

## Transporte a través de membranas

Hilda Nora Jaramillo, MD, MSc<sup>1</sup>, Pablo J. Patiño, MD, MSc, DSc<sup>2</sup>, Mónica Lucía Giraldo, MSc, PhD<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Fisiología y Bioquímica, <sup>2</sup> Grupo de Inmunodeficiencias primarias

Facultad de Medicina, Corporación Biogénesis.

Universidad de Antioquia

### Introducción

La mayoría de las sustancias presentes en los sistemas biológicos poseen gran solubilidad en los solventes polares (agua) y poca solubilidad en solventes no polares (lípidos). Gracias a esto, las membranas celulares constituyen una barrera que limita el paso de dichas sustancias, lo cual es fundamental para la existencia de sistemas vivos pues de esta manera se crea un ambiente único y propicio para el funcionamiento bioquímico de dichos sistemas biológicos. La barrera que establece la membrana plasmática entre el citoplasma y el líquido extracelular mantiene las diferencias de concentración a ambos lados de ella (Figura 1); la compartimentalización de los procesos celulares es consecuencia, igualmente, de la barrera de permeabilidad que constituyen las membranas celulares internas.

De acuerdo a lo anterior, el paso de sustancias a través de las membranas biológicas, a velocidades específicas y controladas, es de importancia vital para que se cumplan la mayoría de los procesos celulares. Los mecanismos implicados en este paso de moléculas a través de la membrana celular se clasifican, en términos generales, en dos grandes grupos: *transporte pasivo* y *transporte activo* (Figura 2).

El transporte pasivo se efectúa a favor de un gradiente, ya sea de concentración, eléctrico o electroquímico, y

por lo tanto no requiere de un consumo directo de energía; pertenecen a este tipo de transporte: 1) *la difusión*, que es el paso de los solutos liposolubles a través de la membrana celular, gracias a que se solubilizan en ella; 2) *la difusión facilitada*, o transporte mediano, que es paso de un soluto hidrosoluble, a través de la membrana celular, ayudado o facilitado por diferentes proteínas, y 3) *la ósmosis* que es el paso del solvente, el agua, a través de la membrana celular como consecuencia de diferencias en la concentración de solutos. El transporte activo, para los solutos hidrosolubles, por el contrario se efectúa en contra de gradientes; en consecuencia, requiere de aporte de

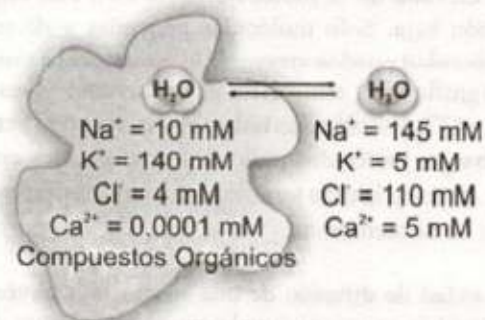


Figura 1. La membrana plasmática establece una barrera entre el medio extracelular y el citosol, la cual gracias a su permeabilidad diferencial permite que se mantengan concentraciones diferentes de las distintas moléculas que hacen parte de los sistemas biológicos, en particular de iones y compuestos orgánicos.

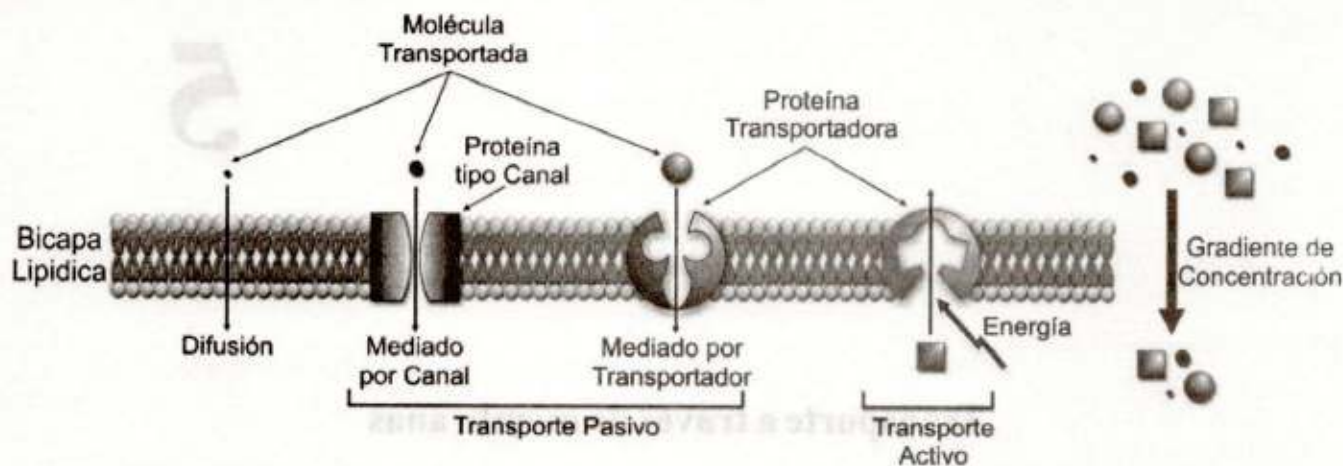


Figura 2. Los mecanismos de transporte pasivo y activo permiten el paso de sustancias a través de la bicapa lipídica, a velocidades específicas y controladas. El transporte pasivo, el cual procede de maneras diferentes, se realiza gracias a un gradiente de concentración, mientras que el activo ocurre en contra de ese gradiente y por tanto implica consumo de energía.

energía. El transporte activo se subdivide en *transporte activo primario* – obtiene la energía a partir de la hidrólisis del ATP – y *transporte activo secundario* – no requiere de la hidrólisis del ATP –.

## Difusión

La difusión es el paso de las moléculas del soluto a través de las membranas que separan las dispersiones, de esta manera se tiende a igualar las concentraciones de las sustancias que difunden a ambos lados de la membrana. Aunque existen diferentes formas para la difusión, el mecanismo más simple para atravesar la membrana plasmática es el de la difusión pasiva. Durante esta difusión pasiva una molécula se disuelve en la bicapa de fosfolípidos, se difunde a través de ella y luego se disuelve en la solución acuosa al otro lado de la membrana. Este flujo de las moléculas siempre ocurre a favor del gradiente de concentración – desde un compartimiento con una concentración elevada de la molécula hacia otro con una concentración baja. Solo moléculas pequeñas y de relativa hidrofobicidad pueden atravesar la membrana a una velocidad significativa, entre éstas se encuentran gases como  $O_2$ ,  $N_2$ , y  $CO_2$  y moléculas hidrofóbicas como el benceno; sin embargo, moléculas polares pequeñas tales como el  $H_2O$ , el etanol y la urea también se difunden pasivamente a través de la membrana.

La velocidad de difusión de una sustancia a través de la bicapa lipídica es proporcional tanto a su gradiente de concentración entre los dos espacios de la membrana como a su hidrofobicidad. Estos factores se pueden representar de manera matemática mediante la ecuación de Fick:

Donde  $J$  es la velocidad neta de difusión por unidad de tiempo (flujo),  $D$  es el coeficiente de la difusión,  $A$  es la superficie y  $dc/dx$  es el gradiente de concentración. El coeficiente de difusión ( $D$ ) se expresa en  $cm^2/s$  y corresponde a la velocidad con la cual la molécula que difunde puede moverse en el medio que la rodea.  $D$  es más pequeño cuanto más grande sea la molécula y cuanto más viscoso sea el medio. La difusión es un proceso rápido cuando la distancia que se va a recorrer es corta; en cambio, es un proceso relativamente lento si esta distancia es grande (Figura 3). Debido a que la región hidrofóbica de una membrana celular es 100 – 1000 veces más viscosa que el agua, la velocidad de difusión de todas las moléculas a través de la bicapa lipídica es mucho menor que la velocidad de difusión de la misma molécula en agua; esto hace que dicha región hidrofóbica sea la limitante principal para la difusión pasiva a través de las membranas celulares.

Las moléculas liposolubles se disuelven en la membrana plasmática y de esta manera se difunden a través de ella. Considerando esta situación, si la sustancia se equilibra en el lado externo de la doble capa lipídica, su concentración allí está dada por  $BC_e$ , donde  $B$  es el *coeficiente de partición* y  $C_e$  la concentración en el lado externo. Su concentración en lado interno será  $BC_i$ . La diferencia de concentraciones dentro de la membrana será  $(\Delta C_m / \Delta x, B(C_e - C_i))$  y el coeficiente de difusión que describe el proceso es:

$$\frac{\Delta C_m}{\Delta x} = B \left( \frac{C_e - C_i}{\Delta x} \right)$$

El coeficiente de partición de una sustancia está dado por el coeficiente entre su solubilidad en aceite de oliva y su solubilidad en agua. Para compuestos con el mismo co-

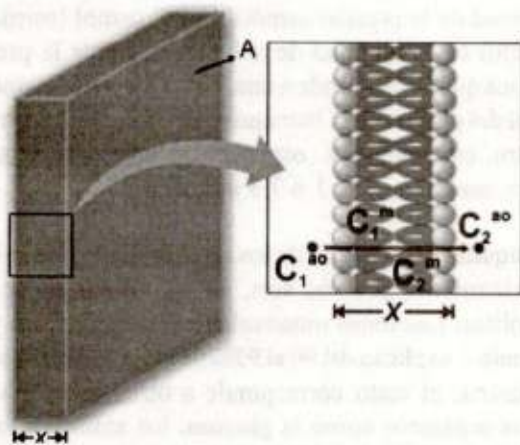


Figura 3. Durante la difusión pasiva una molécula ( $C_1$ ) se disuelve en la bicapa de fosfolípidos ( $C_{1m}$ ), se difunde a través de ella ( $C_{2m}$ ) y luego se disuelve en la solución acuosa al otro lado de la membrana ( $C_2$ ). La velocidad de esta difusión depende entre otros factores de la distancia que debe recorrer la molécula ( $X$ ): a mayor distancia la velocidad de difusión se hace menor.

eficiente de partición, la permeabilidad disminuye a medida que aumenta el peso molecular del compuesto. Cuando más liposoluble sea una sustancia, mayor será el valor de  $B$  y también lo será el gradiente de concentración dentro de la membrana. El flujo será:

$$J = -DA \frac{\Delta C_m}{\Delta x} = DBA \left( \frac{C_e - C_i}{\Delta x} \right)$$

Donde:  $DB/\Delta x$  es una constante para cada sustancia y para cada membrana en particular y se llama *Coefficiente de Permeabilidad*. Las unidades del coeficiente de permeabilidad se dan en cm/s.

Las moléculas hidrosolubles pequeñas y sin carga eléctrica como las mencionadas antes, atraviesan las membranas celulares más rápidamente de lo que predice su simple solubilidad en lípidos. Por su parte, moléculas hidrosolubles pequeñas con carga eléctrica poseen una baja permeabilidad en las membranas celulares. Además a medida que aumenta el tamaño de las moléculas hidrosolubles su permeabilidad a través de las membranas celulares disminuye, de manera que la mayoría de las membranas son impermeables a moléculas hidrosolubles con pesos moleculares mayores de 200 Da. En consecuencia, sustancias tales como los carbohidratos, los aminoácidos y ciertos iones no se difunden a través de la membrana y requieren mecanismos especiales para su paso. Gran parte del transporte iónico que se lleva a cabo a través de las membranas biológicas ocurre merced a la existencia de canales proteicos que atraviesan todo el espesor de la bicapa lipídica (Figura 2). Algunos de estos

canales son específicos para un ion determinado, mientras que otros permiten el paso de más de un ion.

### Energía para la difusión

No existe un gasto de energía metabólica para la difusión pues esta ocurre gracias a un gradiente de concentración química, esto hace que este tipo de transporte tenga un valor positivo de  $\Delta S$  (aumento de la entropía) y negativo de  $\Delta G$  (disminución de la energía libre).

El cambio de energía libre cuando un soluto atraviesa la membrana, ya sea solubilizándose o a través de ella, depende principalmente del gradiente de concentración; esto es, la diferencia de concentración a ambos lados de la membrana (Figura 4). Lo anterior puede expresarse mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta G = RT \ln \frac{C_i}{C_o}$$

Donde  $\Delta G$  es el cambio en la energía libre,  $R$  es la constante universal de los gases,  $T$  es la temperatura absoluta,  $\ln$  es el logaritmo natural y  $\frac{C_i}{C_o}$  es la diferencia de concentración a ambos lados de la membrana.

