

## Citoesqueleto y movilidad celular

Angel González, MSc<sup>1</sup>, Cesar Segura, PhD<sup>2</sup>,

<sup>1</sup> Investigador asistente, Cand. Dr. Sci, Grupo de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB.

<sup>2</sup> Grupo Malaria, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

El citoesqueleto es un componente fundamental del citoplasma de las células eucarióticas; esta estructura ayuda a establecer la forma de la célula brindando resistencia mecánica a la membrana y permitiendo la organización espacial de los tejidos. Junto con otras proteínas motoras asociadas, el citoesqueleto determina un amplio rango de funciones celulares que incluyen: la migración celular, el movimiento de las organelas intracitoplasmáticas y la división celular. El citoesqueleto está conformado por una red de tres clases de filamentos: los filamentos de actina, los microtúbulos y los filamentos intermediarios.

Los filamentos de actina determinan la forma de la superficie de las células y son necesarios para la locomoción celular; los filamentos intermediarios proporcionan fuerza y resistencia mecánica ante las condiciones de estrés; mientras los microtúbulos determinan la posición de las organelas que interactúan con la membrana y su transporte intracelular. Sin embargo, estos filamentos del citoesqueleto no son funcionales por sí mismos, su utilidad en la célula depende de varias proteínas accesorias que ligan los filamentos así como a otros componentes de la célula. Las proteínas accesorias son esenciales para el control del ensamblaje de los filamentos del citoesqueleto e incluyen proteínas motoras que mueven las organelas a lo largo de los filamentos o los filamentos mismos. Por ejemplo, el citoesqueleto le permite a los espermatozoides nadar y a los fibroblastos y células blancas, migrar sobre superficies; es parte de la maquinaria de contracción de la

célula muscular y en las neuronas extiende los axones y las dendritas, además dirige el crecimiento de la pared de las células vegetales y controla la diversidad de las formas celulares.

La migración celular es un proceso importante durante la vida, tanto de los microorganismos como de los organismos más complejos. En estos últimos, la movilidad celular es crucial para la formación, desarrollo y mantenimiento de los tejidos. Así, por ejemplo, este proceso es esencial para la cicatrización de las heridas y para que ocurra una respuesta inmune adecuada. Adicionalmente, en muchas circunstancias los microorganismos patógenos para el hospedero pueden interactuar con componentes del citoesqueleto de las células que infectan y de esta manera permiten crear un nicho apropiado para su supervivencia y replicación. Por otro lado, las diferentes proteínas y los diferentes mecanismos reguladores que participan en el sistema del citoesqueleto son vulnerables a mutaciones genéticas, de manera que pueden sufrir alteraciones en los niveles de expresión, lo que puede traducirse en enfermedad. Una de las situaciones más importantes en las que pueden ocurrir defectos en la regulación del citoesqueleto es el cáncer, el cual se caracteriza por una presentación aberrante de la migración celular que permite la invasión y la metástasis. Éstas alteraciones, en particular, están relacionadas con un desarreglo en el sistema de actina.

A continuación se hace una presentación de las características moleculares más relevantes del citoesqueleto, de su función en las células, de la señalización intracelular relacionada con la activación de estas estructuras y de su relación con algunas enfermedades en el humano.

## Filamentos de Actina

Los filamentos de actina, conocidos también como microfilamentos, están conformados por actina, la cual es la proteína intracelular más abundante en las células eucarióticas, tanto que comprende aproximadamente entre el 5 y el 10% del peso total de las proteínas celulares. Los filamentos de actina, son fibras delgadas y flexibles de aproximadamente 7 nm de diámetro que alcanzan varios micras de longitud. La actina está presente aun en los organismos eucariotes más primitivos tales como las levaduras, las cuales solo poseen un solo gen de actina. Por su parte, los eucariotes superiores expresan diferentes tipos de actina, codificados por diferentes miembros de genes de la familia de actina; sin embargo, estas proteínas son muy similares en su secuencia de aminoácidos y esta conservación a lo largo de la evolución indica su importancia para todos los organismos (Figura 1).

Los microfilamentos se organizan en estructuras especializadas formando paquetes o manojos paralelos de fibras de actina ("bundles") o pueden formar estructuras más complejas en forma de mallas o retículos (Figura 1). Estas estructuras en forma de mallas, se subdividen a su vez en dos tipos: Un tipo está asociado con las membranas nucleares y citoplasmáticas, en forma de una estructura planar (en dos dimensiones) como una red o tejido;

el otro tipo es una estructura tridimensional, la cual se encuentra presente en el citoplasma y le confiere propiedades de un gel semisólido; esta última estructura es formada por filamentos de actina que se entrecruzan generalmente formando ángulos rectos. El ensamble y desensamble de los filamentos de actina, su entrecruzamiento, la formación de las diferentes estructuras y su asociación con otras estructuras celulares son regulados por una variedad de proteínas, denominadas proteínas de unión a la actina, las cuales a su vez son componentes esenciales del citoesqueleto.

Los filamentos de actina se encuentran en mayor abundancia debajo de la membrana plasmática, donde tienen una disposición particular formando una malla que provee un soporte mecánico, fundamental para la morfología celular y para el movimiento de la superficie celular, lo que a su vez capacita la célula para su migración. Además, esta disposición de los filamentos facilita la ingestión de partículas y la división de las células.

Como se mencionó antes, la actina existe como un monómero globular llamado *actina-G* de aproximadamente 43 kDa (375 aminoácidos) y como un polímero filamentoso llamado *actina-F*, la cual es un polímero lineal de cadenas de subunidades de actina-G (Figura 1). Cada molécula de actina se encuentra unida a un ión de magnesio ( $Mg^{2+}$ ) y a un nucleótido de ATP (adenosin trifosfato) o de ADP (adenosin difosfato). Como consecuencia de esto, las moléculas de actina se pueden encontrar en cuatro estados diferentes: actina-G-ATP, actina-G-ADP, actina-F-ATP y actina-F-ADP, siendo las formas de actina-ATP las que predominan en la célula. El ensam-

