



Universidad de Ciencias Médicas de La Habana
Facultad de Ciencias Médicas “Comandante Manuel Fajardo”
Departamento de Ciencias Básicas
XXXI Fórum Nacional Estudiantil de Ciencias Médicas

LA APOPTOSIS, UN PROCESO BÁSICO DE AUTODESTRUCCIÓN REGULADA

AUTORES: Adriana Yllodo Cristo.*

Roberto Anillo Enríquez *

Claudia Beatriz Ramírez Zamora*

TUTOR: Dra. Ana Patricia Díaz Rangel **

ASESOR: MsC. Judith Cuba Marrero ***

*Estudiantes de Segundo año de Medicina

**Especialista de 1er grado en Histología Profesora Asistente

***Especialista de 1er grado en Embriología .Profesora Asistente

La Habana, 2019

“Año 61 de la Revolución

Resumen:

La apoptosis es un mecanismo de autodestrucción celular que se encuentra regulado o programado genéticamente. Se realizó una revisión en la que se consultaron dieciséis bibliografías sobre la muerte celular con el objetivo de caracterizar a la apoptosis por tratarse de un tema de interés en la comunidad científica y que aún quedan aspectos por dilucidar. Se describieron las causas fundamentales, las alteraciones morfológicas características que la diferencian de la necrosis, así como los mecanismos moleculares de la célula apoptótica, sus diferentes vías y los componentes que regulan este proceso. Se concluyó, entre otros aspectos que las causas desencadenantes de la apoptosis pueden ser fisiológicas o patológicas, que en su regulación intervienen diversos componentes y vías metabólicas que conducen a la muerte de las células y que su conocimiento es fundamental para el diagnóstico y futuras terapéuticas en enfermedades producidas por su desregulación.

Palabras claves: muerte celular, apoptosis, caspasas, Bcl-2, p53.

Summary:

The apoptosis is a cell death mechanism genetically regulated or program occurring at the level of epithelial cells. A review was made by checking sixteen bibliographies on the subject of cell death with the purpose of carrying a deeper analysis about the apoptosis, taking into consideration that this is a subject of relevance amidst the scientific community; as well as the fact that there are still aspects to be clarify. The fundamental causes were described, including the characteristic morphological modifications that make apoptosis different to necrosis, as well as the molecular mechanisms of the apoptosis cell, its different paths, and the components regulating the process. Among other aspects, it was concluded that the causes setting in motion the apoptosis may be physiological or pathological, that a diversity of components participate in its regulation and metabolic paths that lead to the cells death and furthermore, that a precise knowledge is fundamental for diagnosis and future therapeutics in diseases caused by its deregulation.

Key words: Cell death, Apoptosis, Caspase, Bcl-2, p53.

ÍNDICE

		Pág.
1	Introducción.	1
2	Objetivos.	3
3	Desarrollo.	4
4	Conclusiones.	16
6	Bibliografía.	17
7	Anexos	19

Introducción.

Todos los organismos vivos están compuestos por una o varias células, las poblaciones celulares forman tejidos que posteriormente forman órganos y sistemas que realizan funciones propias y a su vez interactúan como un todo. Así, la célula es considerada la unidad básica de la vida, pues además, ella contiene toda la información genética de los seres vivos. En ella ocurren múltiples procesos celulares que mantienen la homeostasis del organismo (ej. el ciclo celular que permite la división celular y generar descendencia, la diferenciación de las células hijas con funciones diferentes a las de su progenitor y la muerte celular que ofrece la oportunidad de controlar la cantidad y la calidad de las células en el organismo. ⁽¹⁾

Las células de los organismos no viven indefinidamente y su vida media depende del tipo celular. Hay células que su período de vida es largo, mientras en otras es menos duradera. El número de células que componen los tejidos en el adulto permanece más o menos constante; las células que mueren se sustituyen por otras, proceso que está regulado y que asegura el mantenimiento de un balance adecuado entre la pérdida, la renovación y la diferenciación celular. El recambio celular consiste en el mantenimiento del equilibrio entre proliferación y muerte con el objetivo de garantizar la población adecuada en cada momento. ^(1, 2)