Cuando el soluto es un electrólito, el gradiente eléctrico, de potencial o de voltaje, determina también el paso del soluto y el cambio en la energía libre está dado por:

$$\Delta G = RT \ln \frac{C_i}{C_o} + ZF\Delta E_m$$

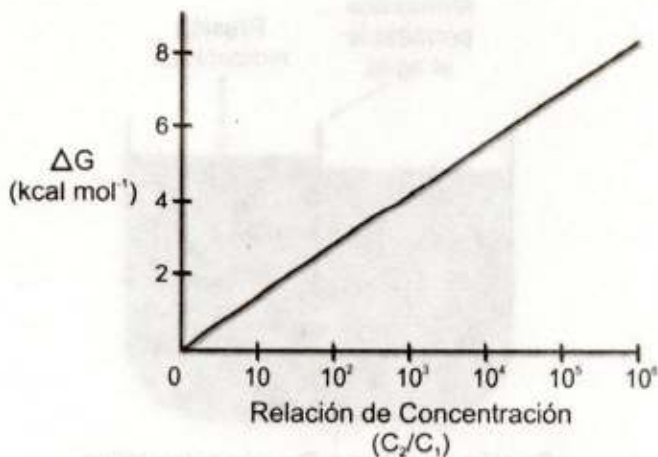


Figura 4. El gradiente de concentración de una sustancia o sea la diferencia de concentración a ambos lados de la membrana plasmática es el que determina la facilidad con la que un soluto atraviesa dicha membrana: a mayor gradiente de concentración mayor será el cambio de energía libre y por tanto la difusión tiende a suceder con mayor facilidad.

Donde  $Z$  es la carga del soluto,  $F$  es la constante de Faraday (23,06 Kcal/vol-Eq),  $T$  es la temperatura absoluta,  $\ln$  es el logaritmo natural y  $\Delta E_m$  es la diferencia de potencial entre los dos compartimentos.

## Osmosis

Osmosis es el movimiento de agua desde una región de baja concentración hacia otra con concentración elevada de solutos. Como se mencionó antes, las bicapas de fosfolípidos son semipermeables al agua, lo cual permite que el agua pero no el soluto – electrólitos, sustancias no electrolíticas y sustancias coloidales – tienda a desplazarse a través de una membrana; este movimiento depende de la concentración de solutos a cada lado de la membrana, lo cual constituye un proceso conocido como flujo osmótico.

La fuerza que hace posible el paso del solvente es la presión osmótica y ella es ejercida por los solutos. Esta presión osmótica se define como la presión hidrostática que se requiere para detener el flujo neto de agua a través de una membrana que separa soluciones de composición diferente (Figura 5). La presión osmótica depende del número de partículas disueltas y es independiente de la naturaleza química de ellas. Si una molécula en solución es de naturaleza iónica, la presión osmótica ejercida por ella se multiplica por el número de iones en los que se disocia este ión.

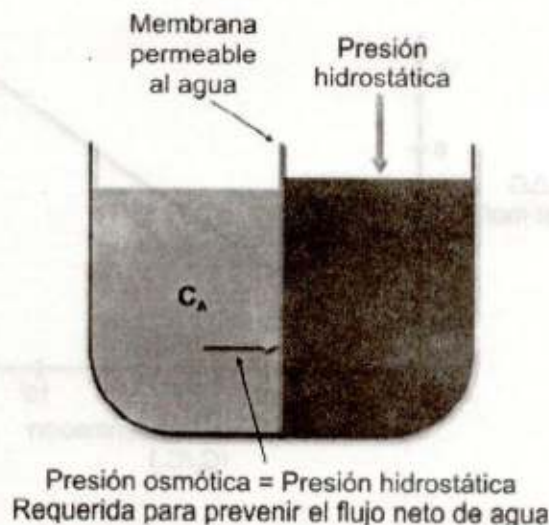


Figura 5. Osmosis es el movimiento de agua desde una región de baja concentración hacia otra con concentración elevada de solutos a través de una membrana que es permeable al agua e impermeable a los solutos.  $C_A$ : menor concentración de solutos,  $C_B$ : mayor concentración de solutos.

La unidad de la presión osmótica es el osmol (osm), así, un osmol es la cantidad de soluto que ejerce la presión osmótica que corresponde a una mol. La presión osmótica normal del plasma en el humano es de  $285 \pm 5$  miliosmoles por litro, este rango de osmolaridad corresponde a una presión osmótica de 7.1 a 7.3 atmósferas.

En el líquido extracelular de los seres humanos los solutos osmóticamente activos son, en su mayor parte, los electrólitos. Los iones monovalentes – sodio, cloro y bicarbonato – explican del 90 al 95% de la actividad osmótica del plasma; el resto corresponde a otros iones y compuestos orgánicos como la glucosa, los aminoácidos, la urea y las proteínas. De otro lado, aproximadamente la mitad de la osmolaridad intracelular está determinada por el potasio; contribuyen, igualmente, las proteínas intracelulares y los fosfatos orgánicos.

### Cambios de volumen celular por efectos osmóticos

Cuando la concentración de solutos en el líquido extracelular aumenta (solución hipertónica), y por ende la presión osmótica, el agua sale de las células y, en consecuencia, éstas pierden volumen. Por el contrario, si la presión osmótica del líquido extracelular disminuye (solución hipotónica) la presión osmótica queda a favor del medio intracelular y la célula aumenta de volumen hasta alcanzar un valor crítico, pues las células se rompen cuando este aumento es 1,5 veces el valor inicial. Ahora bien, los solutos que atraviesan fácilmente las membranas equilibran con rapidez sus concentraciones y por esta razón sólo ejercen un efecto transitorio sobre el volumen celular.

Aun en un microambiente isotónico, puede ser difícil para las células animales mantener su volumen, pues el gran número de macromoléculas con carga y metabolitos que están en el interior de la célula ejercen una atracción sobre iones de carga opuesta que tiende a incrementar la concentración citosólica de solutos, causando un influjo osmótico de agua que pudiera llevar a la lisis celular. Para prevenir esto, las células están exportando de manera continua  $\text{Na}^+$  al espacio extracelular. Por su parte las células de plantas, algas, hongos y bacterias, al estar rodeadas por una pared celular rígida, aumentan la presión intracelular pero no su volumen cuando se colocan en una solución hipotónica.

Aunque que las bicapas de fosfolípidos son parcialmente permeables al agua, la mayoría de las células animales se edematizan rápidamente al colocarse en soluciones hipotónicas, lo cual se explica por la presencia de proteínas canales de agua en la membrana plasmática que ace-

leran el flujo osmótico de agua. La proteína mejor caracterizada que cumple esta función de canal de agua es la acuaporina, un tetrámero de subunidades idénticas con 28 kDa, cada una de las cuales tiene seis  $\alpha$  hélices transmembrana (Figura 6).

### Magnitud de los flujos osmóticos

El flujo del solvente, a través de una membrana, es directamente proporcional a la presión osmótica de la solución a un lado de la membrana, menos la presión osmótica de la solución al otro lado de ella. O sea,

$$J_a = L\Delta\pi$$

Donde:  $J_a$  es el flujo de agua,  $L$  es la constante de proporcionalidad, que se llama conductividad hidráulica, y  $\Delta\pi$  es la diferencia de presión osmótica.

Como puede deducirse de la ecuación, ésta predice que cuanto mayor es la permeabilidad para un soluto menor es el flujo osmótico. Para soluciones electrolíticas diluidas, como las biológicas,  $\pi$  es igual a:

$$\pi = gvMRT$$

Donde:  $g$  es el coeficiente osmótico,  $v$  es el número de iones teóricos producidos por la disociación del soluto,  $M$  es la concentración molar,  $R$  es la constante universal de los gases y  $T$  es la temperatura absoluta. El coeficiente osmótico puede ser mayor o menor que 1. Es menor que 1 para los electrolitos con importancia fisiológica.

### Transporte mediado por proteínas

Algunas sustancias entran o salen de las células utilizando transportadores específicos, cuya naturaleza química se identifica con las proteínas integrales de la membrana citoplasmática. Dicho transporte se designa con el nombre de *transporte mediado por proteínas* o, simplemente, *transporte mediado* (Figura 7). Las proteínas transportadoras son proteínas integrales de membrana que median el paso selectivo de moléculas a través de la barrera impermeable constituida por la bicapa lipídica de células y organelas. Se han identificado más de 360 familias de proteínas transportadoras, lo cual demuestra la importancia de este proceso para las células.

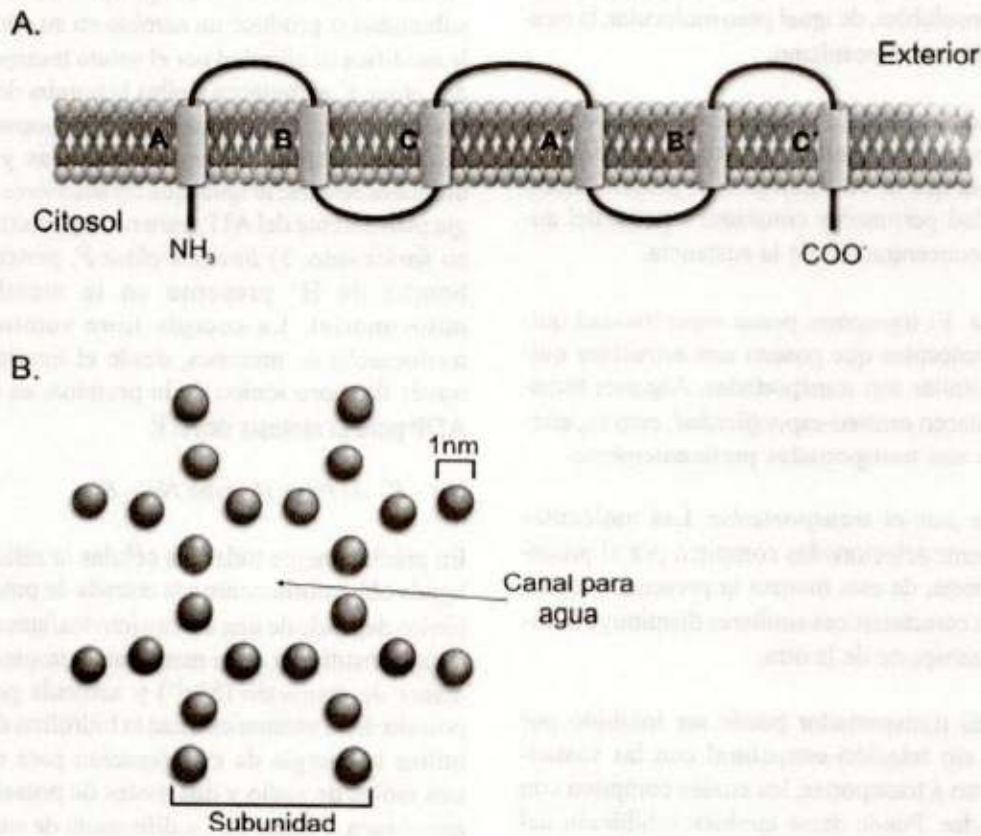


Figura 6. La acuaporina es la proteína mejor caracterizada que cumple la función de canal de agua en las células animales. Ésta es un tetrámero de subunidades idénticas, cada una de las cuales está conformada por seis  $\alpha$  hélices transmembrana (A) y cuando se unen constituyen un canal para el agua (B).

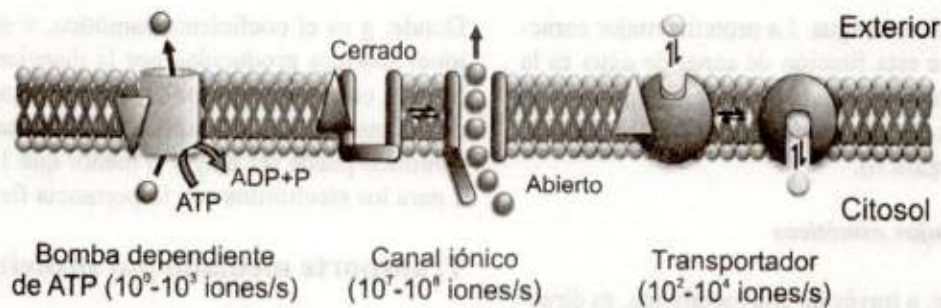


Figura 7. Existe un gran número de proteínas integrales de membrana que actúan como transportadores específicos para multiplicidad de moléculas, lo cual constituye el transporte mediado por proteínas. Entrás éstas se encuentran bombas dependientes de energía, canales iónicos y proteínas que se encargan de transportar las moléculas de un lado al otro.

Los sistemas de transporte mediado por proteínas incluyen dos tipos de procesos: el *transporte mediado* propiamente dicho y el *transporte facilitado*; en el primero la sustancia es transportada a favor o en contra de gradiente, mientras que en el transporte facilitado se efectúa siempre a favor de gradiente.

El transporte mediado por proteínas se caracteriza por presentar:

- 1) *Velocidad de transporte rápida.* La velocidad con la cual moléculas liposolubles se difunden a través de la membrana es menor que la velocidad con la cual moléculas no liposolubles, de igual peso molecular, la atraviesan usando este mecanismo.
- 2) *Cinética de saturación.* La velocidad del transporte se incrementa inicialmente al aumentar la concentración de la sustancia que se va a transportar; posteriormente, la velocidad permanece constante a pesar del aumento de la concentración de la sustancia.
- 3) *Especificidad.* El transporte posee especificidad química; sólo moléculas que poseen una estructura químicamente similar son transportadas. Algunos transportadores poseen *estereo-especificidad*, esto es, ciertos isómeros son transportados preferentemente.
- 4) *Competencia por el transportador.* Las moléculas estructuralmente relacionadas compiten por el proceso del transporte, de esta manera la presencia de una molécula con características similares disminuye la velocidad del transporte de la otra.
- 5) *Inhibición.* El transportador puede ser inhibido por compuestos sin relación estructural con las sustancias que se van a transportar, los cuales compiten con el transportador. Puede darse también inhibición del transporte al bloquearse los procesos metabólicos, por ejemplo, el frío, los venenos citoplasmáticos, la hipoxia, la hipercapnia, entre otros.