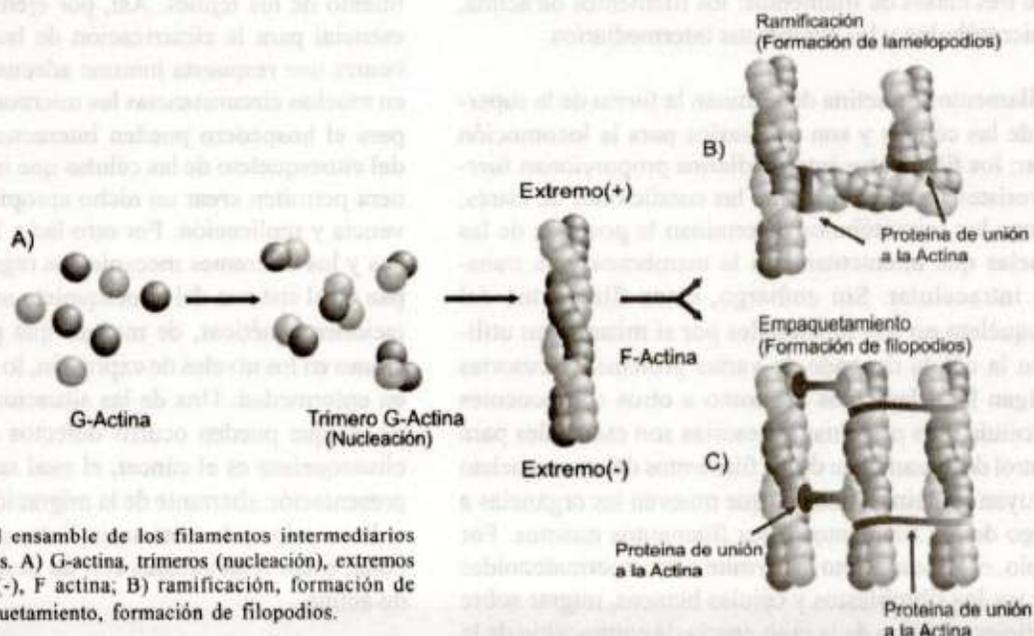


Figura 1. Diagrama del ensamble de los filamentos intermediarios lamelopodios y filopodios. A) G-actina, trimeros (nucleación), extremos positivo (+), negativo (-), F actina; B) ramificación, formación de lamelopodios C) empaquetamiento, formación de filopodios.

blaje (polimerización) de actina-G en actina-F está acompañado por la hidrólisis de ATP en ADP y fosfato. Sin embargo, se ha demostrado que la hidrólisis de ATP afecta la cinética de polimerización, pero no es necesaria para que ésta ocurra. La capacidad de la actina G para polimerizarse en actina-F o por el contrario la depolimerización de la actina-F en actina-G es una de las propiedades importantes de esta molécula.

Los filamentos de actina se caracterizan por su polaridad y sus extremos son distinguibles uno del otro; de esta manera, hay un extremo negativo (*minus end*) y otro extremo positivo (*plus end*) (Figura 1). La polaridad de los filamentos de actina es importante tanto para el ensamble de los monómeros de actina-G, como para el establecimiento de la dirección del movimiento de una de las proteínas asociadas a estas estructuras, la miosina (esencial en el movimiento celular). El primer paso en la polimerización de la actina, llamado nucleación, es la formación de un pequeño agregado consta de tres monómeros de actina. Una vez ocurre la nucleación, los filamentos de actina crecen por una adición reversible de monómeros de actina-G en ambos extremos, pero el extremo positivo se alarga o se extiende de cinco a 10 veces más rápido que el extremo negativo.

La regulación del ensamblaje y desensamblaje de los filamentos de actina depende de proteínas de unión a la actina, las cuales inhiben o promueven su polimerización. La proteína clave, responsable para el desensamblaje de los filamentos de actina en la célula es la *cofilina*, la cual, uniéndose

a los filamentos de actina, aumenta la disociación de los monómeros de actina desde el extremo negativo. Por otro lado, la proteína denominada *profilina*, revierte el efecto de la cofilina y estimula la incorporación de monómeros de actina a los filamentos. La profilina, se une a los monómeros de actina-ATP de forma estable y probablemente promueve el ensamblaje de los filamentos de actina. Otras proteínas, entre las que se encuentra el complejo *Arp2/3* conformado por dos proteínas (*Arp2* y *Arp3*), sirven como sitio de nucleación para iniciar el ensamblaje de nuevos filamentos de actina. El complejo de proteínas relacionadas con la actina incluye otras cinco proteínas pequeñas, que cuando son activadas se unen a un filamento existente de actina e inicia un nuevo ensamblaje de filamentos de actina. Así la cofilina, la profilina y las proteínas *Arp2/3*, como también otras proteínas de unión a la actina, pueden actuar en conjunto para promover un ciclo rápido de formación de filamentos de actina y participar en la remodelación del citoesqueleto de actina que es fundamental para una variedad de movimientos celulares y cambios en la morfología de la célula. Existen otras proteínas asociadas a la actina, estas proteínas se unen a los filamentos de actina y determinan la organización de estos filamentos. Estas proteínas pertenecen a la superfamilia de la *calponina*, denominada así porque dichas moléculas se caracterizan por tener dominios de homología a la proteína muscular calponina (CH) (Tabla 1).

Adicionalmente, dentro de esta compleja interacción de proteínas del citoesqueleto y proteínas de unión a la actina,

Tabla 1. Proteínas que se unen o se asocian a la actina y participan en el ensamblaje de los filamentos y en el mantenimiento de la estructura celular

<i>Proteínas de unión a la actina</i>	<i>Función</i>
Cofilina	Desensamblaje de los filamentos
Profilina	Estimula la incorporación de monómeros de actina a los filamentos; intercambio de ADP por ATP
Arp2/3	Sitio de nucleación, inicia el ensamblaje de actina
<i>Proteínas asociadas a la actina</i>	
Fimbrina	Entrecruzamiento de los filamentos de actina, forma paquetes de filamentos (rígidos)
$\alpha$ -actinina	Entrecruzamiento de los filamentos de actina, forma paquetes de filamentos (contráctiles)
Filamina	Entrecruzamiento de los filamentos de actina formando redes o mallas ortogonales
<i>Proteínas de la membrana asociadas a la actina</i>	
Espectrina, ankirina, banda 3, proteína 4.1	En conjunto con los filamentos de actina, proveen la forma estructural a los glóbulos rojos sanguíneos
Distrofina	Mantenimiento de la estabilidad celular durante la contracción muscular

existen otras proteínas que asocian los filamentos de actina con la membrana plasmática o con proteínas de la matriz extracelular, que permiten estabilizar la forma de la célula o la interacción con otras células (Tabla 1).

## Filamentos intermedarios

Los filamentos intermedarios (FI) se asocian con la membrana plasmática, por lo cual se sugiere que juegan un papel estructural y ayudan a sostener las células y los tejidos. El papel de soporte es evidente en el cabello, garras y epidermis más externa, los cuales son células muertas que están compuestas por FI. A diferencia de los microfilamentos y microtúbulos los FI no participan en la movilidad celular. Varias propiedades físicas y químicas distinguen los FI de los microfilamentos y microtúbulos: los FI están conformados por proteínas filamentosas que son expresadas en diferentes tipos de células (Figura 2); a diferencia de los microfilamentos y los microtúbulos los FI no tienen actividad enzimática alguna, de manera que pueden ensamblarse en ausencia de ATP y GTP; además, tienen un diámetro aproximado de 10 nm que es menor que el de los microtúbulos (25 nm) y más amplio que el de los microfilamentos (7 nm). A diferencia de los filamentos de actina y los microtúbulos, los FI son apolares, es decir, no tienen extremos positivos y negativos. Las proteínas de los FI son frecuentemente modificadas por fosforilación, lo cual puede regular su ensamblaje y desensamblaje dentro de la célula.

