasificadas por sus funciones gracias a los estudios de inmunofluorescencia, pero son todavía escasos los datos sobre los mecanismos moleculares de interacción con los filamentos intermedios.

Se pueden clasificar las PAFI de acuerdo con sus funciones como sigue:

1. Las PAFI de bajo peso molecular intervienen en la formación de gruesos paquetes de filamentos. Éstas conforman tres familias de proteínas: las ricas en sulfuros, las ricas en cisteína-tirosina y las filagrinas.
2. Las PAFI de alto peso molecular interconectan los filamentos intermedios con otros componentes celulares. Éstas permiten aflojar la red de filamentos intermedios en la célula. Por ejemplo, la siremina y la paranemina permiten la relación de los filamentos intermedios con las proteínas MAP-1 y -2 de los microtúbulos.
3. Las PAFI que forman una coronilla en los extremos de los filamentos intermedios: la espectrina y la anquirina en los glóbulos rojos; la desmoplaquina en los desmosomas y hemidesmosomas. En esta familia, la BPAG1n (*bullous pemphigoid antigen and the neuronal form*) en el hombre, y su homóloga la distonsina en los ratones están localizadas en la placa proteica de los hemidesmosomas y conectan la red de los filamentos de queratinas con la membrana basal.
4. La plectina es una PAFI esencial en la unión entre los filamentos intermedios y los microtúbulos, la miosina y la actina. Es extremadamente grande, con un peso molecular mayor a 500 kD. Se la encuentra en los filamentos de vimentina decorándolos con sus proyecciones; forma puentes de plectina entre los filamentos intermedios y los microtúbulos; une los paquetes de filamentos de actina a los filamentos intermedios y en células en cultivo se asocia a los filamentos de miosina. Durante la división celular se une a la lámina B e interviene en la desorganización de la envoltura nuclear.
5. Las PAFI cuyas funciones no se conocen aún, como la epinemina y la β -internexina de las células epiteliales.

Estudiar la dinámica de los filamentos del citoesqueleto ha sido y es una tarea muy ardua, debido a que las pequeñas modificaciones y el control molecular de éstas no se pueden “visualizar” en las células *in vivo*. Un factor que dio más importancia al conocimiento de los elementos del citoesqueleto es el hecho de que una de las primeras modificaciones de una célula cancerosa es la desorganización de su citoesqueleto (Ver 7.5).

7.4. INTERACCIÓN DEL CITOESQUELETO CON LA MATRIZ EXTRACELULAR

El citoesqueleto interviene en la interacción de las células con células vecinas y con la matriz extracelular (MEC), como se mencionó en la adhesión celular (Ver 2.1.2.2). El citoesqueleto se relaciona directamente con las integrinas de la membrana plasmática para interactuar indirectamente con los elementos de la matriz extracelular (Ver 2.2.2, Fig. 2.16). La interacción de los elementos del citoesqueleto con las integrinas induce una serie de respuestas celulares muy complejas. Dentro de estas interacciones la más conocida es la de los filamentos de actina con las integrinas cuya investigación se dirige principalmente hacia la elucidación de sus mecanismos moleculares *in vivo* e *in vitro*. Las interacciones de los filamentos de actina con los elementos de la MEC, de una parte, median la adhesión celular generando tensiones mecánicas entre las células, y de otra parte, inducen señales intracelulares que participan en la regulación del crecimiento y mantenimiento celular.

La interacción de las integrinas de la membrana plasmática con elementos de la MEC induce cambios de fuerzas y tensiones celulares que intervienen en la organización de la placa de adhesión al soporte o de la adhesión celular a la MEC. Los cambios de fuerzas y tensiones que ocurren en el interior de la célula modifican también la organización de los elementos de la MEC. De esta manera existe una interdependencia o interacción entre los filamentos de actina y los elementos de la MEC mediadas por las integrinas que relacionan los cambios mecánicos del citoesqueleto con los de la MEC y viceversa. La tabla 7.3 resume los componentes que intervienen generalmente en las adhesiones celulares.

Las interacciones más espectaculares entre los elementos del citoesqueleto y de la MEC se encuentran en las células musculares. Efectivamente, el conjunto de las fuerzas de las células se unen en un músculo y son transferidas por intermedio de los tendones a los huesos que se mueven generando grandes cantidades de fuerzas mecánicas en los seres humanos, en elefantes, etc.