### *Transporte activo primario*

El transporte activo primario es un tipo de transporte mediado que se caracteriza porque: 1) transporta iones o solutos polares en contra de sus gradientes electroquímicos; 2) requiere de energía; 3) obtiene la energía, la mayoría de las veces, de la hidrólisis del ATP, y 4) la proteína encargada del transporte se denomina *bomba* (Figura 8).

Se han descrito tres clases de bombas: 1) *Bombas clase P*, a las que pertenecen las bombas de  $H^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $H^+K^+$  y  $Na^+K^+$ . Se denominan así porque la fosforilación de la subunidad  $\alpha$  produce un cambio en su conformación que le modifica su afinidad por el soluto transportado. 2) *Bombas clase V*, pertenecen a ellas la bomba de  $H^+$  presente en las organelas citoplasmáticas (lisosomas, endosomas, vesículas secretoras), en las vacuolas y en las células tubulares renales; al igual que las anteriores utilizan la energía proveniente del ATP, pero no hay intermediario proteico fosforilado. 3) *Bombas clase F*, pertenecen a ellas la bomba de  $H^+$  presente en la membrana interna mitocondrial. La energía libre suministrada por la traslocación de protones, desde el interior al exterior, a través del poro iónico de la proteína, es utilizada por el ADP para la síntesis de ATP.

### *$Na^+ - K^+$ ATPasa (bomba $Na^+ - K^+$ ).*

En prácticamente todas las células la salida de sodio está ligada obligatoriamente a la entrada de potasio. El bombeo iónico depende de una adenosintrifosfatasa (ATPasa), proteína constitutiva de la membrana citoplasmática, dependiente de magnesio ( $Mg^{2+}$ ) y activada por el sodio y el potasio. Esta enzima cataliza la hidrólisis del ATP a ADP y utiliza la energía de esta reacción para el transporte de tres moles de sodio y dos moles de potasio a través de la membrana (Figura 9). La diferencia de cargas que se crea por este transporte genera una diferencia de potencial, por lo que es conocida con el nombre de bomba electrógena (Figura 10).

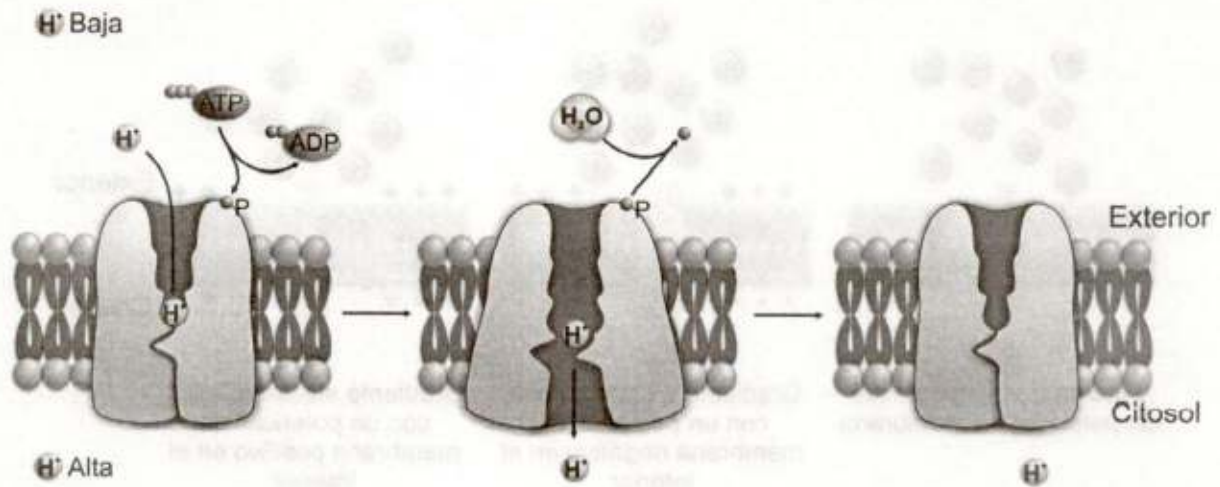


Figura 8. El transporte activo primario es realizado por proteínas denominadas bombas, las cuales transportan moléculas en contra de sus gradientes, como en este caso la bomba de protones. Este proceso requiere de energía, la cual es suministrada en la mayor parte de los casos a partir de la hidrólisis del ATP, que desencadena un cambio conformacional en la bomba, lo que permite el transporte en contra de gradiente.

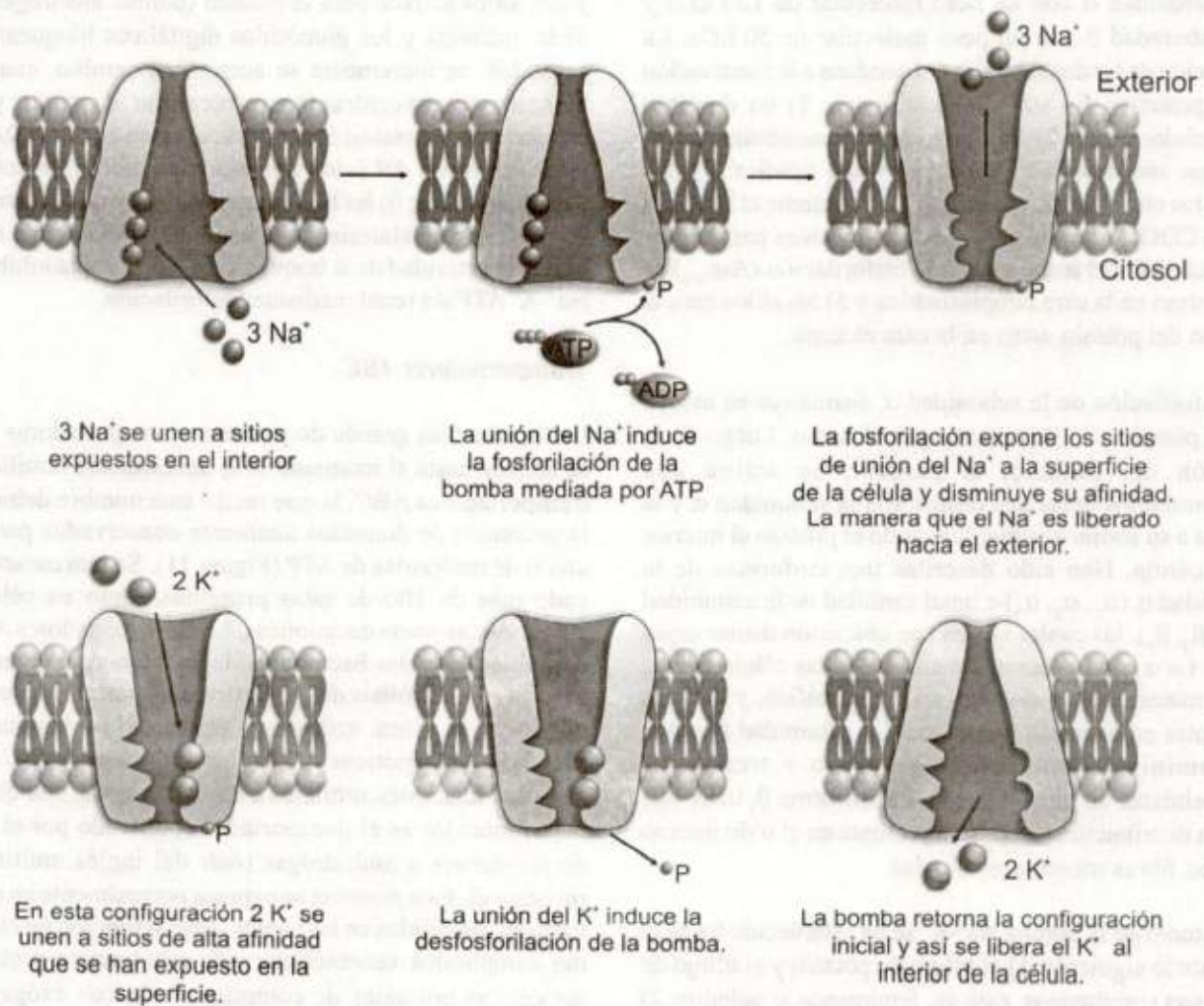


Figura 9. La sodio-potasio ATPasa es una bomba proteica que se encarga de sacar tres moléculas de sodio desde el citosol por cada dos de potasio que ingresa. Su activación ocurre gracias a que hidroliza el ATP a ADP y el fosfato que se libera se une a la misma proteína, lo cual produce el cambio conformacional necesario para iniciar su función.

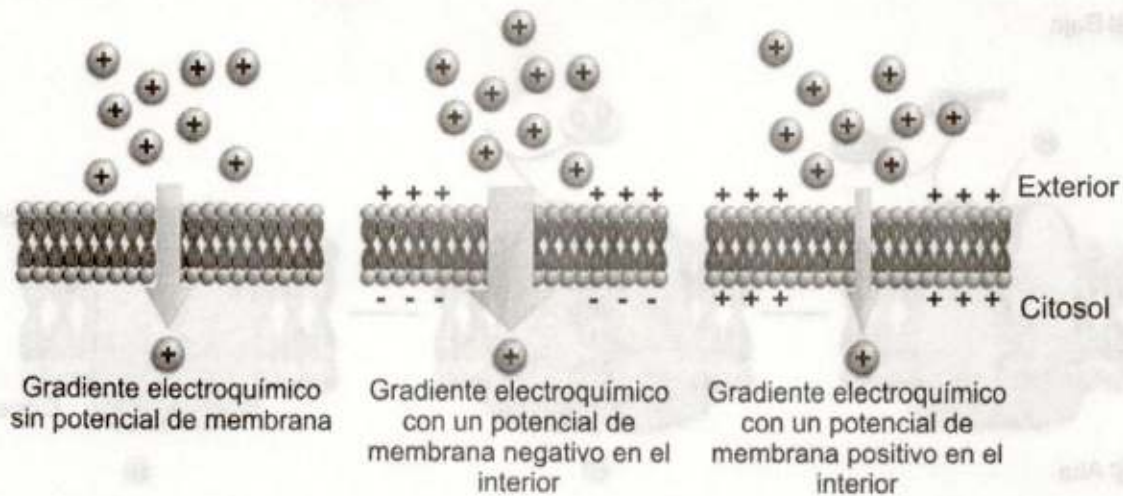


Figura 10. Las bombas electrógenas son proteínas transportadoras que crean diferencias de cargas entre el exterior y el interior de las células, lo cual genera gradientes electroquímicos que a su vez puede facilitar o limitar el ingreso de moléculas con carga eléctrica.

Esta bomba iónica es un heterodímero conformado por una subunidad  $\alpha$  con un peso molecular de 120 kDa y una subunidad  $\beta$  con un peso molecular de 50 kDa. La separación de las dos subunidades conduce a la inactivación de la proteína. La subunidad  $\alpha$  posee: 1) un dominio extracelular corto; 2) un dominio transmembránico amplio que atraviesa diez veces la bicapa lipídica; 3) dos dominios citoplasmáticos largos, uno contiene el  $\text{NH}_2$  y el otro el  $\text{COOH}$  terminales; 4) los sitios activos para la fijación del ATP, del sodio y el de la fosforilación ( $\text{Asp}_{376}$ ) se encuentran en la cara citoplasmática y 5) los sitios para la fijación del potasio están en la cara externa.

La fosforilación de la subunidad  $\alpha$  disminuye su avidez por el potasio y la incrementa por el sodio. Luego de la fijación del potasio, al parecer, se activa una fosfoproteínfosfatasa que desfosforila la subunidad  $\alpha$  y la retorna a su forma original liberando el potasio al interior de la célula. Han sido descritas tres isoformas de la subunidad  $\alpha$  ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$ ) e igual cantidad de la subunidad  $\beta$  ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ); las cuales tienen una ubicación tisular específica. La  $\alpha_1$  está presente en casi todas las células; la  $\alpha_2$  en el músculo, el tejido adiposo y el encéfalo, y la  $\alpha_3$  se encuentra en encéfalo y corazón. La subunidad  $\beta$  posee un dominio transmembránico único y tres sitios extracelulares de glucosilación. La isoforma  $\beta_1$  tiene una amplia distribución y la  $\beta_2$  está presente en el oído interno y en las fibras musculares rápidas.