Las proteínas de los FI han sido divididas en cinco grupos distintos de acuerdo a las bases de su estructura primaria, la estructura de sus genes, las propiedades de ensamblaje y sus patrones de expresión específicos de tejido regulados durante el desarrollo (Tabla 2). Las proteínas de los FI tipos I y II (*las queratinas*), forman heteropolímeros en las células epiteliales. Por el contrario, las proteínas de los FI tipo III, que incluyen *vimentina*, *desmina*, *proteína fibrilar ácida de las células gliales* (GFAP del inglés glial fibrillary acidic protein) y la *periferina*, forman homopolímeros de FI. Las proteínas de los FI tipo IV incluyen tres subunidades de las llamadas proteínas de los *neurofilamentos* (NF-L, NF-H y NF-

M), la *nestina*, la *sincolina* y la  *$\alpha$ -internexina*. Las proteínas de los FI nucleares como la *lamina A* y su isoforma *lamina C* en conjunto con la *lamina B1* y la *lamina B2*, comprenden el grupo tipo V. Esta familia consta de más de 65 genes diferentes, la cual codifica para las cinco diferentes categorías de FI, cuatro de las cuales están localizadas en el citoplasma (los tipos I-IV, que pertenecen a los FI del citoesqueleto) y la otra se localiza en el núcleo (tipo V, las láminas nucleares o FI del núcleo-esqueleto). Los patrones de expresión de los FI son específicos de las células y de los tejidos, y provee a cada tipo de célula una especie de huella digital.

Los FI forman una red elaborada en el citoplasma de muchas células y se extienden desde un anillo que se forma alrededor del núcleo hasta la membrana plasmática. Por ejemplo, los filamentos de queratina y vimentina se adhieren a la envoltura nuclear, y aparentemente sirven para posicionar y anclar el núcleo dentro de la célula. De esta manera, las estructuras citoplasmáticas pueden asociarse no solo con la membrana plasmática, sino también con los otros elementos mediante proteínas asociadas con los FI.

En la membrana plasmática, los FI están adheridos mediante proteínas adaptadoras a sitios de unión de la célula en el tejido epitelial, estos sitios especializados son llamados *desmosomas* y *hemidesmosomas*, y median la adhesión célula-célula y la adhesión célula-matriz extracelular, respectivamente. De esta manera, los FI en una célula están indirectamente conectados a los FI en una célula vecina o a la matriz extracelular por medio de proteínas tipo integrinas.

Contrario a lo que se pensaba, en el sentido de que los FI eran generalmente estructuras más estables que los filamentos de actina y los microtúbulos y no presentaban un comportamiento dinámico, estudios recientes han demostrado que la asociación de los FI con proteínas motoras presentes en los filamentos de actina y en los microtúbulos, les confieren a los FI una participación más dinámica y activa dentro del sistema del citoesqueleto. De esta manera, hoy se sabe que los FI presentan dos tipos de movimientos en forma bidireccional: un movimiento

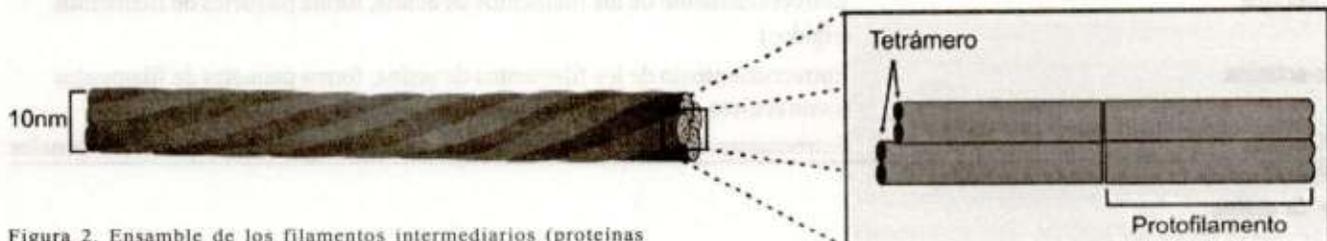


Figura 2. Ensamblaje de los filamentos intermedarios (proteínas filamentosas): dos cadenas forman una estructura enrollada, los dímeros se asocian en forma antiparalela para formar tetrámeros, los cuales se ensamblan extremo con extremo para formar los protofilamentos.

Tabla 2. Clasificación de las proteínas que conforman los filamentos intermedios.

Tipo	Proteína	Localización
I	Queratinas ácidas	Células epiteliales
II	Queratinas básicas	Células epiteliales
III	Vimentina Desmina GFAP* Periferina Sinemina	Células mesenquimales Células musculares Células gliales, astrositos Varios tipos de neuronas Células musculares
IV	NF-L NF-M NF-H Nestina $\alpha$ -internexina Sincolina	Neuronas Neuronas Neuronas Células tallo neuro-epiteliales Neuronas Células musculares
V	Lámina A, B1, B2 y C	Núcleo celular

\*GFAP, proteína fibrilar ácida de las células gliales; NF, neurofilamento.

*anterógrado* (estos FI se mueven en dirección a la periferia de la célula) y un movimiento *retrogrado* (los FI se muevan en dirección al núcleo).

## Microtúbulos

Los microtúbulos son el tercer componente principal del citoesqueleto; son estructuras rígidas en forma de bastón o rodillo con una cavidad central, de aproximadamente 25 nm de diámetro. La principal función de los microtúbulos es el movimiento de algunas de las estructuras de la célula como los cromosomas y otras organelas internas. Adicionalmente, los microtúbulos proveen un soporte mecánico para la morfología celular y actúan como una vía o camino a lo largo del cual los motores moleculares (proteínas que participan activamente en el movimiento) mueven las organelas de un lado a otro, en el interior de la célula (Figura 3).

Los microtúbulos están conformados por un tipo único de proteína globular llamada *tubulina*. La tubulina es un dímero que consta de dos polipéptidos de 55 kDa, la  $\alpha$ -tubulina y la  $\beta$ -tubulina. Estos polipéptidos son a su vez, codificados por familias pequeñas de genes relacionados. Adicionalmente, existe un tercer tipo de tubulina, la  $\gamma$ -tubulina, la cual se encuentra localizada específicamente

en el centrosoma, conocido como el centro de organización de los microtúbulos (*MTOC del inglés microtubule-organizing center*); ésta participa en la iniciación del ensamblaje de los microtúbulos, los cuales se extienden o crecen desde el centrosoma a la periferia de la célula. Los microtúbulos se ensamblan por la polimerización de los dímeros de tubulina  $\alpha$  y  $\beta$ . Este proceso de polimerización ocurre de acuerdo a la polaridad de los dímeros de tubulina, lo que a su vez determina la polaridad de los microtúbulos. Al igual que los filamentos de actina, los microtúbulos presentan dos extremos diferentes, un extremo positivo (*plus end*) y un extremo negativo (*minus end*). El extremo positivo está determinado por la subunidad  $\beta$  de la tubulina y es de polimerización rápida, mientras el extremo negativo está determinado por la subunidad  $\alpha$  de la tubulina y es de polimerización lenta (Figura 3). Esta polaridad es importante, ya que determina la dirección del movimiento a lo largo de los microtúbulos, justo como sucede con los filamentos de actina. En las células animales, los extremos negativos están anclados generalmente a los *centrosomas*, los cuales consisten en estructuras especializadas basadas en microtúbulos llamadas *centriolos*, que están rodeados por proteínas *pericentriolares* y localizados cerca al núcleo de la célula, mientras los extremos positivos se encuentran localizados hacia la periferia de la célula.