Durante cientos de años, se observó la muerte celular en los tejidos gangrenosos tras un daño severo, o en procesos descritos por Galeno a finales del siglo II d.C., en los que se refiere a ciertas estructuras efímeras, cuya desaparición pareciera programada desde el nacimiento ⁽¹⁻³⁾. A partir del siglo XX, comienzan a presentarse referencias relacionadas con la muerte celular destacándose trabajos como el realizado por Alfred Glücksmann en relación con la ontogenia en vertebrados, estableciendo que la muerte celular es un componente normal del desarrollo animal. En 1964 se introduce el concepto de muerte celular programada (MCP). ⁽³⁾ El término apoptosis, tomado del griego clásico (apo: “fuera de” o “separación” y ptosis: “caída”), se acuña en 1972 por John F. Kerr y colaboradores para diferenciar la muerte que ocurre de forma natural o fisiológica durante el desarrollo, de la muerte patológica por necrosis generada por un daño agudo ⁽⁴⁾. Una serie de trabajos realizados en el nematodo *Caenorhabditis elegans* sobre la MCP, fueron cruciales

por sus descubrimientos sobre la regulación genética del desarrollo de órganos en este proceso. ^(2, 4, 5) Desde entonces, reguladores genéticos que definen la apoptosis y muchos otros programas se identificaron en humanos, como por ejemplo la Bcl-2, la P53, entre otras.

La muerte celular, según criterios clásicos se puede dividir en una muerte que transcurre por mecanismos regulados, como la apoptosis, y la no regulada, como la necrosis. ^(5,6)

La apoptosis se define como la activación de mecanismos específicos genéticamente regulados, en cuyos eventos intervienen las cisteinoproteasas caspasas, que inducen que se produzca un “suicidio” o MCP. Estos mecanismos fisiológicos son empleados por los organismos multicelulares durante el desarrollo y en el mantenimiento de la homeostasis tisular en el adulto, además de eliminar células infectadas, mutadas o dañadas. ^(1, 2)

Actualmente se sabe que esta clasificación no es completa y que existen otros mecanismos alternativos que no clasifican en estos dos grupos porque se superponen características de ambos procesos. En otros casos, los mecanismos de muerte no se ajustan a ninguno de estos dos, como por ejemplo la autofagia. ⁽⁵⁻⁸⁾

El problema Científico radica precisamente en que existen diversas vías para que se produzca la muerte celular y no todos son regulados por las mismas enzimas, aún así los investigadores continúan generalizando el término de apoptosis a todo tipo de muerte celular regulada, además de existir problemas por dilucidar referentes a los tipos de caspasas, sus inhibidores, la reversibilidad del proceso mediante intervenciones terapéuticas y si esto es conveniente o no, entre otros aspectos. ^(9, 11) Gran cantidad de enfermedades se producen por una desregulación en la apoptosis. Actualmente se ensayan fármacos que actúan directamente en los mecanismos de la muerte celular inhibiendo o estimulando la misma según el caso. ^(12, 13)

En esta revisión nos limitaremos a profundizar en la apoptosis como uno de los mecanismos de muerte celular, sin entrar a definir y clasificar los otros mecanismos de muerte celular regulada (MCR), por tratarse de un tema de gran interés para los

profesionales de la salud, y del cual constantemente aparecen nuevas investigaciones , considerando además que aún existen tópicos por aclarar.

Objetivos.

General

Caracterizar a la muerte celular por apoptosis.

Específicos.

1. Identificar las causas fundamentales de muerte celular por apoptosis.
2. Describir los cambios morfológicos de la célula apoptótica.
3. Describir los componentes básicos, mecanismos y vías de activación que participan en el proceso de la apoptosis.

Desarrollo.

Se realizó una revisión utilizando bibliografía impresa y varias bases de datos como Google, MEDLINE, y PubMed. Se encontraron aproximadamente 200 000 referencias relativas al tema, utilizando como conector las palabras muerte celular y apoptosis y se seleccionaron 16 bibliografías que se consignan al final.