Del estudio de la bomba  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  se ha establecido hasta el presente lo siguiente: 1) el aflujo de potasio y el eflujo de sodio son simultáneos, esto es, fenómenos acoplados; 2) el ATP es el dador de la energía para este transporte y su hidrólisis está acoplada con el movimiento de los iones; 3) la adenosintrifosfatasa de los glóbulos rojos posee tres

sitios activos para la combinación simultánea al ion sodio y dos sitios activos para el potasio (bomba electrogénica); 4) la ouabaina y los glucósidos digitálicos bloquean su actividad; se incrementa su acción, en cambio, cuando aumenta la concentración intracelular de sodio y la extracelular de potasio; 5) el AMPc, el diacil glicerol (DAG) y los derivados del ácido araquidónico afectan la actividad de la bomba; 6) las hormonas tiroideas y la aldosterona incrementan su síntesis; 7) la insulina y la G-actina estimulan la actividad de la bomba, y 8) la dopamina inhibe la  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPasa renal mediante fosforilación.

### Transportadores ABC

La familia más grande de proteínas transportadoras que se conoce hasta el momento es la denominada familia de transportadores ABC, la que recibe este nombre debido a la presencia de dominios altamente conservados para la unión de moléculas de ATP (Figura 11). Se han caracterizado más de 100 de estas proteínas, tanto en células procarióticas como eucarióticas. Los transportadores ABC descubiertos en las bacterias utilizan la energía obtenida gracias a la hidrólisis del ATP para transportar moléculas que incluyen iones, azúcares y aminoácidos. Aunque en las células eucarióticas existen transportadores ABC que cumplen funciones similares a los bacterianos, uno de los más conocidos es el transportador codificado por el gen de resistencia a multidrogas (*mdr* del inglés multidrug resistance). Esta proteína se expresa normalmente en gran variedad de células en las cuales tiene la función de eliminar compuestos xenobióticos y de esta manera proteger las células normales de compuestos tóxicos exógenos; sin embargo, en las células cancerosas esta proteína genera resistencia al tratamiento con drogas que buscan eliminar las células malignas.



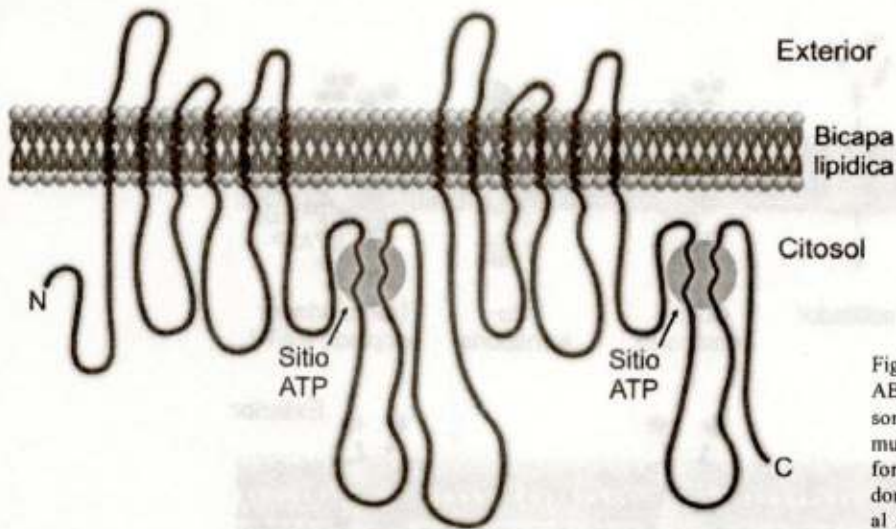


Figura 11. La estructura básica de los transportadores ABC consiste de seis dominios transmembrana que son seguidos por una región de unión al ATP. En muchos casos dos unidades de éstas se unen para formar una proteína transportadora que tiene 12 dominios transmembrana y dos dominios de unión al ATP.

Además de la proteína codificada por el gene *mdr*, en el humano se ha descrito otro transportador de la familia ABC que tiene gran importancia médica, es la proteína conocida como regulador de la conductancia transmembrana en la fibrosis quística (CFTR), la cual se encuentra defectuosa en la enfermedad congénita conocida como fibrosis quística y de ahí su nombre. Este transportador funciona como un canal para el cloro en células epiteliales y depende tanto de la hidrólisis de ATP como de la fosforilación dependiente de AMPc para iniciar el transporte de Cl<sup>-</sup>.

### Transporte activo secundario

En muchos casos las moléculas son transportadas en contra de un gradiente de concentración no por el uso directo de energía liberada de hidrólisis del ATP sino porque su transporte se encuentra acoplado al transporte de otra molécula en la dirección energéticamente favorable.

El transporte activo secundario es por tanto otra forma de transporte mediado, el cual se caracteriza porque: 1) transporta dos solutos, simultáneamente, uno a favor de su gradiente electroquímico y el otro en contra; 2) requiere, en consecuencia, energía; 3) obtiene la energía, no de la hidrólisis del ATP, sino de la energía libre suministrada por el soluto transportado a favor de gradiente, y 4) la proteína encargada del transporte se denomina *transportador* (Figura 12a).

El transporte activo secundario puede ser de tipo *cotransporte* o *contratransporte*. El término *cotransporte* alude a la situación en la cual las sustancias acopladas son transportadas en la misma dirección; en el *contratransporte* las sustancias acopladas son transportadas en direcciones opuestas (Figura 12b).

El transporte de muchas sustancias a través de la membrana plasmática está acoplado al transporte de sodio; así, por ejemplo, en el borde luminal de las células del intestino delgado y del túbulo contorneado proximal se encuentran cotransportadores para glucosa-sodio (SGLT<sub>1,2</sub>), aminoácidos-sodio y ácidos orgánicos-sodio, entre otros (Figura 13).

### Transporte facilitado

El transporte facilitado o difusión facilitada se caracteriza porque: 1) transporta los solutos a favor de sus gradientes electroquímicos (Figuras 12a y 14); 2) no requiere, en consecuencia directamente de energía, y 3) a las proteínas encargadas del transporte de iones se les denomina canales iónicos (Figura 15b), mientras que a las proteínas que transportan solutos hidrofílicos se les llama facilitador o transportador y constituyen lo que se denomina como *unitransporte* (Figura 12b).

Existen múltiples canales, con distinta estructura y con diferentes propiedades, pero todos poseen un estrecho poro hidrofílico (Figura 15c), altamente selectivo para el transporte de iones tales como Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, y Cl<sup>-</sup>. Muchos de estos canales están activos constitutivamente, mientras que otros necesitan ser activados; esta activación ocurre mediante diferentes formas: 1) por cambios en el potencial de membrana (*canales dependientes de voltaje o con compuerta de voltaje*); 2) por unión a un ligando (*canales dependientes de ligando o con compuerta de ligando*) que puede ser un neurotransmisor, un neuropéptido, o un nucleótido; 3) como consecuencia de fosforilación o desfosforilación de la proteína, y 4) por un estímulo mecánico que puede ser la presencia de la sustancia a ser transportada, el estiramiento de la célula o la presión sobre ella, entre otros estímulos.

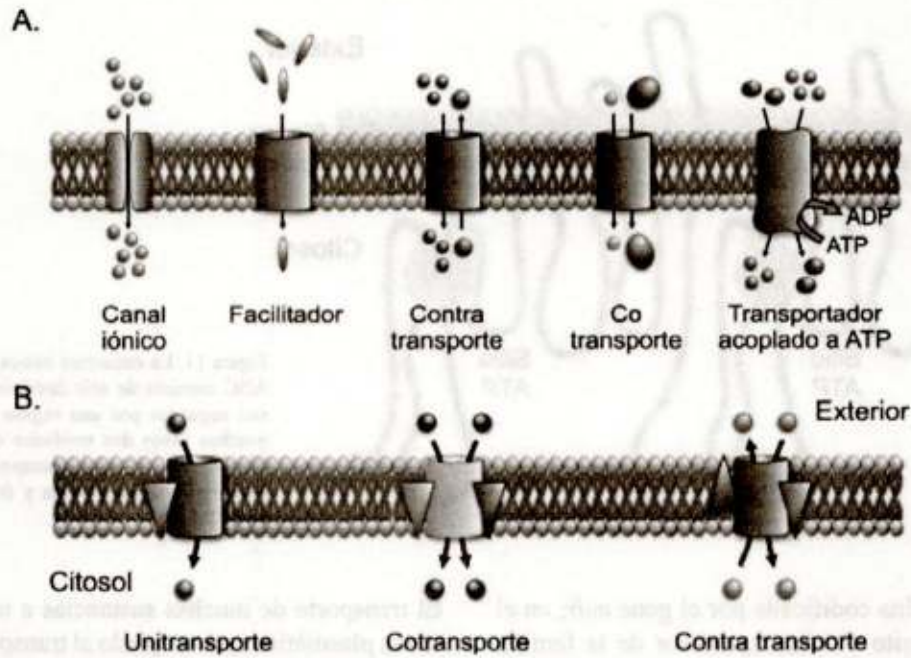


Figura 12. A. Como ya se describió existen una gran variedad de proteínas que actúan como transportadores específicos de moléculas, entre éstas se encuentran las que realizan el transporte activo secundario. B. El transporte activo secundario puede ser de tipo unitransporte, cotransporte o contratransporte. El cotransporte ocurre cuando las sustancias acopladas son transportadas en la misma dirección; en el contratransporte las sustancias acopladas son transportadas en direcciones contrarias.

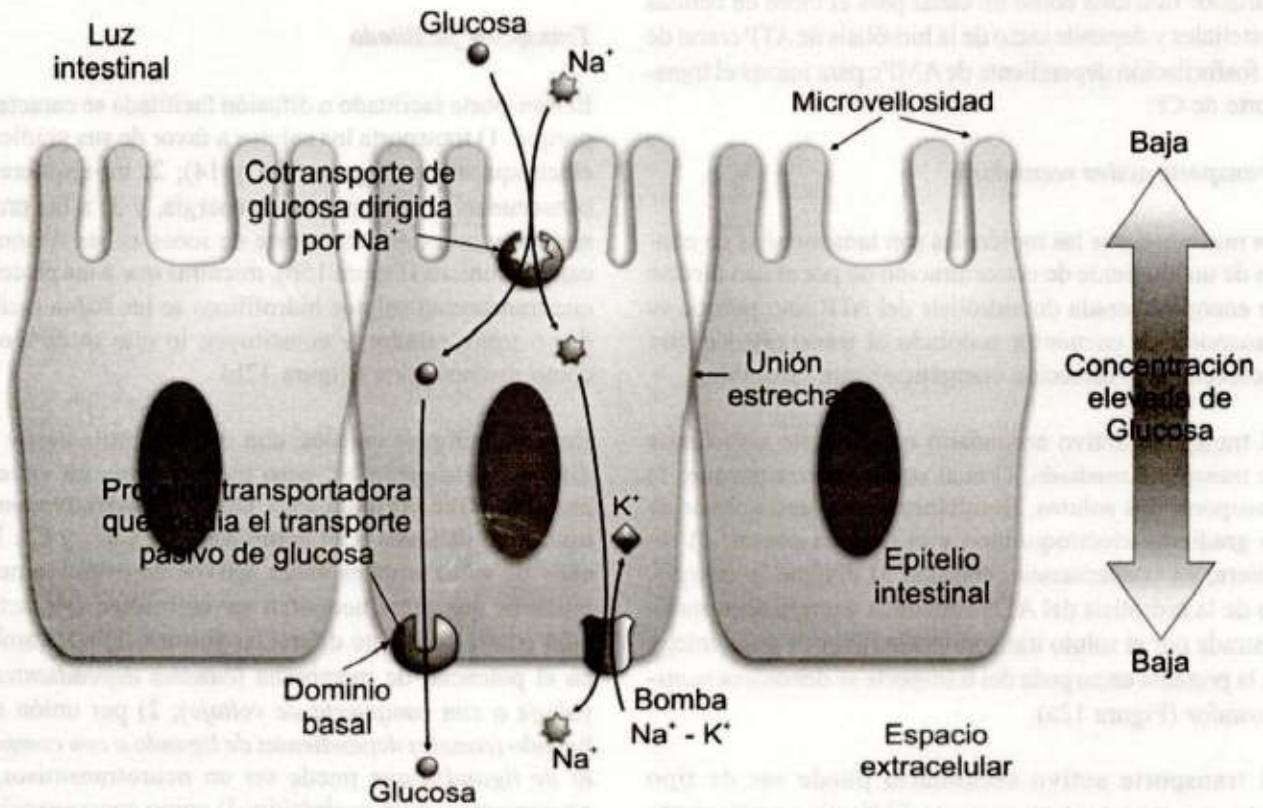


Figura 13. La absorción de la glucosa en el intestino depende fundamentalmente del cotransporte con el sodio. El gradiente de sodio facilita su ingreso a las células intestinales y de esta manera arrastra la glucosa a pesar de estar en alta concentración en estas células; luego la glucosa sale hacia la circulación gracias al gradiente que se establece. La energía necesaria para este proceso proviene de la hidrólisis del ATP realizada por la sodio-potasio ATPasa en la región basal de la membrana plasmática de las células intestinales.