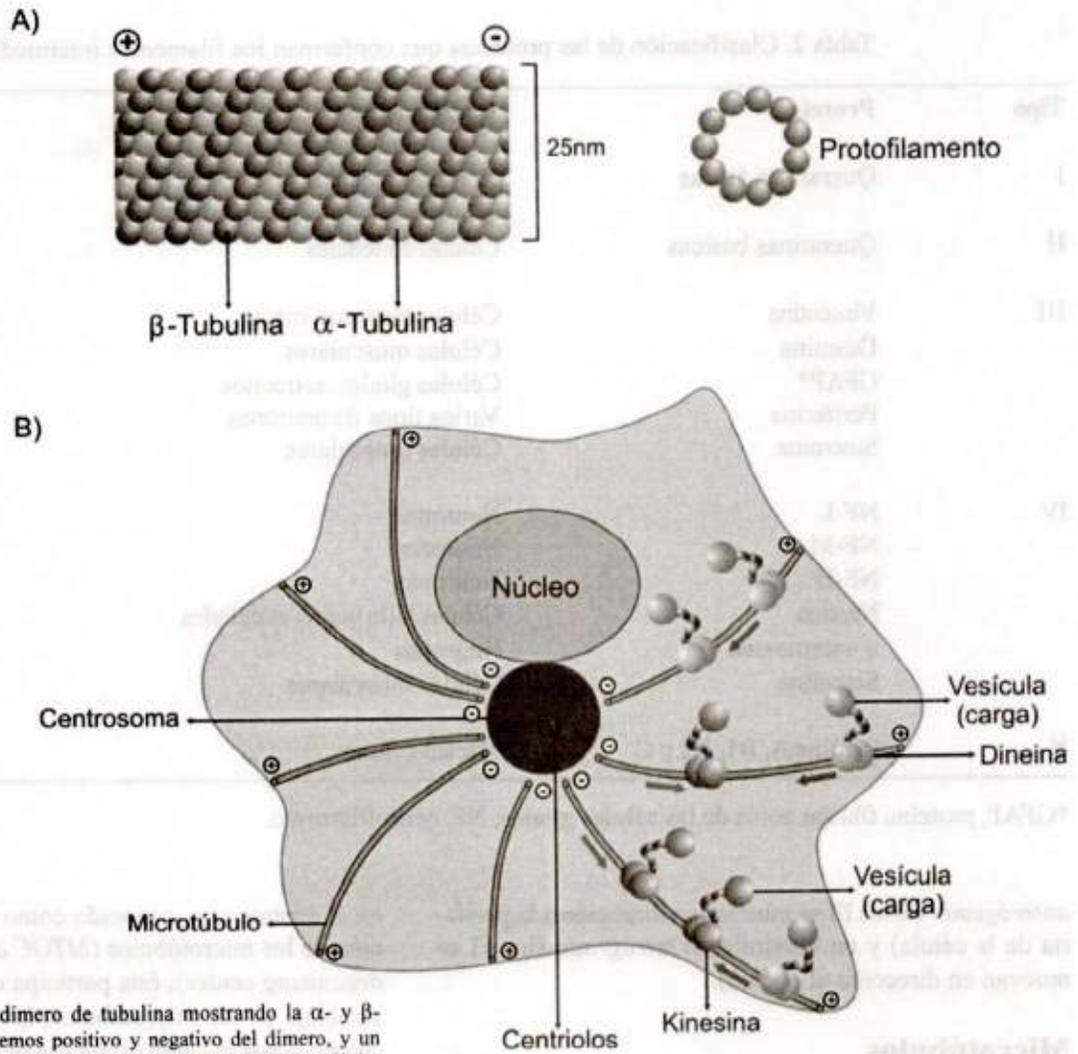


Figura 3 A) Estructura del dímero de tubulina mostrando la  $\alpha$ - y  $\beta$ -tubulinas; obsérvese los extremos positivo y negativo del dímero, y un corte transversal. B) Esquema general del centrosoma en la célula, microtúbulos, centriolos, obsérvese los motores moleculares kinesina y dineína empleando los microtúbulos como vías de acceso a la célula.

Una vez ensamblados, los arreglos de microtúbulos proveen una vía o camino para el transporte de las organelas y de los cromosomas durante la división celular. Este transporte es dirigido por proteínas motoras como la *kinesina* y la *dineína* que interactúan con los microtúbulos y se mueven a lo largo de la superficie lateral de estas estructuras. Estas proteínas motoras son máquinas moleculares que traducen la energía química derivada de la hidrólisis del GTP, en un trabajo mecánico utilizado para la movilidad celular. Además de la polimerización y despolimerización de los dímeros de tubulina, los microtúbulos pueden ensamblarse y desensamblarse. Tanto la  $\alpha$ -tubulina como la  $\beta$ -tubulina se unen al GTP y funcionan de una manera análoga a la unión del ATP a la actina, regulando su polimerización. De manera general, el GTP se une a la  $\beta$ -tubulina y es hidrolizado a GDP durante el proceso de polimerización, fenómeno conocido como *inestabilidad dinámica*, proceso en el cual los microtúbulos individuales se alternan entre ciclos de cre-

cimiento (extensión) o reducción (encogimiento o contracción). Este proceso de inestabilidad dinámica, resulta en la polimerización continua y de rápido inicio de los microtúbulos, los cuales tienen una vida media de algunos minutos dentro de la célula; éste es un proceso crítico para la remodelación del citoesqueleto que ocurre durante la mitosis.

Los microtúbulos presentan dos tipos de movimiento: un movimiento unidireccional, el cual es mediado por la proteína motora kinesina I que posee dos dominios de unión a los microtúbulos y dirige el movimiento generalmente hacia la periferia de la célula; el otro movimiento es bidireccional y está relacionado principalmente con el movimiento de organelas. El movimiento bidireccional se caracteriza porque después de iniciar el movimiento, las organelas pueden parar y cambiar de dirección, lo cual se ha descrito para vesículas secretoras, endosomas, fagosomas, mitocondrias y partículas virales.

Algunas proteínas celulares participan en el desensamblaje de los microtúbulos, ya sea separando los microtúbulos o incrementando la proporción de despolimerización de tubulina de los extremos. Otras proteínas, llamadas *proteínas asociadas a los microtúbulos (MAPs)* se unen a estas estructuras incrementando su estabilidad. Tales uniones le permiten a la célula estabilizar los microtúbulos en sitios específicos, lo cual es un mecanismo importante para determinar la morfología y la polaridad celular. Se ha identificado un número importante de MAPs, que varían dependiendo del tipo de célula. Las mejor caracterizadas son *MAP-1*, *MAP-2* y *tau* (aisladas de células neuronales), y *MAP-4*, la cual está presente en células no-neuronales. La actividad de estas MAPs es regulada mediante fosforilación, permitiendo a la célula controlar la estabilidad de los microtúbulos.