La apoptosis se puede definir como “el conjunto de reacciones bioquímicas que tienen lugar en la célula y que determinan su muerte de una forma regulada genéticamente en respuesta a una serie de acontecimientos fisiológicos o patológicos”.⁽⁵⁾ En este caso, una serie de estímulos o señales, que pueden ser originados tanto del medio externo como del medio interno, hacen que la célula decida su propia muerte.^(1, 8)

Una de las primeras clasificaciones de la muerte celular fue basada en las alteraciones morfológicas de la célula y se dividió en muerte celular tipo 1, tipo 2 y tipo 3:^(11,14)

La tipo 1, que posteriormente se le llamó apoptosis, se caracteriza por la fragmentación nuclear e integridad de la membrana celular. Es una muerte celular silenciosa.

La tipo 2, o degeneración autofágica, que se caracteriza por la extensa vacuolización citoplasmática. **Anexo1**

La tipo 3 o muerte citoplasmática, donde hay una desintegración general de la célula con pérdida de los organelos (necrosis).

La necrosis aparece cuando el daño es severo o por una muerte accidental. Se origina por una lesión aguda, irreversible, derivada de una condición patológica. Se desencadena por agentes nocivos, como isquemia, hipoxia, traumatismos, radiación ionizante, sustancias químicas o tóxicas, entre otras. Esta forma de muerte celular se califica como un proceso violento.⁽¹⁻⁵⁾

Esta clasificación morfológica de muerte celular, crea un abismo en los mecanismos moleculares que siguen los diferentes procesos. Se han estudiado numerosas vías moleculares para categorizar las distintas formas de MCR .Por esta razón a partir

del año 2005, se creó un Comité de expertos (Nomenclature Committee on Cell Death (NCCD) con el objetivo de recomendar una guía para definir e interpretar la muerte celular desde una perspectiva no solo morfológica, sino también bioquímica y funcional ^(5,11). Desde entonces con cierta periodicidad se reúnen para proveer una amplia y generalizada nomenclatura de la muerte celular para continuar desarrollándose en este campo.

Se consideró, entre otros términos, que la muerte celular, independientemente de los mecanismos que le dan origen es una MCR y se decidió que la terminología de MCP solo se utiliza para referirse a la muerte celular por apoptosis fisiológica, controlada genéticamente (durante la morfogénesis en el período embrionario y en el mantenimiento de la homeostasia en la etapa adulta). ^(5,11)

A pesar de las múltiples limitaciones de esta clasificación morfológica (Tipo 1, Tipo 2 y Tipo 3) aún es ampliamente utilizada. ^(5, 11,14) La dicotomía necrosis/apoptosis no es tan clara, porque existen casos de muerte celular con características tanto de necrosis como de apoptosis. Un ejemplo es la muerte celular que se produce por isquemia donde existe activación de marcadores apoptóticos. ^(11,14)

Algunos tipos de muerte celular se expresan como apoptosis o como necrosis, según la intensidad o duración del estímulo, la rapidez del proceso de muerte y la depleción del ATP que presente la célula. No obstante existen diferencias definidas entre ambos procesos. ^(1, 3, 4,8)

Diferencias entre apoptosis y necrosis .Anexo 2

Apoptosis	Necrosis
Aumento de la permeabilidad con conservación de la membrana plasmática	Perdida de la integridad de la membrana plasmática
Ocurre condensación y fragmentación nuclear	Digestión al azar del ADN
Encogimiento de la célula	La célula se hincha
Condensación citoplasmática sin pérdida de organelos.	Hay pérdida de organelos
Formación de cuerpos apoptóticos.	No se forman vesículas, hay lisis celular
Muere una célula. No inflamación del tejido.	Mueren varias células. Inflamación del tejido

Causas de la apoptosis.