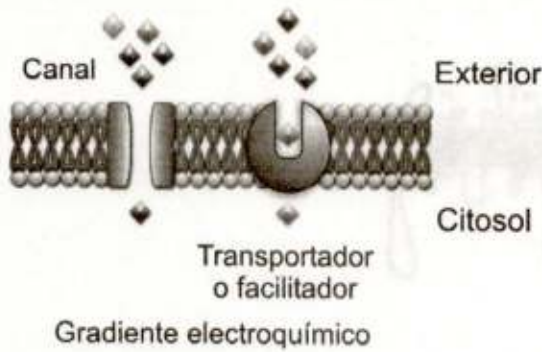


Figura 14. El transporte o difusión facilitada lo realizan dos tipos de proteínas: unas llamadas canales y otras conocidas como transportadoras o facilitadoras. Ambos tipos funcionan gracias a la presencia de un gradiente electroquímico para su respectivo soluto.

A diferencia de las proteínas tipo canal, las proteínas transportadoras unen y transportan de forma selectiva moléculas pequeñas tales como la glucosa (unitransporte). En vez de formar un poro abierto, la proteína transportadora actúa de forma similar a una enzima, pues la unión de la molécula a ser transportada induce un cambio conformacional que abre un canal a través del cual puede pasar dicha molécula para liberarse al otro lado de la membrana (Figura 15a).

#### **Canales iónicos con compuerta de voltaje o dependientes de voltaje**

Existen canales dependientes de voltaje para el sodio, el potasio, el calcio y el cloro. Se han descrito más de 30 canales para el sodio e igual número para el calcio; son proteínas integrales de la membrana citoplasmática, están constituidos de una sola cadena polipeptídica con cuatro dominios hidrofóbicos, que rodean un poro acuoso de 0,5 nm de diámetro. Cada uno de los dominios (I-IV) presenta una serie de características particulares: 1) atra-

viesa seis veces la bicapa lipídica ( $S_1-S_6$ ); 2) posee tres dominios extracelulares cortos y un cuarto largo ( $S_5-S_6$ ) de longitud variable; 3) dos dominios citoplasmáticos centrales cortos ( $S_2-S_3$  y  $S_4-S_5$ ) y un dominio largo, de longitud variable que conecta  $S_6$  precedente con  $S_1$  subsiguiente, y 4) el dominio I posee, en la cara citoplasmática, el extremo  $NH_2$ -terminal, mientras que el dominio IV tiene el  $COOH$ -terminal (Figura 15).

Por su parte los canales de potasio con compuerta de voltaje tienen cuatro subunidades, codificada cada una por un gen diferente. Estas subunidades también tienen características propias tales como: 1) cuatro dominios extracelulares; 2) seis dominios ( $S_1-S_6$ ) y una asa corta (H5), transmembranales, y 3) cuatro dominios citoplasmáticos, dos largos, uno de ellos contiene los 19 aminoácidos que conforman el  $NH_2$ -terminal (Figura 16).

La apertura y el cierre de los canales con compuerta de voltaje son regulados, al parecer, por el dominio  $S_4$  (que contiene siete residuos aminoacídicos positivos), el cual actúa como sensor del exceso de cargas negativas que determinan el cierre del canal. Los cambios en  $S_4$ , en respuesta a los cambios de voltaje, desplaza el  $NH_2$ -terminal y el canal es abierto o activado, lo que permite el paso de hasta un millón de moléculas por segundo del ion a ser transportado.

#### **Canales iónicos con compuerta de ligando**

El receptor nicotínico de la acetilcolina, el receptor para el GABA ( $G_A$ ), algunos receptores para el glutamato, el receptor de la glicina y el receptor para la 5HT<sub>3</sub> pertenecen a una superfamilia de canales iónicos con compuerta de ligando, con múltiples subunidades, codificadas por diferentes genes. Otros ejemplos de canales iónicos operados por ligandos son el receptor adrenérgico  $\alpha_1$ , el que

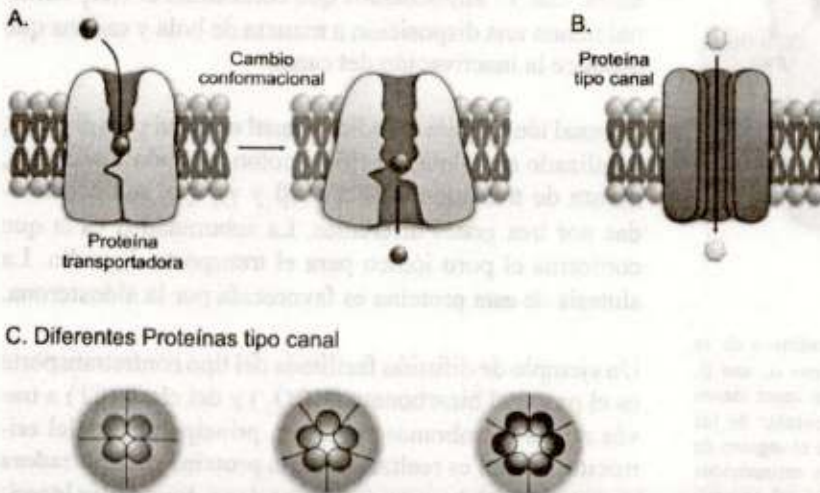


Figura 15. A. Las proteínas transportadoras o facilitadoras transportan de forma selectiva moléculas hidrofílicas pequeñas, las cuales cuando se unen a la proteína transportadora inducen un cambio conformacional en ella que abre un canal a través del cual puede pasar dicha molécula para liberarse al otro lado de la membrana. B. Los canales son proteínas encargadas del transporte de iones; muchos de estos canales están abiertos de manera permanente mientras otros se abren en respuesta a diferentes mecanismos de activación. C. Los canales tienen en común un poro hidrofílico estrecho, altamente selectivo para el transporte de iones.

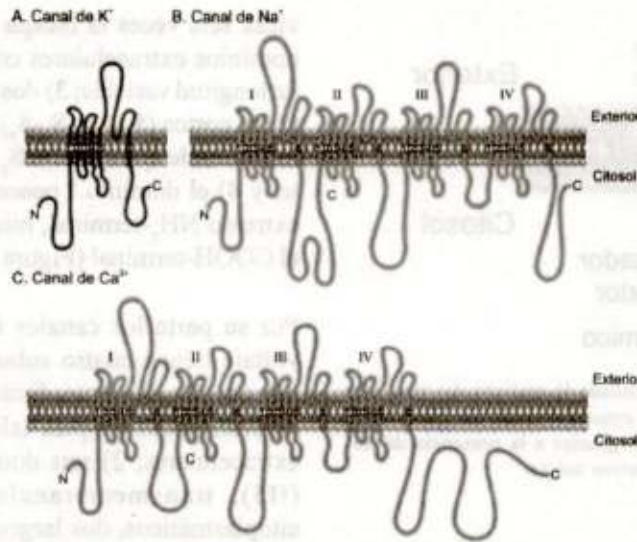


Figura 16. Los canales de  $K^+$ ,  $Na^+$  y  $Ca^{2+}$  pertenecen a una familia de proteínas relacionadas. El canal dependiente de voltaje de potasio es una proteína tetramérica conformada por cuatro subunidades cada una de las cuales tiene seis dominios transmembranales como la que se muestra acá. Por su parte los canales dependientes de voltaje para el sodio y el calcio son proteínas integrales constituidas de una sola cadena polipeptídica con cuatro dominios hidrofóbicos, cada uno de los cuales atraviesa seis veces la bicapa lipídica.

permite la entrada de  $Ca^{2+}$ , y el receptor dopaminérgico que aumenta la permeabilidad para el  $Cl^-$ .

Uno de los más estudiados de este tipo de canales iónicos es el receptor nicotínico de la acetilcolina, presente en la placa neuromuscular; éste es un heteropentámero ( $\alpha_{1,2}, \beta, \gamma$  y  $\delta$ ) con un peso molecular aproximado de 250 kDa. Las cinco subunidades están organizadas en forma tal que conforman un canal iónico central (Figura 17). Las subunidades  $\alpha$  poseen el sitio de unión para la acetilcolina,

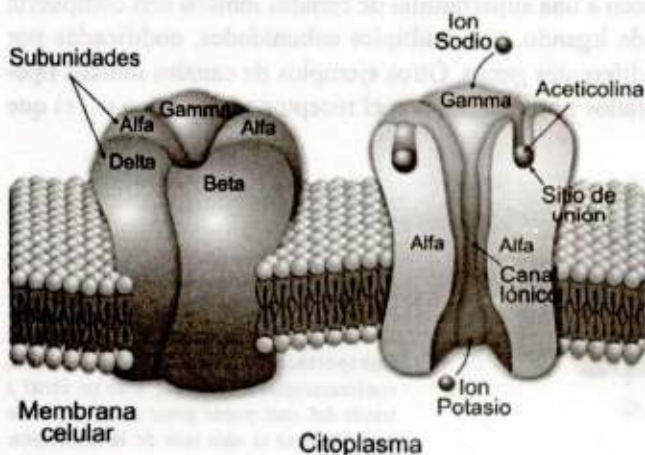


Figura 17. En esta figura se presenta el receptor nicotínico de la acetilcolina, un heteropentámero formado por dos cadenas  $\alpha$ , una  $\beta$ , una  $\gamma$  y otra  $\delta$ , las cuales se organizan para conformar un canal iónico central. La unión de la acetilcolina a la región extracelular de las subunidades  $\alpha$  induce la apertura del canal lo que permite el ingreso de sodio y la salida de potasio. Este canal está tapizado por aminoácidos de carga negativa que evitan el flujo de iones cargados negativamente.

cuya fijación ocasiona la apertura del canal y el ingreso de millones de moles de sodio. Se han descrito ocho isoformas de la subunidad  $\alpha$  y cuatro de la cadena  $\beta$ . Los receptores nicotínicos ganglionares, permeables también al calcio, son heteroméricos ( $\alpha_3, \alpha_5, \beta_2$ , y  $\beta_4$ ). Por su parte, los nicotínicos cerebrales son heterómeros de las subunidades  $\alpha_4$  y  $\beta_2$  u homómeros de  $\alpha_7, \alpha_8$  y  $\alpha_9$ .

Parece ser que desde el punto de vista evolutivo los primeros canales en aparecer fueron este tipo de canales iónicos para el potasio. Se han descrito más de 40 tipos diferentes; todos son tetrámeros. Cada subunidad, codificada por un gen diferente, posee: 1) dos dominios extracelulares cortos; 2) dos dominios transmembranales ( $M_1$  y  $M_2$ ) unidos por un asa corta ( $H_2$ ), y 3) dos dominios citoplasmáticos que contienen el  $NH_2$  y el  $COOH$  terminales. Los 19 aminoácidos que conforman el  $NH_2$ -terminal tienen una disposición a manera de bola y cadena que produce la inactivación del canal.

El canal iónico para el sodio, o canal epitelial para el sodio, localizado en células de riñón, colon, pulmón y encéfalo, consta de tres subunidades ( $\alpha, \beta$  y  $\gamma$ ), que son codificadas por tres genes diferentes. La subunidad  $\alpha$  es la que conforma el poro iónico para el transporte de sodio. La síntesis de esta proteína es favorecida por la aldosterona.

Un ejemplo de difusión facilitada del tipo contratransporte es el paso del bicarbonato ( $HCO_3^-$ ) y del cloro ( $Cl^-$ ) a través de las membranas celulares, principalmente del eritrocito, el cual es realizado por la proteína transportadora de aniones. Dicha proteína posee dos subunidades idénticas.

cas (homodímero); cada cadena polipeptídica (de 930 aminoácidos) atraviesa doce veces la bicapa lipídica. El dominio extracelular es glucosilado; el grado de glucosilación determina los antígenos mayores y menores del grupo sanguíneo. El dominio transmembrana configura el canal para la difusión del  $\text{HCO}_3^-$  y del  $\text{Cl}^-$ .