## Motores Moleculares

Muchos de los tipos de movimiento en los organismos están impulsados por minúsculas maquinarias proteicas conocidas como motores moleculares. Estos motores transportan una amplia variedad de cargas (vesículas y organelas), participan en la movilidad celular, dirigen la división celular, y cuando se combinan y se ensamblan con otras proteínas permiten el movimiento de la célula. Actualmente, se conocen tres tipos de motores moleculares que se encuentran en el citoplasma: las *miosinas*, que se mueven a lo largo de los filamentos de actina, mientras las *dineínas* y las *kinesinas* usan los microtúbulos como vías de movimiento (Figura 4).

Existen diversas clases de miosina: I, II, III, V, VI, VII, IX y XV (Tabla 3). La miosina tipo II, es la proteína motor que se encuentra en las células musculares; es una

molécula de gran tamaño (alrededor de 500 kDa) y consiste en dos cadenas pesadas y dos pares de cadenas livianas (llamadas cadenas livianas esenciales y regulatorias). Las cadenas pesadas tienen regiones globulares (cabezas) y las livianas forman las colas en forma de estructuras  $\alpha$ -helicoidales que se enrollan una en la otra para formar dímeros (Figura 4). Adicionalmente, existen isoformas de la miosina II en células no musculares como las neuronas (la miosina IIA, IIB y IIC). Éstas proteínas motoras se mueven a lo largo de los filamentos de actina generalmente hacia el extremo positivo.

La kinesina, es una molécula de aproximadamente 380 kDa que consta de dos cadenas pesadas y dos cadenas livianas. Las cadenas pesadas tienen regiones  $\alpha$ -helicoidales que se enrollan una en la otra formando una estructura superenrollada en forma de serpiente. Los dominios de la cabeza globular amino terminal de las cadenas pesadas son los dominios motores de la molécula (Figura 4). Existen más de 100 miembros diferentes de kinesinas en el humano, la mayoría de las cuales se mueven a lo largo de los microtúbulos hacia los extremos positivos.

La dineína es una molécula bastante grande, con un tamaño aproximado de 2000 kDa, que consta de dos o tres cadenas pesadas (cada una aproximadamente de 500 kDa) unidas con un número variable de cadenas livianas e intermedias que tienen un tamaño aproximado de 14 a 120 kDa (Figura 4). Como en las kinesinas, la estructura globular (cabeza) de las cadenas pesadas constituyen los dominios motores de unión al ATP, y son los responsables del movimiento a lo largo de los microtúbulos y, en el caso de las dineínas, en dirección a los extremos negativos. Existen muchos tipos de dineínas, y son clasificadas principalmente en dos grupos: las dineínas axonemales

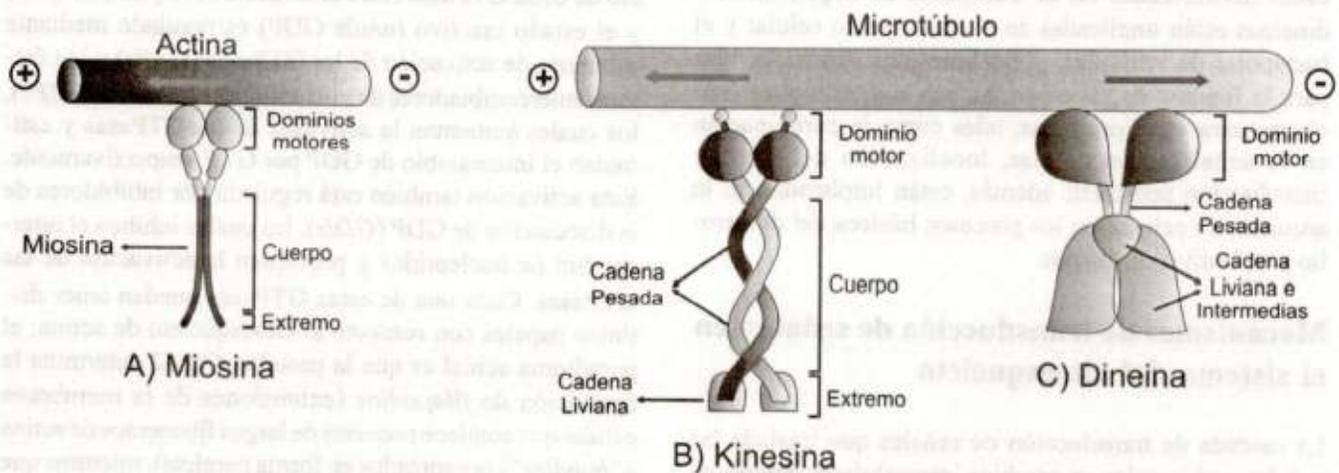


Figura 4. Esquema general de los filamentos de actina y microtúbulos mostrando los dominios de las proteínas de unión. A) miosina: dominio motor; cuerpo y extremo. B) kinesina: dominio motor; cuerpo, cadena pesada y extremo, cadena ligera; C) dineína: dominio motor; cadena pesada y cadena, liviana e intermedia.

Tabla 3. Diferentes tipos de miosina y sus isoformas y su participación en el desarrollo embrionario y en el sistema sensorial.

Tipo de miosina	Función en el desarrollo o en el sistema sensorial
I ( B,C,D) y II (A,B,C)	Migración neuronal, crecimiento y movilidad del cono neuronal, morfogénesis neuronal, transporte axonal, audición
II	Contracción muscular
III (A,B)	Visión
V y VI (A, B y C)	Crecimiento y movilidad del cono neuronal, morfogénesis neuronal, transporte axonal, audición
VII (A,B) y XV	Audición
IX (A,B)	Morfogénesis neuronal, audición

(presentes en las neuronas) y las dineínas citoplasmáticas. En las tres clases de motores moleculares, la hidrólisis de ATP causa un pequeño cambio conformacional en sus dominios globulares, el cual es amplificado y convertido en movimiento con la ayuda de motivos estructurales accesorios. Los dominios adicionales fuera de la unidad motora, son responsables de la dimerización, regulación e interacción con otras moléculas.

Inicialmente, se creía que los tres tipos de motores se asociaban claramente con funciones separadas (por ejemplo: la miosina con la contracción y el movimiento; la dineína con el batimiento de las cilias, y la kinesina con el transporte de organelas). Ahora se sabe que las miosinas están involucradas en el transporte de organelas, las dineínas están implicadas en el movimiento celular y el transporte de vesículas, y las kinesinas son requeridas para la función de los cilios. Se han sugerido otras funciones para estas proteínas, tales como la participación en la señalización celular, localización del RNA y transducción sensorial; además, están implicadas en la arquitectura celular, en los procesos básicos del desarrollo y en la división celular.

### Mecanismos de transducción de señales en el sistema del citoesqueleto

La cascada de transducción de señales que traslada las señales ambientales en cambios intracelulares determina la interacción coordinada del ambiente extracelular con la morfología y la movilidad celular. Esta interacción coordinada involucra receptores, proteínas quinasas, fosfatasa

de proteínas y lípidos, GTPasas, proteínas adaptadoras y lípidos. Los principales modelos de los diferentes mecanismos de transducción de señales se han descrito con base en los estudios con los filamentos de actina y FI.