Una estructura muy estudiada que genera tensiones celulares es la placa de adhesión que se forma en las células cultivadas para adherirse al soporte (Figs 2.17 y 7.10). En la organización de la placa de adhesión intervienen los filamentos de actina unidas a muchas otras moléculas citosólicas (la α -actinina, la vinculina, la paxilina, la tenasina, etc.), las integrinas de la membrana plasmática y moléculas de la MEC (Fig. 7. 21).

Tabla 7.3. Lista de los componentes que intervienen en la adhesión celular.

MEC	Membrana plasmática	Citosol		
		Estructural	Enzimas	Otros
vitronectina	integrinas	actina	FAK	paxilina
fibronectina	sindecan IV	α -actinina	<i>src</i>	zixina
heparina	dístroglicano	fimbrina	<i>grb2</i>	foculina
sulfatos		filamina	<i>fgr</i>	tenuin
proteoglicanos		miosinas	<i>csk</i>	
		tenascina	PKC	
		dístrofina	MAPK	
		vinculina	<i>crk</i>	
		talina	PI3K	
		radixina	PIP-5K	
		ezrina	<i>syk</i>	
		moezina	<i>rho</i>	
		VASP	C3G y SOS	

VASP: Proteína rica en prolina que se une a la profilina en los contactos focales; FAK: proteína quinasa de adhesión focal; *src*: proteína quinasa del sarcoma de Rous tirosina específica; *grb2*: proteína adaptadora con dominios SH2 y SH3 que se une a receptores de la matriz extracelular; *ras*: proteína G monomérica; *fgr*: proteína quinasa tirosina específica; *csk*: proteína quinasa tirosina específica; PKC: proteína quinasa calcio dependiente; MAPK: proteína quinasa de las proteínas activadas por mitógenos; *crk*: proteína adaptadora con dominios SH2 y SH3; PI3K: quinasa lipídica específica del fosfatidil inositol; PIP-5K: quinasa específica para el fosfato 4 del monofosfatidil inositol; *syk*: proteína quinasa tirosina específica de células hematopoyéticas activada por integrinas β 1 y 2; *rho*: proteína G esencial en la formación de adhesiones focales y la organización de las fibras de tensión de actina; C3G y SOS: proteínas que intercambian el nucleótido guanina de proteínas G específicas de las placas de adhesión.

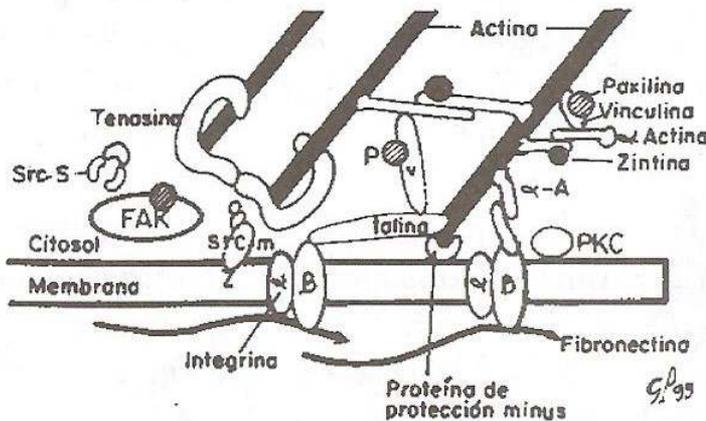


Figura 7.21. Esquema de la organización de una placa de adhesión.

La α -actinina organiza los filamentos de actina en paquetes paralelos entre ellos. La paxilina y la zixina estabilizan a la α -actinina. La talina se une a la integrina y a la vinculina. Las proteínas de protección del extremo *minus* y la tenascina estabilizan los filamentos de actina. Las integrinas se unen a elementos de la MEC como la fibronectina y al complejo del citoesqueleto como la talina y la α -actinina. La FAK es activada por las integrinas o la paxilina. Las *src* solubles (*Src-S*) o de la membrana plasmática (*Src-m*) son activadas por las integrinas o las paxilinas. La FAK, la *src*, la PKC y la *ras* intervienen en la mecanotransducción.

Src: proteína tirosina quinasa específica; FAK: proteína quinasa de adhesión focal; PKC: proteína quinasa calcio dependiente; v: valina; α -A: α -actinina; α y β : sub-unidades de la integrina; P: paxilina.