### Transporte de macromoléculas

Las células transportan a través de su membrana citoplasmática no sólo iones y pequeñas moléculas sino, que también tienen la capacidad de ingerir y secretar moléculas de mayor tamaño y complejidad mediante los fenómenos de endocitosis y exocitosis (Figura 18). La endocitosis es un proceso ampliamente conservado en la

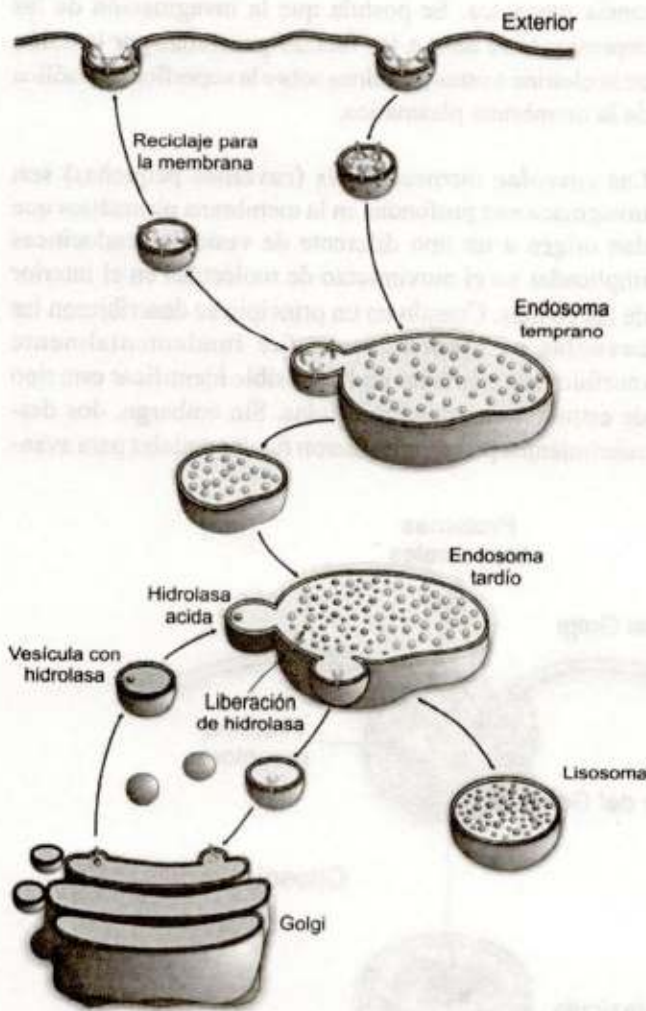


Figura 18. El ingreso y la salida de moléculas con un tamaño y complejidad tales que no pueden atravesar la membrana mediante bombas, canales o facilitadores ocurren mediante los fenómenos de endocitosis y exocitosis. La endocitosis generalmente permite la digestión enzimática en los endosomas y lisosomas de las macromoléculas o partículas ingeridas.

escala evolutiva, en términos generales, reviste un carácter protector y nutricional para la célula. Pueden distinguirse dos tipos básicos de endocitosis: la fagocitosis y la pinocitosis; no obstante, en los últimos años, ha decaído el uso del término pinocitosis y ha sido sustituido por el de endocitosis, de tal forma que la ingestión de macromoléculas se ha dividido en fagocitosis y endocitosis. De otro lado, muchos componentes celulares son almacenados en vesículas secretoras que se funden con la membrana plasmática y se abren al espacio extracelular liberando allí su contenido, mediante el proceso de exocitosis. La ingestión y la secreción de macromoléculas son procesos que implican la fusión de áreas separadas de la membrana plasmática, lo cual sucede en dos etapas; primero las bicapas lipídicas se colocan en estrecho contacto y posteriormente se funden, permitiendo así el paso del contenido de las vesículas de un compartimento a otro de la célula. En este tipo de transporte, el contenido de las vesículas no se mezcla con las demás organelas ni con los componentes celulares.

### Ingestión celular

Como se mencionó antes, la fagocitosis y la endocitosis son mecanismos para el transporte de moléculas o macromoléculas de gran tamaño, no obstante ellos difieren en varios aspectos. El tamaño de la partícula que puede ser endocitada es menor de  $1 \mu\text{m}$  de diámetro (agregados proteicos, macromoléculas, lipoproteínas y virus), mientras que la fagocitosis permite la incorporación de partículas de más de  $1 \mu\text{m}$  de diámetro (bacterias, parásitos, otras células partículas inertes). La fagocitosis es un proceso en el que intervienen los filamentos de actina, es decir, que involucra cambios del citoesqueleto; en la endocitosis por el contrario, no hay reorganización del citoesqueleto. Las temperaturas inferiores a los  $18^\circ\text{C}$  inhiben la fagocitosis, mientras que a esta temperatura la endocitosis solo presenta disminución de su eficiencia. Finalmente, la endocitosis es un proceso que ocurre, prácticamente en todas las células de vertebrados, excepto en los eritrocitos, mientras que la fagocitosis está restringida a un grupo de células especializadas, algunas células epiteliales y otras denominadas *células fagocíticas profesionales*.

### Endocitosis

Las células eucarióticas ingieren continuamente fragmentos de su membrana citoplasmática en forma de vesículas endocíticas que luego retornan a la superficie de la célula por el proceso de la exocitosis; la velocidad de este proceso varía de célula a célula; por ejemplo, un macrófago

ingere el 25% de su volumen cada hora, lo cual significa que puede ingerir el 100% de su membrana citoplasmática en 30 minutos. Este ciclo endocítico se inicia en regiones especializadas de la membrana citoplasmática en donde se forman *depresiones cubiertas*. La vida media de estas estructuras es corta; menos de un minuto después de haberse formado, ellas se invaginan hacia el interior de la célula y se desprenden para formar vesículas, las cuales después de algunos segundos pierden su cubierta y se funden con los endosomas (Figura 19).

Existen dos estructuras diferentes que tienen la capacidad de realizar endocitosis. Las vesículas recubiertas con clatrina, que fueron las primeras en ser descritas, y las

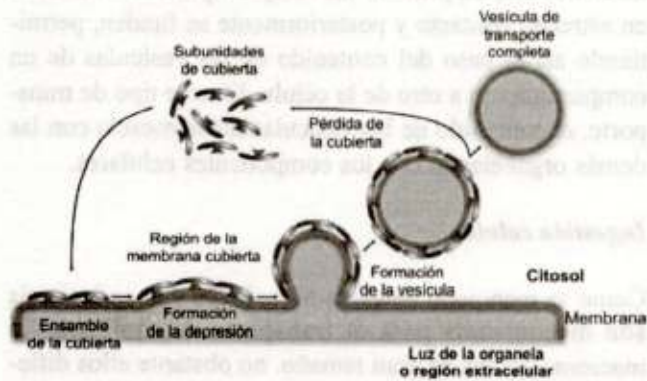


Figura 19. La endocitosis se inicia en regiones específicas de la membrana en donde se forman depresiones cubiertas, las cuales se invaginan hacia el citosol y se desprenden para formar vesículas, después de lo cual pierden su cubierta para fusionarse posteriormente con los endosomas.

caveolas, estructuras con una morfología característica que se describieron posteriormente en ciertas células.

La clatrina es una de las moléculas más abundantes y mejor caracterizadas entre aquellas que recubren las vesículas de transporte de macromoléculas. Esta es un complejo proteico altamente conservado en la evolución que está compuesto por tres cadenas polipeptídicas grandes (cadenas pesadas de clatrina) y por tres polipéptidos pequeños (cadenas livianas de clatrina), la unión de las cuales forma una estructura de tres brazos llamada trieskelión (Figura 20A). Un número definido de trieskeliones se une, en una red de hexágonos y pentágonos, sobre la superficie citoplasmática de las membranas formando la cubierta característica de las depresiones y de las vesículas cubiertas por tal complejo (Figura 20B). Esta estructura macromolecular se caracteriza por su flexibilidad y resistencia mecánica. Se postula que la invaginación de las depresiones se debe a las fuerzas generadas por la unión de la clatrina a otras proteínas sobre la superficie citosólica de la membrana plasmática.

Las *caveolae intracellularis* (cavernas pequeñas) son invaginaciones profundas en la membrana plasmática que dan origen a un tipo diferente de vesículas endocíticas implicadas en el movimiento de moléculas en el interior de las células. Cuando en un principio se describieron las caveolas su identificación fue fundamentalmente morfológica, por tanto no fue posible identificar este tipo de estructura en muchas células. Sin embargo, dos descubrimientos posteriores fueron fundamentales para avan-

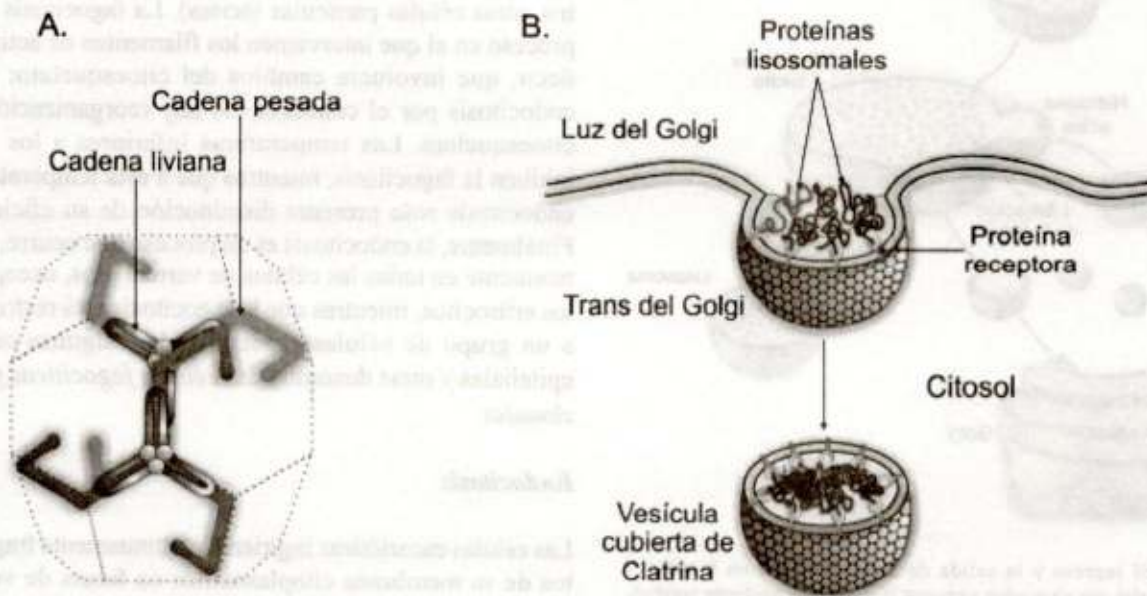


Figura 20. A. La clatrina es un complejo proteico compuesto por tres cadenas pesadas y por tres cadenas livianas, la unión de las cuales forma una estructura macromolecular conocida como trieskelión. B. Los trieskeliones se unen, en una red de hexágonos y pentágonos, sobre la superficie citoplasmática de las membranas formando la cubierta característica de las depresiones y vesículas cubiertas con clatrina.

zar en el entendimiento de las caveolas: el primero, la captura mediada por el receptor de folato por parte de caveolas, permitió comprender como esta estructura funcionaba en distintas células, mientras el segundo, la identificación de la caveolina como una proteína marcadora de estas estructuras, facilitó la identificación de los dominios de membrana que hacían parte de las caveolas. Gracias a esto se demostró que las fracciones de membrana que forman caveolas son ricas en glicoesfingolípidos, colesterol y proteínas de membrana ancladas a lípidos. En la actualidad se acepta que todas las células tienen dominios de membrana con las características bioquímicas de las caveolas pero solo algunas de estas membranas evidencian la morfología de las caveolas. Las caveolas se forman cuando moléculas conocidas como coatómeros se unen a la región de la membrana donde ocurre la depresión y permite el ensamblaje de una cubierta (Figura 21).

Además de las diferencias estructurales y moleculares entre las vesículas cubiertas con clatrina y las caveolas, existe otra diferencia fundamental entre estos dos tipos de vesículas y es su biogénesis. Las caveolas son ensambladas en el aparato de Golgi y de allí son enviadas a otros sitios en la célula, mientras que las vesículas cubiertas con clatrina se forman, *de novo*, en los sitios donde ocurre la endocitosis.

#### Mecanismo de la endocitosis

La endocitosis puede ser mediada por receptores específicos de membrana, lo que incrementa en más de 1000 veces la eficiencia para internalizar los ligandos específicos.

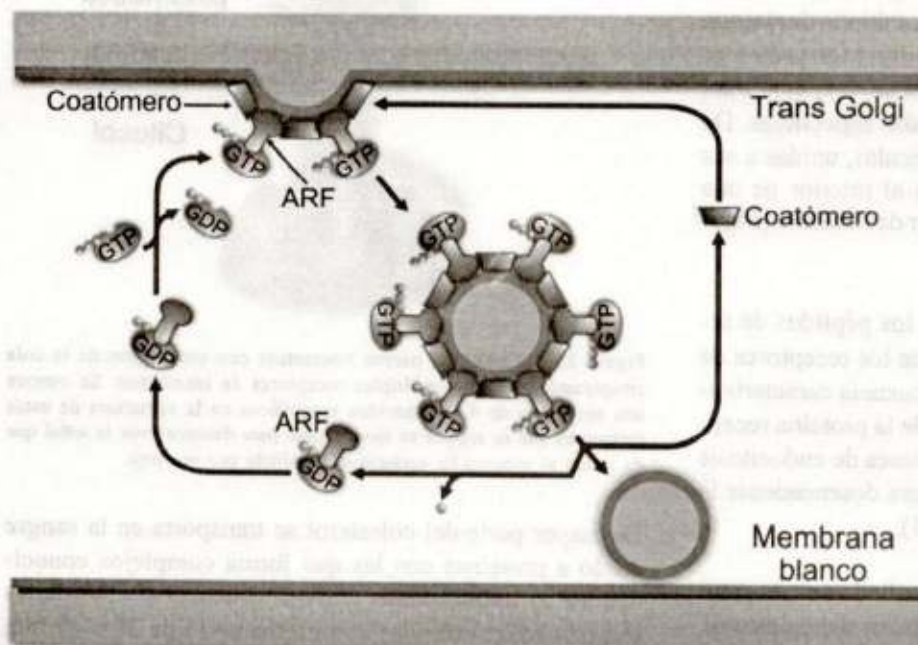


Figura 21. Las caveolas se forman cuando moléculas conocidas como coatómeros se unen a la región de la membrana donde ocurre la depresión y permite el ensamblaje de una cubierta en la que participa la proteína ARF, la que a su vez une GTP. Después que se forma la vesícula se desprende la cubierta y esto permite la fusión con la membrana blanco.

cos; de esta manera, se puede favorecer la ingestión de moléculas presentes en poca concentración en el líquido extracelular sin aumentar la ingestión de solvente. La endocitosis mediada por receptores puede implicar la participación de las vesículas cubiertas con clatrina. Una vez se produce la unión del ligando al receptor la membrana es endocitada, se forma una vesícula de transporte, o endosoma, que eventualmente puede ser transportada hacia los lisosomas, donde el material será rápidamente degradado; o bien, muchos de los componentes de la membrana citoplasmática que han sido endocitados suelen ser reciclados sin que sufran ninguna transformación. Una vez se forman las vesículas, la clatrina y las proteínas asociadas se disocian de la membrana de la vesícula y regresan a la membrana plasmática para formar una nueva depresión cubierta (Figura 22).