De las proteínas comprometidas en la señalización del movimiento celular, las GTPasas son las proteínas mejor estudiadas, en particular se sabe que regulan los cambios del citoesqueleto de actina durante el movimiento celular. Las proteínas de la familia *Rho*, son pequeñas GTPasas que hacen parte de la superfamilia de las proteínas *Ras*; éstas funcionan como interruptores moleculares en las vías de señalización celular. Esta familia de proteínas consiste de tres moléculas: *RhoA-H*, *Rac1-3* y *Cdc42*. El ciclo de estas GTPasas entre el estado activo (unida a GTP) y el estado inactivo (unida GDP) es regulado mediante proteínas de activación de las GTPasas (*GAPs*) y los factores intercambiadores de nucleótidos de guanina (*GEFs*), los cuales aumentan la actividad de las GTPasas y estimulan el intercambio de GDP por GTP, respectivamente. Esta activación también está regulada por inhibidores de la disociación de GDP (*GDI*s), los cuales inhiben el intercambio de nucleótidos y previenen la activación de las GTPasas. Cada una de estas GTPasas pueden tener distintos papeles con respecto al citoesqueleto de actina; el paradigma actual es que la proteína *Cdc42* determina la formación de *filopodios* (extensiones de la membrana celular que contiene paquetes de largos filamentos de actina –“*bundles*”- organizados en forma paralela), mientras que *Rac* es necesaria para la formación de *lamelipodios* (extensiones de la membrana celular que están formadas por mallas de filamentos actina en forma de ramificaciones,

involucradas en el movimiento de la célula; por su parte, *Rho* participa en la formación de fibras de estrés (paquetes contráctiles de filamentos de actina), en el ensamble de la actomiosina y en la adhesión celular. Además, estas GTPasas pueden interactuar unas con otras, por ejemplo Cdc42 puede activar Rac, y esta última a su vez activar Rho; de esta manera existe un control balanceado de la activación de cada una de estas GTPasas, que en última instancia determinará la polarización celular, la movilidad y la adhesión celular.

Existen muchas vías de señalización que involucran algunos factores de crecimiento, con la participación y/o regulación de la activación de la fosfolipasa C-gama (*PLC-γ*) y la enzima fosfatidil-inositol 3 quinasa (*PI(3)-K*). Estas enzimas, claves en la señalización celular, alteran localmente la concentración de los fosfolípidos de membrana. Así, la *PLC-γ* hidroliza el fosfatidil inositol bifosfato (*PI(4,5)-P<sub>2</sub>*) en diacilglicerol e inositoltrifosfato. Observaciones iniciales han demostrado que el *PI(4,5)-P<sub>2</sub>* interactúa con la profilina, adicionalmente otros estudios concluyen que otras proteínas de unión a la actina se unen a este fosfolípido. En algunos casos existe una unión competitiva entre este fosfolípido y proteínas como la profilina, cofilina y gelsolina, mientras otras proteínas como la proteína del síndrome Wiskott Aldrich (*WASP*),  $\alpha$ -actinina y vinculina requieren la presencia de *PI(4,5)-P<sub>2</sub>* para unirse a la actina. De esta manera, el *PI(4,5)-P<sub>2</sub>* puede ser considerado como un tipo de regulador maestro que puede en algunos casos inhibir o activar las proteínas de unión a la actina, y consecuentemente modular los procesos del movimiento celular.

Por otra parte, las proteínas que constituyen los filamentos intermediarios (FI) experimentan constantemente un cambio activo entre el estado de polimerización y desensamble de sus subunidades. Este balance está regulado en gran medida por un equilibrio entre fosfatasas y quinasas. Las proteínas de los FI son sustratos para diferentes quinasas que incluyen la quinasa específica de la mitosis *p34* e isoformas de las quinasas tales como las proteínas quinasas *C* (*PKC*) y *A* (*PKA*), la quinasa II dependiente de  $Ca^{2+}$ /calmodulina (*CAMK*), la quinasa de unión a *RhoA* (*ROKα*), la quinasa amino-terminal *Jun* (*JNK*), la quinasa activada *p21* (*PAK*) y la quinasa *p38*. La fosforilación es un proceso reversible y tiene un papel significativo en la regulación de la estructura y ensamble de las proteínas de los FI. Este proceso también puede tener otras funciones, como la regulación de la interacción entre las proteínas de los FI y sus proteínas asociadas, lo que le permite mediar funciones estructurales específicas de los tejidos. Es interesante anotar que los FI participan en la regulación de varios de los eventos de señalización, que son controlados por procesos de fosforilación.

Además de participar en la reorganización de las estructuras formadas por los filamentos de actina y los microtúbulos, las Rho-GTPasas participan en el ensamble y organización de los FI. La activación de Rac, Cdc42 y RhoG lleva a una marcada reorganización de los FI, en conjunto con la fosforilación de la vimentina. Las Rho-GTPasas son esenciales para la activación de quinasas como la *Src* quinasa, la cual parece estar involucrada en la fosforilación de la vimentina, con la que interactúa mediante los dominios de homología SH2 (homología *Src-2*, estos dominios median muchos de los eventos de transducción de señales). Otra quinasa activada por la Rho-GTPasa, la PAK, induce la formación de lamelipodios y ondulación de las membranas ("ruffles") por una inducción indirecta de ensamble de filamentos de actina y microtúbulos.

Existen otros factores reguladores que participan en la transducción de señales y también están relacionados con los FI. Tal es el caso de la proteína *14-3-3*, la cual participa en numerosos aspectos de la señalización celular que incluyen factores de control del ciclo celular, factores de la transducción de señales y reguladores de la transcripción. Esta proteína *14-3-3* interactúa directamente con la vimentina y con la queratina, induciendo su desensamble.

De lo anterior es evidente que son muchos los factores que participan en la señalización que finalmente determinan la organización del citoesqueleto y aunque las diferentes estructuras que lo conforman comparten algunas de las vías de señalización, existen otras que son específicas.

## Movilidad celular

La movilidad celular es uno de los mayores logros de la evolución. En los organismos superiores, los movimientos celulares en la búsqueda de organismos extraños son centrales en los mecanismos de defensa contra las infecciones; por otra parte, la migración incontrolada de una célula es una característica de las células cancerosas.

La movilidad celular resulta de la coordinación de los movimientos generados por diferentes partes de la célula. Una propiedad que presentan las células en movimiento es la polaridad, la cual permite la formación de ciertas estructuras en la parte frontal de la célula, mientras otras se forman en la parte posterior. La migración celular se inicia gracias a la formación de protuberancias en los bordes de las células en dirección a su movimiento. Estas estructuras están constituidas por filamentos de actina, los cuales se entrecruzan y forman paquetes de filamentos o mallas, generalmente ramificados, conocidos como

lamelipodios. En algunos casos, en esta misma región de la membrana celular, se forman unas proyecciones delgadas en forma de espículas o dedos llamadas filopodios, los cuales están constituidos por paquetes de filamentos de actina organizados en forma paralela.

Para que la célula se mueva de un lugar a otro, además de la formación de protuberancias o proyecciones, necesita adherirse a un nuevo sitio y retraer su parte posterior. El nuevo sitio de adhesión o contacto focal constituye una unión física entre el sustrato y el citoesqueleto de actina, formados en la parte posterior de la protuberancia. Esta estructura empuja la célula hacia la dirección indicada para su movimiento. Posteriormente, los sitios de adherencia de la parte posterior de la célula son liberados, permitiendo a la célula moverse hacia la dirección indicada. Las células que migran pueden alcanzar un velocidad de 1 a 20  $\mu\text{m}/\text{min}$  dependiendo del tipo de célula.