Los filamentos de actina interactúan también *in vivo* con las mismas moléculas que en las placas de adhesión, pero su organización detallada no se ha descrito, pues varía mucho en los diferentes tejidos y aún en las células de un mismo tejido. Además estas interacciones son reguladas por las señales del medio y de la matriz extracelular. En las células existe siempre un balance de las fuerzas internas y externas que determina la forma de la membrana plasmática y por ende la forma celular.

Las tensiones mecánicas no sólo afectan la forma de la membrana plasmática y de la célula sino también la actividad de mensajeros intracelulares por un mecanismo denominado **mecanicotransducción** de señales. Este mecanismo interviene en los fenómenos del tacto, auditivos y quinestésicos (Fig. 2.6 D). Este tipo de transducción es diferente de la transducción de señales de mediadores solubles que se unen a los receptores de membrana o del citosol (Ver capítulo 3).

En las placas de adhesión las integrinas y la paxilina transmiten las señales de estimulación mecánica activando proteínas quinasas y proteínas G monoméricas, realizando así la mecanicotransducción. Una de las proteínas quinasas de la placa de adhesión que es activada por las integrinas y la paxilina es la proteína quinasa de adhesión focal (FAK) (Fig. 7.21 FAK). La proteína FAK se activa por fosforilación y sobre ella se forma un complejo proteico donde se activan las PKT como *src* y *syk* y *csk* (Fig. 7.21 *src-s* y *src-m*), las GNRF y las proteínas G monoméricas *rho* y *ras*, desencadenando la respuesta celular al estímulo mecánico. En esta respuesta celular interviene también las PCK que son activadas por las integrinas (Fig. 7.21 PKC). La respuesta puede ser, entre otras, la estimulación de la cascada de las quinasas mitogénicas que inducen la proliferación celular.

7.5. PATOLOGÍA

La importancia fisiológica de los sistemas contráctiles a nivel celular hace que muy pocas anomalías primarias sean conocidas.

Una patología de la movilidad celular en el hombre es el **síndrome del defecto de movilidad de los cilios**. En este caso los cilios y flagelos están completamente desprovistos de movimiento, o bien presentan un movimiento ligero y asincrónico. Es una enfermedad rara pero sobrelleva a la esterilidad en el varón, y en general quienes sufren de esta enfermedad están sujetos a infecciones respiratorias crónicas, debidas directamente al defecto del movimiento de los cilios de los epitelios que recubren las vías respiratorias. A nivel molecular el defecto tiene varias causas: pueden faltar los brazos internos o externos de las dineínas, o los dos a la vez; o pueden también faltar las fibras radiales en los axonemas, ya sea de la vaina central, de uno o de los dos microtúbulos centrales. Hay que anotar que no es una anomalía directa de las tubulinas, lo que tendría una gran repercusión en la división celular.

Se ha sugerido que las diferentes deformaciones patológicas de los glóbulos rojos están unidas a las anomalías de las proteínas particularmente de la actina o de las proteínas asociadas a los filamentos de actina.

Se conocen varias **modificaciones del citoesqueleto en las células cancerosas**. Los estudios del citoesqueleto de las células cancerosas por inmunofluorescencia demostró la desorganización de sus filamentos de actina y de sus microtúbulos y una distribución diferente de sus filamentos intermedios. Estas mismas modificaciones se reproducen en las células transformadas en cultivo.

Las modificaciones de los **filamentos de actina** en las células cancerosas o en las transformadas han sido las más estudiadas y se conocen mejor que las de los otros dos filamentos del citoesqueleto. La característica de las células cancerosas es la desorganización total de los filamentos de actina. En las células cancerosas la vinculina, o la proteína p36 son fosforiladas anormalmente por una PKT alterada, la proteína oncogénica *src*. (Ver capítulo 10). Normalmente, la vinculina relaciona los filamentos de actina con los receptores de la matriz extracelular y la p36 se localiza en las microvellosidades de los enterocitos. Sus fosforilaciones impiden la organización y la relación normal de los filamentos de actina con la membrana y la adhesión de la membrana plasmática a la matriz extracelular. La inhibición de la adhesión celular aumenta porque se encuentran fosforiladas las integrinas o los receptores de la matriz extracelular. La fosforilación de estos receptores libera los filamentos de actina unidos por intermedio de la talina, la vinculina, la α -actinina a la membrana plasmática de las placas de adhesión (Figs. 7.10 y 7.21). Esto explica la desorganización de los filamentos de actina en las células cancerosas y transformadas en cultivo. Otras proteínas quinasas tirosina específicas como *yes* y *abl* con actividad anormal en las células cancerosas que podrían fosforilar otras proteínas que impiden la adhesión de estas células a la MEC o al soporte de cultivo.