La apoptosis es considerada una muerte celular necesaria, el individuo desde su desarrollo viene condicionado genéticamente para la autodestrucción de sus células; de esta forma se pone en marcha la maquinaria de la muerte desde la morfogénesis hasta la etapa adulta: para la formación y eliminación de estructuras, control de la superproducción de células, así como eliminación de células defectuosas, dañadas o infectadas y diferenciación celular. ^(13, 14,15) La apoptosis puede ser de causa fisiológica (MCP) o de causa patológica (MCR). ^(1-3, 5, 13, 15,16)

Entre las **causas fisiológicas** podemos mencionar: la destrucción programada en la embriogénesis para la remodelación del embrión y formación de tejidos, como por ejemplo la desaparición de las membranas interdigitales, formación de los órganos reproductores masculinos y femeninos (ej. Ductos de Mullerian que forman el útero y los oviductos en la hembra), destrucción masiva durante el desarrollo temprano del sistema nervioso donde el 50% de todas las neuronas mueren, por citar algunos ejemplos. En el adulto la involución fisiológica de tejidos dependientes de hormonas tales como: el desprendimiento del endometrio, atresia folicular y la regresión de la mama luego de la lactancia. En los varones la testosterona dirige la muerte celular de las glándulas mamarias, Renovación de epitelios (piel, tubo digestivo etc.) Eliminación de células que cumplieron su función (neutrófilos en una respuesta inflamatoria aguda y linfocitos al final de una reacción inmunológica). La involución del timo a edad temprana y la destrucción de células neoplásicas. ^(2,4-7,14-16)

En **condiciones patológicas** se puede ver la muerte celular inducida por lesión del ADN (radiaciones y fármacos antineoplásicos), la muerte y depleción progresiva de los CD4 en el SIDA, algunas formas de muerte celular inducidas por virus como en las hepatitis B o C, la atrofia patológica de órganos y tejidos como resultado de retirar un estímulo como la atrofia de la próstata luego de una orquiectomía). Muerte celular en tumores. Apoptosis inducida por proteínas mal plegadas en la célula. Apoptosis acelerada por alteraciones genéticas. Ejemplo: atrofia muscular espinal por mutaciones heredadas del gen SMN 1 (gen de la supervivencia de la neurona motora), situado en el cromosoma 5, cerca de este gen se ubica el gen de la proteína inhibidora de la apoptosis neuronal (NAIP), que puede estar delecionado. ^(2,4-7,14-16)

Cambios morfológicos en la apoptosis.

Las alteraciones morfológicas de la muerte celular apoptótica se observan tanto en el núcleo como en el citoplasma. Sin embargo, el tiempo que toma depende del tipo celular, el estímulo y la vía apoptótica.⁽⁷⁾

Los cambios morfológicos son distintivos: en el núcleo aparece la condensación de la cromatina y la fragmentación nuclear (debido a la degradación del ADN genómico), que se acompañan de un hinchamiento de la célula, reducción del volumen celular con condensación citoplasmática y basofilia (picnosis) y retracción de los pseudópodos.⁽⁷⁾

La condensación de la cromatina comienza en la periferia de la membrana nuclear uniéndose a la misma. Posteriormente se rompe gradualmente dentro de la célula, característica descrita como cariorrexis. La membrana plasmática se modifica aumentando su permeabilidad, pero mantiene la integridad. El citoplasma se condensa por pérdida de agua pero los organelos no se desintegran. Finalmente se producen protrusiones citoplasmáticas y formación de vesículas o cuerpos apoptóticos que posteriormente son fagocitados por macrófagos u otras células vecinas, sin producirse respuesta inflamatoria y sin daños a los tejidos circundantes.
(1, 7,9-11, 14,16)

La integridad de las membranas celulares permite que se siga sintetizando ATP (mitocondrias) y proteínas (RER), lo cual es indispensable porque la célula invierte energía en el proceso de la apoptosis, además de evitar la ruptura de lisosomas y la digestión de componentes celulares.^(6, 14, 15)

Contrariamente a lo planteado por la mayoría de los autores otros plantean que en etapas avanzadas del proceso la permeabilidad es mucho mayor, aumentando mucho más los poros y megacanales, existiendo por último pérdida de la integridad pero estando la célula ya fagocitada, por lo que no se produce inflamación ni comprometimiento de células vecinas^(17,18)

Cambios bioquímicos en la apoptosis.

A grandes rasgos, existen tres tipos principales de cambios bioquímicos que pueden verse en la apoptosis, 1) activación de las caspasas, 2) ruptura de DNA y otras

proteínas y 3) cambios de la membrana y reconocimientos por parte de las células fagocíticas.