En resumen, el movimiento celular comprende cuatro pasos: 1) Extensión de la membrana en forma de una protuberancia; esta extensión está mediada por la polimerización de filamentos de actina, ya sea formando lamelipodios o filopodios, los cuales generan la fuerza necesaria para el desplazamiento. 2) Adherencia al sustrato, creando puntos de adhesión focal. 3) Flujo del citosol hacia la protuberancia. 4) Retracción de la parte posterior de la célula, después de lo cual se inicia un nuevo ciclo de movimiento.

El movimiento de la célula en una dirección en particular depende en muchas ocasiones de señales químicas extracelulares. Este movimiento puede ser guiado por moléculas insolubles presentes en el sustrato subyacente, mientras en otros, la célula detecta moléculas solubles y las sigue hasta su fuente si se presenta un gradiente de concentración; este proceso es conocido como *quimiotaxis*. Existe una gran variedad de moléculas o factores quimiotácticos, entre las cuales encontramos: azúcares, péptidos, lípidos y componentes de la pared o membrana celular de microorganismos. Todas estas moléculas actúan mediante un mecanismo común, se unen a receptores presentes en la superficie celular y activan las vías de señalización intracelular que inducen modificación y remodelación del citoesqueleto, como consecuencia de la activación o inhibición de varias proteínas que se unen a la actina. Uno de los mejores ejemplos conocidos de quimiotaxis es el que presentan los leucocitos, los cuales son guiados por diferentes factores quimiotácticos, entre los cuales están pequeñas proteínas conocidas como quimioquinas o por péptidos secretados por algunas bacterias.

Una de las características más llamativa de los factores quimiotácticos es la de que sus receptores son proteínas de membrana que tienen una estructura de siete regiones transmembrana (proteínas tipo serpiente), cuya región citoplasmática se encuentra asociada a proteínas G triméricas. La unión del factor quimiotáctico a su receptor activa dicha proteína G que a su vez activa a otras proteínas, como por ejemplo la adenilato ciclasa para generar cAMP o se activan otras vías que incrementan la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico. De esta manera, cambios en los gradientes de  $\text{Ca}^{2+}$  pueden contribuir al re-arreglo de los filamentos de actina, por medio de la interacción con proteínas que se unen a proteínas del citoesqueleto; entre ellos la miosina I y II, la gelsolina, la  $\alpha$ -actinina y la fimbrina (todas reguladas por  $\text{Ca}^{2+}$ ).

### **Interacción entre microorganismos patógenos y el citoesqueleto**

Los virus, algunas bacterias y protozoos son parásitos intracelulares obligados que solo pueden replicarse en el interior de la célula hospedera. Otros microorganismos pueden replicarse extracelularmente, pero se ubican en el interior de la célula para obtener un ambiente más favorable dentro del hospedero. Para ganar acceso al interior de las células, estos microorganismos han desarrollado estrategias que les permiten invadir las células del hospedero, y puesto de que el citoesqueleto controla la remodelación de la superficie en eventos relacionados con la fagocitosis y la endocitosis, se convierte en un blanco específico de estos microorganismos.

Los microorganismos patógenos tienen la capacidad de alterar o interferir con varios procesos de las células normales del hospedero con el fin de crear un ambiente o nicho adecuado, el cual aumenta su capacidad de supervivencia dentro del organismo. Un blanco común de muchos de estos microorganismos patógenos es el citoesqueleto de las células hospederas, que es utilizado para algunos propósitos que incluyen: adherencia, entrada a la célula, movimiento dentro y entre las células, formación y remodelación de las vacuolas y evasión de la fagocitosis.

Para inducir cambios en el citoesqueleto, estos microorganismos liberan moléculas efectoras sobre la membrana y dentro de la célula hospedera. Estas moléculas efectoras, generalmente son proteínas que interfieren o modifican las vías de señalización de la célula hospedera y de esta manera facilitan la infección y, por consiguiente, los procesos que determinan la enfermedad.

Las bacterias utilizan diferentes mecanismos para liberar proteínas efectoras en la célula hospedera. Algunos de estos factores como toxinas, son secretadas cerca de las células blanco, donde se unen a receptores específicos presentes en su superficie y son internalizadas por un mecanismo de endocitosis. Otras proteínas efectoras pueden facilitar su entrada a la célula mediante la formación de poros en la membrana de la célula blanco. Algunas bacterias patógenas Gram negativas, exponen en acción sofisticados mecanismos que le permiten introducir directamente, en la célula, estas proteínas efectoras; estos mecanismos son denominados *sistemas de secreción* (tipo III y IV), conformados por múltiples subunidades de proteínas (máquinas moleculares efectoras) que tienen la capacidad de atravesar la membrana y transferir las proteínas efectoras que van a modificar algunas de las vías de transducción de señales, modificando o induciendo re-arreglos en el citoesqueleto para que los microorganismos sean endocitados. Otros microorganismos, como algunos parásitos protozoarios, usan organelas secretoras que liberan este tipo de proteínas efectoras para producir un re-arreglo en el citoesqueleto e inducir endocitosis.

Algunas bacterias como la *Salmonella sp.* y la *Shigella sp* introducen toxinas dentro de la célula gracias a sus sistemas de secreción tipo III y IV, dichas toxinas afectan las vías de señalización. Estas moléculas activan las GTPasas Rho o pueden actuar como factores intercambiadores de nucleótidos para GTPasas como Cdc42 y Rac (semejando las proteínas de la célula hospedera- *mecanismo conocido como mimetismo molecular*), lo cual desencadena la activación y los cambios conformacionales en el citoesqueleto, lo que conduce a que las bacterias sean internalizadas mediante endocitosis. Otro mecanismo interesante tiene que ver con el hecho de que estas bacterias pueden alterar el citoesqueleto mediante la interacción con los fosfolípidos de membrana, facilitando la remodelación de la membrana plasmática e induciendo la activación de  $PI(4,5)P_2$ , que inicia la cascada de activación y re-arreglo del citoesqueleto. El  $PI(4,5)P_2$  participa en la fusión de vesículas durante la formación del fagosoma y en el sellamiento de vesículas recién formadas por invaginaciones de la membrana plasmática. Adicionalmente, una vez la bacteria ha ingresado a la célula induce nuevamente una re-organización del citoesqueleto por medio de la activación de proteínas G, para que la célula regrese a su estado normal. También se ha demostrado que algunas bacterias actúan directamente con algunas proteínas del citoesqueleto por medio de la fosforilación de proteínas asociadas con los filamentos intermedios, o por proteínas efectoras que se unen a la tubulina e inducen la desestabilización de los microtúbulos. Por su parte, algunos virus ingresan a la célula hospedera

por medio de la fusión de su envoltura con la membrana de la célula blanco y así activan el mecanismo de endocitosis. Este no es un proceso pasivo, ya que algunas proteínas virales pueden desencadenar la activación de cascadas de señalización.