No se conoce el mecanismo exacto del desprendimiento de la clatrina y las proteínas asociadas; se ha demostrado que una proteína chaperona, perteneciente a la familia hsp70 ("heat shock protein" de 70 kDa), actúa, *in vitro*, como una ATPasa, que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP, para retirar la cubierta de las vesículas cubiertas con clatrina. Se propone también, que el  $Ca^{2+}$  intracelular puede controlar el desprendimiento de la cubierta de las vesículas en las células, ya que este ion puede unirse a las cadenas livianas de la clatrina y desestabilizar el complejo multiproteico del trieskelión. Las bombas de  $Ca^{2+}$ , en la membrana citoplasmática, movilizan  $Ca^{2+}$  hacia el exterior de la célula y, por lo tanto, mantienen su concentración citoplasmática muy baja, lo que indirectamente mantiene las depresiones cubiertas. Una vez se forman las

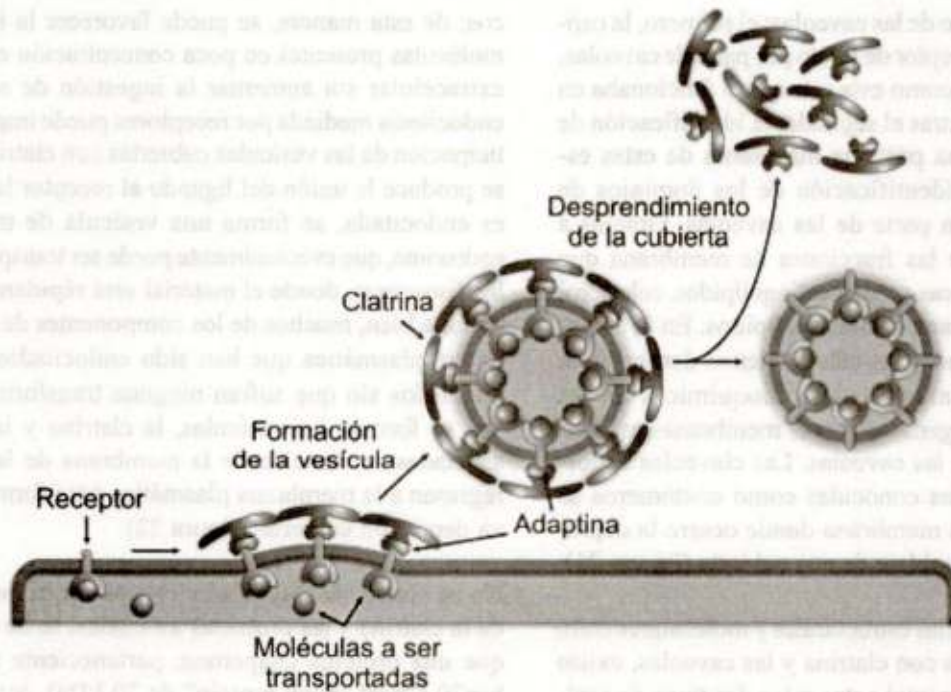


Figura 22. La endocitosis mediada por receptor también depende de la formación de una vesícula de transporte o endosoma cubierto con clatrina. Una vez se forman las vesículas, la clatrina y las proteínas asociadas se disocian de la membrana de la vesícula y regresan a la membrana plasmática para formar una nueva depresión cubierta. En esta endocitosis mediada por receptor es necesaria la presencia de la adaptina, la cual permite la unión de la cubierta de clatrina a la membrana así como la localización de las proteínas receptoras en regiones específicas de la membrana.

vesículas y se separan de la membrana encuentran concentraciones elevadas de  $Ca^{2+}$  que activan el desprendimiento de la cubierta.

Además de la clatrina existe una segunda proteína, importante, en las cubiertas de las vesículas; un complejo proteico de varias subunidades denominado *adaptina*. Las adaptinas se requieren tanto para unir la cubierta de clatrina a la membrana como para atrapar diferentes proteínas receptoras de membrana, las cuales, a su vez, capturan, en el interior de las vesículas, moléculas específicas. De esta manera un grupo selecto de moléculas, unidas a sus receptores específicos, se incorporan al interior de una vesícula que las transportará al interior de la célula (Figura 23).

Las adaptinas identifican, al parecer, los péptidos de señalización de la cola citoplasmática de los receptores de membrana. Se ha identificado una secuencia característica de 4 aminoácidos en la estructura de la proteína receptora y su presencia en todos los receptores de endocitosis hace suponer que sea fundamental para desencadenar la señal de inicio del proceso (Figura 23).

Uno de los modelos de endocitosis mediada por receptor que mejor se conoce es el de la endocitosis del colesterol.

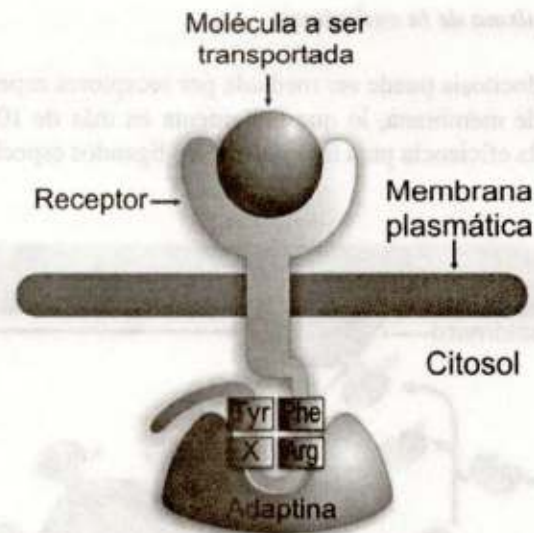


Figura 23. La adaptina parece interactuar con una región de la cola citoplasmática de los múltiples receptores de membrana. Se conoce una secuencia de 4 aminoácidos específicos en la estructura de estos receptores que se supone es fundamental para desencadenar la señal que da inicio al proceso de endocitosis mediada por receptor.

La mayor parte del colesterol se transporta en la sangre unido a proteínas con las que forma complejos conocidos como lipoproteínas de baja densidad (LDL). Éstas son partículas esféricas con un diámetro de 20 a 25 nm,



que contienen en su centro, alrededor de 1500 moléculas de colesterol esterificado con ácidos grasos; la superficie externa de la partícula es una monocapa de fosfolípidos y de colesterol, entre ellos se encuentra inmersa una proteína de gran tamaño, la *apolipoproteína B* (apo-B). Cuando una célula necesita colesterol, para incorporar en su membrana o para otras funciones, expresa en la membrana receptores para LDL, los cuales se asocian con las depresiones cubiertas de clatrina. Cualquier partícula de LDL que se una a su receptor será endocitada rápidamente. Como ya se mencionó, luego de la endocitosis las vesículas descargan su contenido en los endosomas, donde las partículas de LDL y sus receptores se separan; los receptores retornan a la membrana plasmática, mientras que las LDL prosiguen hacia los lisosomas. Una vez allí, la apo-B es degradada hasta sus aminoácidos constitutivos y los ésteres de colesterol son hidrolizados a colesterol y ácidos grasos. El colesterol se incorpora directamente en la membrana plasmática o se re-esterifica para ser usado posteriormente en diferentes procesos celulares (Figura 24).

El ambiente ácido, característico de los endosomas, es fundamental para el procesamiento de la molécula endocitada. Cuando el pH disminuye el receptor modifica su conformación y se disocia del ligando. Se asume que

los ligandos que se separan de su receptor en el endosoma terminan por ser degradados en los lisosomas junto con el contenido del endosoma, mientras que los ligandos que permanecen unidos a su receptor pueden tomar tres vías diferentes desde el endosoma: a) regresar al mismo dominio de la membrana plasmática de donde provino; b) viajar a los lisosomas, y c) retornar a una región diferente de la membrana plasmática dando origen al fenómeno de trancitosis (transporte celular).

La endocitosis puede ser utilizada por algunos microorganismos para ingresar a la célula. Así por ejemplo, el virus de la influenza penetra a la célula hospedera mediante endocitosis mediada por receptor; una vez en los endosomas, la presencia de proteínas de fusión en la envoltura del virus permite la fusión de las membranas endosomal y viral y la salida del ácido nucleico viral hacia el citoplasma donde puede replicarse (Figura 25). Se ha demostrado que el pH ácido de los endosomas induce un cambio en la conformación en la proteína de fusión viral que permite la exposición de una región hidrofóbica en la superficie de dicha proteína para interactuar con la bicapa lipídica de la membrana blanco y así permitir el escape de ácido nucleico viral del ambiente del endosoma hacia el citoplasma.

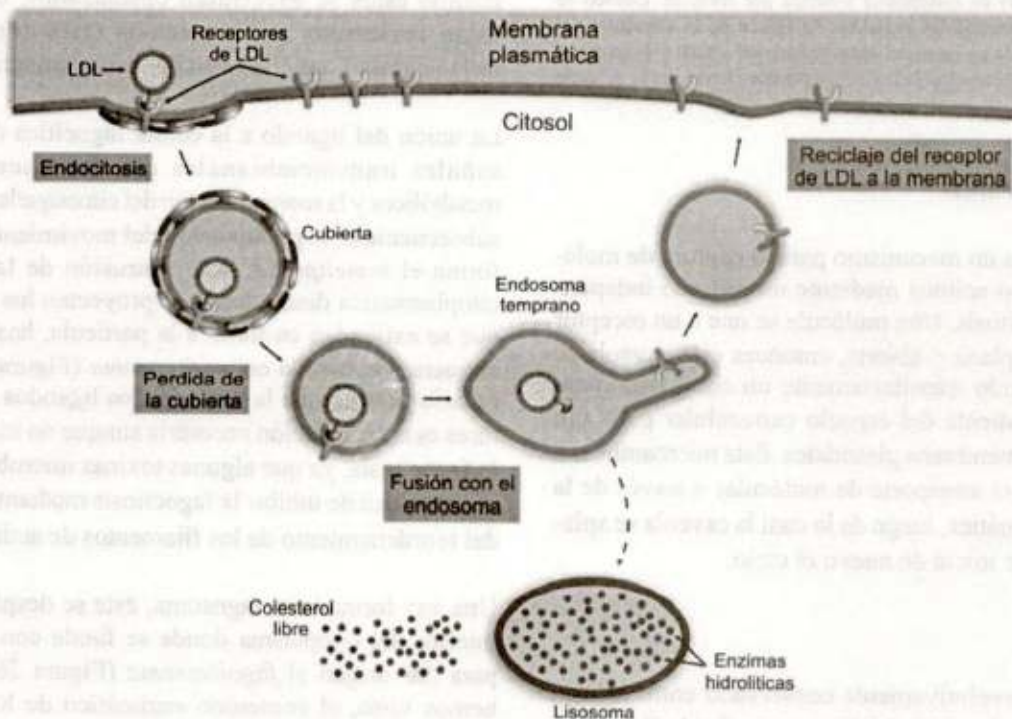


Figura 24. En esta figura se presenta la captura mediante endocitosis mediada por receptor y el proceso celular que sufren los complejos macromoleculares de LDL que en última instancia liberan colesterol en el lisosoma.