Al principio de la apoptosis, hay un cambio de orientación de fosfolípidos de membrana, tales como la fosfatidilserina de la superficie interna a la superficie externa de la membrana celular ("flipped out"), que permite un reconocimiento

fagocítico temprano por los macrófagos, lo que resulta finalmente en fagocitosis sin liberación de componentes intracelulares pro-inflamatorios. El ADN se fragmenta en nucleosomas (segmentos de 180 a 200 pares de bases), por acción de endonucleasas dependientes de Ca y Mg. Estas endonucleasas son activadas por caspasas. Otra característica específica de la apoptosis es la activación de un grupo de enzimas de la familia de la cisteína-proteasas, denominada “caspasas”. Estas actúan sobre las láminas, el armazón nuclear, el citoesqueleto y las DNA asas, que degradan al ADN nuclear. Las láminas son el recubrimiento externo de la envoltura nuclear, su desensamblaje causa encogimiento del núcleo. Las caspasas también inactivan FAK (quinasas de adhesión focal), lo cual interrumpe la adhesión celular, con lo que se desprende la célula apoptótica de sus vecinas. Entre las proteínas del citoesqueleto afectadas por caspasas se encuentran los filamentos intermedios, la actina y la tubulina. (1, 2, 5,6)

Regulación Genética de la Apoptosis.

La muerte celular por apoptosis está regulada genéticamente. En su regulación intervienen diversos estímulos (internos y externos) y vías metabólicas que conducen a la muerte de las células. El mecanismo es activo y requiere energía que es provista por las mitocondrias en forma de ATP. (1, 5, 6, 8,14)

Existen tres grupos de factores fundamentales en la vía metabólica apoptótica y que intervienen en la regulación genética de la apoptosis: la familia génica Bcl2, el gen supresor de tumores p53 y las proteasas específicas denominadas caspasas. (1, 5-8)

La familia BCL2.

Es una familia multigénica de reguladores de muerte celular, fundamentalmente de la vía intrínseca y codifican proteínas que se localizan en la membrana mitocondrial externa, estas son responsables de la permeabilidad de la misma y actúan principalmente a nivel de este organelo (1,6). El funcionamiento de los miembros de la familia Bcl2 es uno de los más complejos. Según su función y los dominios de homología Bcl-2(BH), los miembros de esta familia se dividen en tres grupos. El primer grupo son las proteínas antiapoptóticas que contienen los cuatro dominios

BH y protegen a la célula de cualquier estímulo apoptótico (ej. Bcl-2, Bcl-xL). El segundo grupo incluye proteínas sólo con dominio BH-3, (ej. Bid, Bim), que son iniciadoras de la apoptosis, por lo que son proapoptóticas. Los miembros del tercer grupo contienen los cuatro dominios BH y también son proapoptóticas (ej. Bax, la cual es muy importante en la regulación de este proceso). (1, 6,14)

Cuando hay disrupción en el balance de miembros de la familia Bcl-2 antiapoptóticos y proapoptóticos, el resultado es una apoptosis desregulada en las células afectadas. Esto puede deberse a una sobreexpresión de una o más proteínas antiapoptóticas o a una disminución de una de las proteínas proapoptóticas o a una combinación de ambas. La expresión desregulada de Bcl-2 contribuye a la neoplasia mediante la supresión de apoptosis. (1, 5, 6, 8,14)

El gen supresor de tumores p53.

El gen p53 codifica una proteína que activa la transcripción mediante su unión al ADN y se considera supresora de tumores. El gen p53 está relacionado con la apoptosis y su rol es fundamental en la protección de las células al daño del ADN. Su activación provoca que el crecimiento celular se detenga en la fase G1 del ciclo o que la célula muera por apoptosis. (14, 15) Se encuentra activa durante la proliferación celular y se trasloca al núcleo cuando hay daño en el ADN. Durante mucho tiempo se creyó que el único rol de la p53 era bloquear la progresión del ciclo celular en G1 a la fase S, permitiéndole a la célula reparar el daño en el ADN antes de la iniciación de una nueva etapa de síntesis y antes de reasumir la mitosis. Cuando el daño del ADN es irreparable, la p53 induce apoptosis por la transcripción del gen BAX y reprime la transcripción del gen Bcl2. Posiblemente actúa como factor regulador favoreciendo a BAX y por consecuencia es proapoptótica. (1, 14,15)