Otros microorganismos como parásitos protozoarios que incluyen el *Plasmodium falciparum* y *Toxoplasma gondii*, no utilizan el sistema del citoesqueleto como tal, sino que usan la proteína motor "actomiosina" de su propio citoesqueleto para generar la fuerza motora necesaria y entrar en forma activa a la célula blanco. Otro parásito como el *Trypanosoma cruzii* invade las células por mecanismos que inhiben la polimerización de la actina y la formación de vacuolas citoplasmáticas.

Al contrario, muchos otros microorganismos, evitan la entrada a las células fagocíticas gracias a la producción de proteínas efectoras que literalmente paralizan el citoesqueleto, evitando su reorganización y por consiguiente inhibiendo la fagocitosis. De esta manera, son muchas las estrategias que los microorganismos han diseñado para invadir las células hospederas, o por el contrario para evitar la entrada y así evitar su destrucción (Tabla 4).

## Enfermedades asociadas a alteraciones en el sistema del citoesqueleto

Debido a la gran variedad de proteínas y mecanismos reguladores que participan en la dinámica del sistema del citoesqueleto, éste se convierte en blanco vulnerable a mutaciones y alteraciones en los niveles de expresión de ciertas proteínas, lo que en última instancia pueden causar una modificación estructural o funcional de la célula o incluso de todo un organismo.

Existen algunas alteraciones asociadas a la dinámica de la actina. El papel central de la actina en el citoesqueleto y su regulación en el proceso de movilidad celular, la hacen susceptible a mutaciones que causan un amplio rango de enfermedades humanas. La mayoría de estudios se han enfocado en la descripción de defectos en las proteínas involucradas en la dinámica de la actina y su regulación, las cuales pueden causar desórdenes en la movilidad celular que afectan el desarrollo embrionario o el sistema inmune, o pueden llevar a la invasión de tumores o a la aparición de metástasis.

Los estudios que relacionan las proteínas de unión a la actina y los eventos anormales son pocos, pero la mayoría de ellos han sido realizados en el modelo murino. La mayoría de alteraciones en el sistema del citoesqueleto se deben a

cuatro procesos fundamentales: 1) mutaciones del gen de la actina; 2) cambios en las proteínas que regulan las vías de señalización; 3) cambios en los niveles de expresión en las proteínas de unión a la actina, y 4) alteraciones en las proteínas motoras del citoesqueleto. La tabla 5 resume varias de las alteraciones en proteínas del sistema del citoesqueleto y su relación con algunas enfermedades.

La movilidad natural de las células del sistema inmune, en particular de los distintos leucocitos, es requerida para la protección contra las infecciones. Una alteración en el movimiento de estas células resulta en desórdenes del sis-

tema inmunológico. En este sentido el gen mejor caracterizado es *was* que, cuando sufre una mutación, resulta en el síndrome de *Wiskott Aldrich*, una enfermedad recesiva ligada al cromosoma-X caracterizada por eczema, trombocitopenia e inmunodeficiencia como consecuencia de un defecto en la interacción de las células T y B y alteración en la formación del *podosoma* (pequeñas estructuras cilíndricas que contienen proteínas de adhesión focal como la vinculina y la paxilina) del macrófago, el cual requiere polimerización de la actina. También se han descrito algunas mutaciones en la  $\beta$ -actina que están relacionadas con una disfunción del neutrófilo.

Tabla 4. Interacción entre diferentes microorganismos patógenos y el sistema del citoesqueleto.

Microorganismo	Proteína o mecanismo efector	Alteración del citoesqueleto o en las vías de señalización
<i>Salmonella Sp.</i>	Sistema de secreción tipo III SopE y SopE2 SipA SPI-1, SptP SigD/SopB	Activación de Rho-GTPasas Actúan como GEFs Une y estabiliza actina Actúan como GAP Disminución de PI(4,5)P <sub>2</sub> , remodelación de la membrana plasmática
<i>Shigella Sp.</i>	Sistema de secreción tipo III VirA	Activación de Rho-GTPasas, disminución de PI(4,5)P <sub>2</sub> Une tubulina y promueve desestabilización de microtúbulos
<i>Plasmodium falciparum</i>	Actomiosina	Internalización
<i>Toxoplasma gondii</i>	Actomiosina	Internalización
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Aumento de Ca <sup>2+</sup>	Disrupción de actina, inhibición de polimerización de actina, movilización de lisosomas a través de microtúbulos
<i>Listeria</i>	ActA	Unión a Arp2/3, polimerización de Actina
<i>Clostridium difficile</i>	Toxina A y B	Inactivación de RhoA, re-estructuración de actina-F
<i>Yersinia</i>	Yops	Disrupción del citoesqueleto de actina y bloqueo de la fagocitosis
Virus	Fusión de membranas Proteínas virales	Endocitosis Induce señalización y re-arreglos de actina
<i>HIV, Adenovirus, Herpesvirus</i>	Interacción con proteínas motoras de los microtúbulos	Transporte al núcleo por medio de los microtúbulos

GEFs, factor intercambiador de nucleótidos de guanina; GAPs, proteína activadora de GTPasas; PI(4,5)P<sub>2</sub> fosfatidilinositol bifosfato.

Tabla 5. Asociación de alteraciones en proteínas del citoesqueleto y proteínas motoras con el desarrollo de algunas enfermedades.

<b>Alteraciones en los niveles de expresión de proteínas de unión a la actina</b>	<b>Enfermedad o defecto</b>
Arp2/3	Cáncer de colon
Cofilina	Cáncer de ovario
Cortactina	Carcinomas de cabeza y cuello, de células escamosas, de seno y vejiga
Gelsolina	Cáncer de pulmón, seno, vejiga, próstata y riñón
Profilina	Cáncer de seno
Timosina b (10, 15 y 4)	Cáncer de ovario, seno, vejiga, colon, tiroides, próstata; melanoma; fibrosarcoma
WASP	Cáncer de colon
WAVE3	Ganglio-neuroblastoma
<b>Alteraciones en filamentos intermediarios</b>	
Distrofina	Distrofia muscular de Duchenne Distrofia muscular de Becker
Keratina	Epidermolisis bullosa simple
Neurofilamentos	Enfermedad de Lou Gehrig o Esclerosis lateral amiotrófica
<b>Alteraciones en proteínas motoras</b>	
Miosina II	Miopatías
Miosina V	Síndrome de Griscelli (desorden de pigmentación)
Miosinas IIIA, V, VIIA, XVA	Perdida de la audición
Dineína citoplasmática, Kinesina Krp85/95	Retinitis pigmentosa (degeneración de los fotorreceptores)
Dineína axonemal	Disquinesia ciliar primaria
Dineína axonemal, Kinesina Krp85/95	Síndrome de Kartagener ( <i>situs inversus</i> )
Dineínas y kinesinas	Enfermedad poliquística del riñón
Kinesina convencional, dineína citoplasmática, miosina	Transporte de virus Enfermedades neurodegenerativas
Familia de las kinesinas Unc104 (KIF1C)	Susceptibilidad al ántrax

WASP, proteína del síndrome de Wiskott Aldrich; WAVE, proteína homóloga a la verprolina de la familia WASP