En las células cancerosas, además de la desorganización de sus filamentos de actina, se encuentran agregados de estos filamentos en el citosol en forma de S o de C. Esos agregados a veces se asocian a la vinculina o a la talina, pero no se organizan en placas de adhesión.

Otra modificación significativa de los filamentos de actina es la síntesis de una actina-G con actividad de proteína quinasa tirosina específica, codificada por el gen *fgr* mutado. Esta actina-G, cuando se polimeriza, da al filamento una configuración de β -hélice. Su actividad de proteína quinasa y su configuración anormal pueden intervenir en la desorganización de los filamentos de actina.

Los **microtúbulos** en las células neoplásicas son reducidos y presentan una desorganización. Las células normales tienen el doble de tubulinas que las células transformadas o cancerosas. Las células transformadas tienen el doble de calmodulina, pero no se conoce su significado.

Otra modificación en las células transformadas es la fosforilación de las tirosinas de las MAP-2 que impide la interacción de los microtúbulos con los filamentos intermedios. Esta pérdida de interacción induce la concentración de los filamentos intermedios en la región perinuclear de las células cancerosas.

Paradójicamente, en la mitosis de las células cancerosas se mantiene cierto control en el funcionamiento del huso mitótico, pero se presentan mitosis anormales con más frecuencia que en los tejidos normales; esto se traduce en varias anomalías en el cariotipo. Lo anterior indica también cierta anomalía del aparato mitótico.

En general, las características ultraestructurales e inmunológicas de los **filamentos intermedios** se conservan durante la transformación neoplásica de las células *in vivo*, lo que permite a menudo el diagnóstico del origen de un tumor poco diferenciado. Los carcinomas son caracterizados por las queratinas, los sarcomas del músculo por la vimentina, los sarcomas no musculares por la desmina, los gliomas por las proteínas fibrilares ácidas y los tumores de origen nervioso por los neurofilamentos.

La diferencia entre las células normales y neoplásicas se encuentra a veces en el nivel de expresión de las proteínas de los filamentos intermedios. En algunos carcinomas se encuentran más queratinas de tipo I que del tipo II, y en otros lo contrario.

En cultivo las células cancerosas o transformadas pueden expresar diferentes filamentos intermedios al contrario de las células normales. Por ejemplo, las células del carcinoma sintetizan las queratinas y vimentina que se asocian. Esta expresión mixta de filamentos intermedios se encuentra también en las líneas celulares establecidas.

NOTA: Parte de este capítulo fue publicado en: Spinel, C. & I. Yildiz. Citoesqueleto y motilidad celular. Rev. Asoc. Col. Cienc. Biol., 9 (1-2): 99 - 125, 1995. Obtuvo el Primer premio de la comisión: Ciencias Básicas Médicas en el XXX Congreso Nacional de Ciencias Biológicas, Bogotá, 1995.