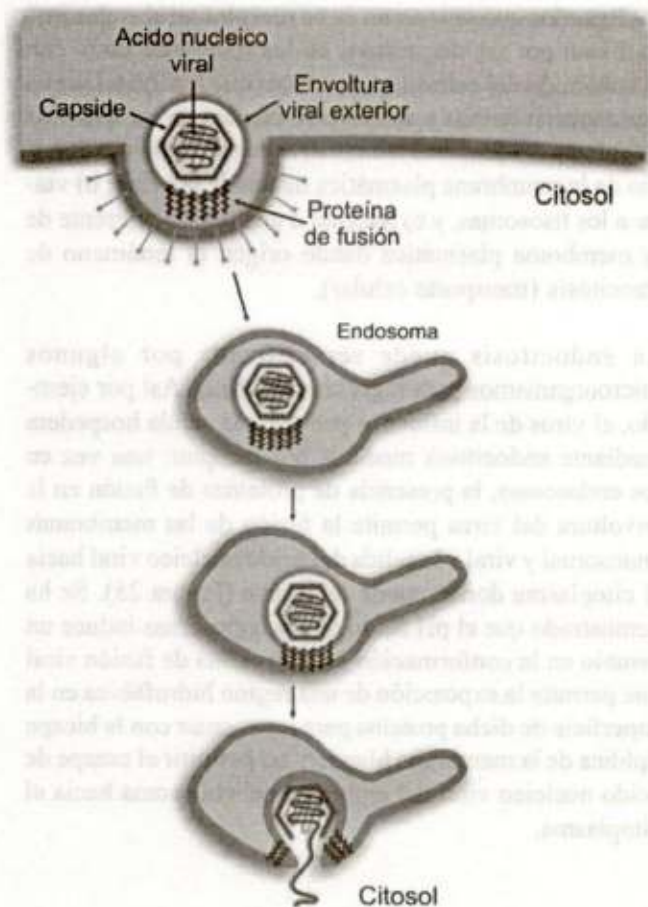


Figura 25. El virus de la influenza puede infectar las células hospederas gracias al mecanismo de endocitosis mediada por receptor. Cuando se encuentra en el endosoma las proteínas de fusión de la envoltura del virus permiten la unión de las membranas endosomal y viral y la posterior salida del ácido nucleico viral hacia el citoplasma donde inicia su ciclo replicativo.

### Caveolas y potocitosis

La potocitosis es un mecanismo para la captura de moléculas pequeñas o solutos mediante un proceso independiente de endocitosis. Una molécula se une a un receptor en una caveola plana o abierta, entonces esta caveola se invagina formando transitoriamente un compartimiento sellado independiente del espacio extracelular pero aun contiguo con la membrana plasmática. Este microambiente cerrado facilita el transporte de moléculas a través de la membrana plasmática, luego de lo cual la caveola se aplanada o se abre y se inicia de nuevo el ciclo.

### Fagocitosis

Es un proceso evolutivamente conservado entre células de plantas, animales y aún protozoos; mediante él es posible la incorporación de macromoléculas e incluso de otras células. En los protozoos reviste un carácter nutricional ya que el producto de la digestión de las partículas ingeri-

das se utiliza como fuente de energía. Algunas plantas leguminosas fagocitan bacterias fijadoras de nitrógeno, y con ellas establecen relaciones de simbiosis que garantizan una fuente de nitrógeno orgánico. Se postula que durante la evolución de las células eucarióticas hubo un proceso semejante de simbiosis, que condujo a la inclusión de los cloroplastos y de las mitocondrias en el interior de las células primitivas.

La mayor parte de las células de los organismos multicelulares no son capaces de ingerir eficientemente partículas de más de 1  $\mu\text{m}$  de diámetro y por tanto esta función la desempeñan células especializadas. Las células fagocíticas profesionales son los *leucocitos polimorfonucleares* (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y los *fagocitos mononucleares* (monocitos y macrófagos).

Las células fagocíticas profesionales son capaces de ingerir y digerir microorganismos enteros, partículas insolubles, células muertas, restos celulares y factores de la coagulación, entre otros. Estas células se desplazan en respuesta a estímulos de naturaleza química, proceso denominado *quimiotaxis*. Las células fagocíticas profesionales expresan en su membrana una amplia gama de receptores, entre los que se encuentran receptores para las inmunoglobulinas, para los factores del sistema complemento y para residuos de manosa, entre otros. La eficiencia de la fagocitosis de microorganismos se incrementa cuando éstos se encuentran opsonizados, es decir que están revestidos por moléculas tales como algunas inmunoglobulinas o sistema del complemento.

La unión del ligando a la célula fagocítica desencadena señales transmembranales que favorecen cambios metabólicos y la reorganización del citoesqueleto. El evento subsecuente es la polarización del movimiento celular, se forma el *lamelipodio*, una protrusión de la membrana citoplasmática desde donde se proyectan los pseudópodos que se extienden en torno a la partícula, hasta formar la estructura conocida como *fagosoma* (Figura 26). Es necesario resaltar que la unión de los ligandos a sus receptores es una condición necesaria aunque no suficiente para la fagocitosis, ya que algunas toxinas microbianas tienen la capacidad de inhibir la fagocitosis mediante el bloqueo del reordenamiento de los filamentos de actina.

Una vez formado el fagosoma, éste se desplaza hacia el interior del citoplasma donde se funde con el lisosoma para dar origen al *fagolisosoma* (Figura 26). Como ya hemos visto, el contenido enzimático de los lisosomas tiene la capacidad de degradar los polímeros en sus unidades constitutivas; es así como, las nucleasas degradan los ácidos nucleicos en los nucleótidos; las proteasas de-

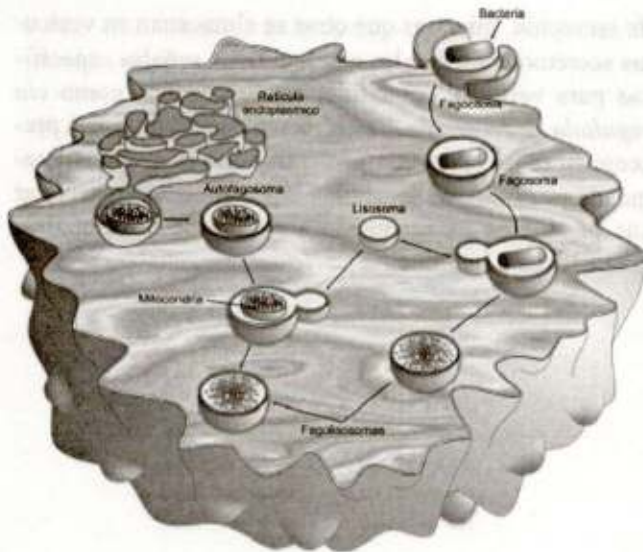


Figura 26. Las células fagocíticas son capaces de ingerir y destruir microorganismos, partículas insolubles, células muertas, restos celulares y otros agregados de macromoléculas. Una vez la célula reconoce la partícula a ser fagocitada se forman proyecciones de la membrana o pseudópodos que se extienden en torno a dicha partícula para ingerirla dentro de una vacuola conocida como el fagosoma; posteriormente el fagosoma se desplaza hacia el interior del citoplasma donde se fusiona con el lisosoma para dar origen al fagolisosoma. Pero además de fagocitar partículas externas, las células pueden realizar una fagocitosis de organelas; por ejemplo, las mitocondrias, fenómeno conocido como autofagocitosis.

gradan las proteínas y los péptidos; las fosfatasa remueven grupos fosfato de los mononucleótidos y de los fosfolípidos, mientras que otras enzimas se encargan de la digestión de los polisacáridos y los lípidos hasta sus constituyentes menores. Las moléculas pequeñas que resultan de este proceso de digestión (aminoácidos, azúcares, nucleótidos, ácidos grasos) son transportadas a través de la membrana lisosomal hacia el citoplasma donde pueden ser utilizadas por la célula. Todas las enzimas lisosomales actúan más eficientemente en condiciones ácidas, de ahí que reciban la denominación general de hidrolasas ácidas. La bomba transportadora de iones  $H^+$  (ATP-asa  $H^+$ ) junto con los canales para el anión  $Cl^-$ , ubicados en la membrana de la organela, garantizan que el pH en su interior se mantenga alrededor de 4,8.

La energía metabólica para la fagocitosis procede, fundamentalmente, de la glucólisis; además, las células fagocíticas profesionales pueden derivar energía adicional de la creatinina fosfato. Durante la ingestión de partículas por los fagocitos profesionales hay un aumento significativo del consumo de NADPH y de oxígeno proceso denominado "explosión respiratoria" de las células fagocíticas, que implica la generación, entre otras sustancias, del anión superóxido, el cual es el precursor para

la generación de varias especies reactivas del oxígeno, que tienen un papel importante en la defensa contra microorganismos patógenos (Figura 27). No obstante, la explosión respiratoria no es un evento indispensable para que ocurra la fagocitosis.

### Excreción celular: exocitosis

En todas las células eucarióticas existe un transporte continuo de las vesículas generadas en el aparato de Golgi hacia la membrana plasmática, proceso denominado exocitosis. Las vesículas se encuentran cargadas con material de diferente tipo, el cual puede incorporarse o bien a la membrana plasmática o bien a la matriz extracelular, desde donde se difunden al líquido intersticial o ingresa a la circulación sanguínea.

Después de su síntesis en los ribosomas, aquellas proteínas que tienen como destino la secreción al medio extracelular, ingresan al retículo endoplasmático y luego son transportadas al aparato de Golgi, donde son modifi-

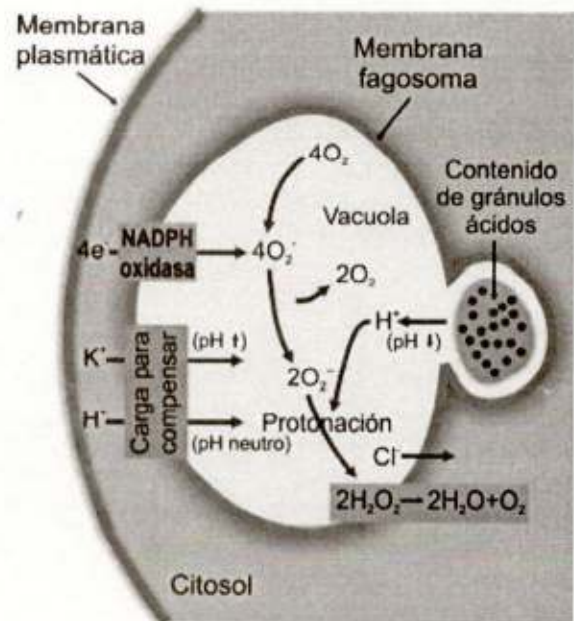


Figura 27. La fagocitosis en las células fagocíticas profesionales es acompañada de un fenómeno conocido como explosión respiratoria, la cual no tiene nada que ver con la respiración celular que ocurre en las mitocondrias. Durante este fenómeno se produce un flujo de electrones desde el citosol hacia el fagolisosoma, proceso que es catalizado por un sistema enzimático conocido como NADPH oxidasa. Estos electrones son recibidos por el oxígeno molecular presente en la vacuola, lo cual da origen a una cascada de reacciones de oxido-reducción que permiten la generación de diferentes especies reactivas del oxígeno. Además se producen flujos de iones ( $K^+$ ,  $H^+$  y  $Cl^-$ ) para compensar los cambios electroquímicos que genera ese flujo de electrones. Todos estos fenómenos son importantes para la destrucción de los microorganismos fagocitados por estas células.

vacuolas, concentradas, clasificadas y empaquetadas. Las vesículas de transporte se desprenden y se desplazan hasta la membrana citoplasmática en donde se funden con ella, para verter, así, su contenido al espacio extracelular (Figura 18).

Algunas macromoléculas se secretan continuamente por medio de un mecanismo conocido como *vía constitutiva*

en la que las moléculas secretoras se encuentran en vesículas que se desprenden de los aparatos de Golgi y se dirigen directamente a la membrana plasmática. Este tipo de secreción es conocida como *vía constitutiva*.

Grupos de moléculas se dirigen en los aparatos de Golgi y se dirigen a la membrana plasmática en donde se funden con ella, para verter, así, su contenido al espacio extracelular. Este tipo de secreción es conocida como *vía regulada*.



Figura 18. El ciclo de secreción en las células animales. El material se sintetiza en el retículo endoplásmico rugoso y se dirige al aparato de Golgi. Desde el aparato de Golgi, el material puede ser transportado directamente a la membrana plasmática o almacenado en vesículas secretoras. Estas vesículas se dirigen a la membrana plasmática y se fusionan con ella, para verter, así, su contenido al espacio extracelular. Este tipo de secreción es conocida como *vía regulada*.

*de secreción*, mientras que otras se almacenan en vesículas secretoras especiales que requieren señales específicas para verter su contenido, ésta se conoce como *vía regulada de secreción*. La secreción constitutiva está presente en todas las células, mientras que la exocitosis regulada es exclusiva de células especializadas en secretar sus productos en respuesta a estímulos hormonales, enzimáticos o neuronales.



Figura 19. Micrografía electrónica que muestra el aparato de Golgi y vesículas secretoras. El aparato de Golgi es una estructura formada por una serie de compartimentos (cisternas) que se dirigen a la membrana plasmática. Las vesículas secretoras se desprenden del aparato de Golgi y se dirigen a la membrana plasmática, donde se fusionan con ella, para verter, así, su contenido al espacio extracelular. Este tipo de secreción es conocida como *vía regulada*.

Las moléculas secretoras se dirigen a la membrana plasmática y se fusionan con ella, para verter, así, su contenido al espacio extracelular. Este tipo de secreción es conocida como *vía regulada*. La secreción constitutiva está presente en todas las células, mientras que la exocitosis regulada es exclusiva de células especializadas en secretar sus productos en respuesta a estímulos hormonales, enzimáticos o neuronales.

La secreción constitutiva es un mecanismo de secreción que está presente en todas las células. Este tipo de secreción es conocida como *vía constitutiva*. La secreción regulada es un mecanismo de secreción que está presente en células especializadas en secretar sus productos en respuesta a estímulos hormonales, enzimáticos o neuronales.