7.6. BIBLIOGRAFÍA

- Chicurel, M.A., C.S. Chen & D.E. Ingber. *Cellular control lies in the balance of forces.* Curr. Opin. Cell Biol., 10:232 -239, 1998.
- Burrige, K. & M. Chrzanowska-Wodnicka. *Focal adhesions, contractility, and signaling.* Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 12: 463 - 419, 1996.
- David-Pfeute, T. & Y. Nouvian-Dooghe. *Immunolocalization of the cellular src protein in interphase and mitotic NIH c-src overexpresser cells.* J. Cell Biol., 111: 3097 - 3116, 1990.
- Drubin, D. & N. Hirokawa. *Cytoskeleton. Editorial overview.* Curr. Opin. Cell Biol., 10:13 -15, 1998.
- Fantl, W.J., D.E. Johnson D.E. & L.T. Williams L.T. *Signalling by receptor tyrosine kinases.* Annu. Rev. Biochem., 62: 453 - 481, 1993.
- Fawcett, D. *Tratado de histología.* 11a ed. Ed. Interamericana, México, 1987.
- Glover, D.M., C. Gonzalez & Raff J.W. : *The centrosome.* Sci. Ame., Junio, 62-68, 1993.
- Goldman, R.D. *The use of meromyosin binding as an ultrastructural cytochemical method for localizing and determining the possible function of actin-like microfilaments in normal nonmuscle cells.* J. Histoche. Cytoche., 23: 529 - 541, 1975.
- Goldman, R.D., A. Goldman, K. Green, J. Jones, N. Lieska & H-Y. Yang. *Intermediate filaments: possible functions as cytoskeletal connecting links between the nucleus and the cell surufece.* Ann, NY Acad. Sci., 455: 1 - 17, 1985.
- Houseweart, M,K, & D.W. Cleveland. *Intermediate filaments and their associated proteins: multiple dynamic personalities.* Curr. Opin. Cell Biol., 10: 93 -101, 1998.
- Howe, A., A.E. Aplin, S.K. Alahari & R.L. Jiliano. *Integrin signaling and cell growth control.* Curr. Opin. Cell Biol., 10:220 -231, 1998.
- Joshi, H.C. *Microtubule dynamics in living cells.* Curr. Opin. Cell Biol., 10: 35 -44, 1998.
- Lazarides, E. *Immunofluorescence studies on the structure of actin filaments in tissu culture cells.* J. Histoche. Cytoche., 23: 507 - 528, 1975.
- Lazarides, E. *Tropomyosin antibody: the specific licalization of tropomyisin in nonmuscle cells.* J. Cell Biol., 65: 549 - 561, 1975.
- Lazarides, E. *Actin, α -actinin and tropomyosin interaction in the structural organization of actin filaments in nonmuscle cells.* J. Cell Biol., 68: 202 - 219, 1976.
- Lazarides, E. & J.P. Revel. *Inmunofluorescences studies on the structure of actin filaments in culture cells.* J. Histoche. Cytoche., 23: 507 - 528, 1979
- Lippicott-Schwartz, J. *Cytoskeletal proteins and Golgi dynamics.* Curr. Opin. Cell Biol., 10:52 -59, 1998.
- Lo, S.H. & J.B. Chen. *Focal adhesion as a signal transduction organelle.* Cancer and metastasis review, 13: 9 - 24, 1994.
- Milam, S.B., Ch. Haskin, G. Zardeneta, D. Chen, V.L. Magnuson & R.J. Klebe. *Cell adhesion proteins in oral biology.* Crit. Rev. Oral Biol. Med., 2 (4): 451 - 491, 1991.

- Puius, Y.A., N.M. Mahoney & S.C. Almo. *The modular structure of actin-regulatory proteins*. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 10:23 -34, 1998.
- Salmon, E.D. & Way M. *Cytoskeleton*. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 11:1-158, 1999.
- Scholey, J.M., J. Heuser, J.T. Yang & S.B. Goldstein. *Identification of globular mechanochemical heads of kinesin*. *Nature*, 338: 355 - 357 (erratum 666), 1989.
- Spinel, C. & I. Yildiz. *Citoesqueleto y motilidad celular*. *Rev. Asoc. Col. Cienc. Biol.*, 9 (1-2): 99 - 125, 1995.
- Steinert, P.M. & R.K.H. Liem. *Intermediate filaments dynamics*. *Cell*, 60: 521 - 523, 1990.
- Steinert, P.M. & D.R. Roop. *Molecular and cellular biology of intermediate filaments*. *Ann. Rev. Biochem.*, 57: 593 - 625, 1988.
- Stossel, T. *El deslizamiento celular*. *Investigación y Ciencia*, 218: 40 - 47, 1994.
- Taylor, D.L. & J.S. Condeelis. *Cytoplasmatic structure and contractility ameboid cells*. *Int. Rev. Cyt.*, 56: 57 - 134, 1979.
- Timpl, R. & J.C. Brown J.C. *The laminins*. *Matrix Biol.*, 14: 275 - 281, 1994.
- Vale, R.D. & R.J. Fletterick. *The design plan of kinesin motors*. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 13: 745 - 777, 1997.
- Weber, K. & U. Groeschel-Stewart. *Antibody to myosin the specific visualization of myosin-containing filaments in non muscle cells*. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 71: 4561 - 4564, 1974.
- Weber, K., R. Pollack & T. Bibring. *Antibody againts tubuline; the specific visualization of cytoplasmic microtubules*. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 72: 459 - 463, 1975.
- Weiss, A. & L.A. Leinwand. *The mammalian myosin heavy chain gene family*. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 12: 417 - 439, 1996.