Las mutaciones en p53 se encuentran asociadas a una variedad de cánceres humanos, incluyendo los cánceres hereditarios. Tiene un alto nivel de expresión en células transformadas (cancerígenas) y se cree que al unirse al ADN activa la transcripción de genes que inhiben la proliferación celular, por lo cual aparece con un rol de protección. (1,14)

En resumen, esta proteína no solo está involucrada en la inducción de la apoptosis sino también tiene un papel clave en la regulación del ciclo celular, diferenciación y senescencia celular, por lo que es llamada “guardián del genoma”.^(1, 6) **Anexo 3**

Las caspasas.

El nombre de caspasas se basa en las propiedades catalíticas de estas enzimas, todas se caracterizan por tener cisteína (C) en su centro activo y “aspase” porque cortan detrás de un ácido aspártico.^(1, 5, 6, 14) Actualmente, se reconocen 14 caspasas. La 14 se ha relacionado con una retinopatía en pacientes diabéticos. Hasta ahora no se ha aclarado definitivamente qué ocurre con las caspasas-13 y 14.⁽⁵⁾

Existen dos subfamilias de caspasas. La subfamilia de la caspasa-1 (caspasas 1, 4, 5 y 11-14), que se han implicado en el control de la inflamación, y la subfamilia de la caspasa-3 (caspasas 3 y 6-10), relacionadas con el mecanismo de muerte celular por apoptosis.⁽⁴⁻⁶⁾

Las caspasas se sintetizan en forma de zimógenos (proenzimas inactivas o procaspasas). Se activan por proteólisis limitada y asociación de subunidades, adquiriendo su capacidad catalítica para degradar a su vez a sus sustratos dianas.^(1, 5, 6)

Se denominan caspasas iniciadoras o activadoras (caspasas 2, 8, 9, 10) las que inician el proceso de apoptosis, se pueden autoactivar y a su vez activar a otras caspasas. Las procaspasas que son activadas por las caspasas iniciadoras para ejecutar la apoptosis se conocen como caspasas efectoras (caspasas 3, 6, 7).^(5, 6, 8)

Inhibidor de proteínas de la apoptosis (IAPs).

El inhibidor de proteínas de la apoptosis son un grupo de proteínas estructural y funcionalmente similares que regulan la apoptosis, citoquinesis y transducción de señales. Se caracterizan por la presencia de un dominio proteico de repetición (BIR), estos son inhibidores endógenos de las caspasas, uniéndose a los sitios activos de las mismas, promoviendo la degradación o manteniendo a las caspasas lejos de sus sustratos.^(1, 5, 6)

Otros inhibidores

Se puede producir una regulación transcripcional a través de distintos agente (ej. el interferón), que afectan a la expresión génica de diferentes caspasa. ^(1, 6)

Se han descrito otras moléculas, como las proteínas CARP1 y CARP2 (CARP: Cell-cycle Apoptosis Regulatory Protein), que se asocian a las caspasas 8 y 10 e inhiben la señal de la vía de los receptores de muerte. ^(1, 5,6)

Mecanismos de apoptosis. Anexo 4

Entender los mecanismos de apoptosis es de extrema importancia y ayuda a comprender la patogénesis de enfermedades que resultan de una desregulación de la misma. Esto puede ayudar al desarrollo de medicamentos que actúen en ciertos genes apoptóticos o a nivel de las vías apoptóticas.

La activación del proceso de apoptosis es dependiente de las proteasas caspasas (activación en cascada enzimática). Como se mencionó anteriormente pueden ser caspasas iniciadoras así como ejecutoras del proceso.

La apoptosis presenta una fase de iniciación y una fase de ejecución. La fase de iniciación puede tener dos orígenes: Vía extrínseca o de receptores de la muerte (iniciada en un receptor de la membrana celular) o Vía intrínseca (mitocondrial). Ambas vías finalmente llevan a una vía común (fase de ejecución) de la apoptosis. ^(1, 5, 6, 8, 9, 14,16)

Existe otra vía menos conocida, que es la vía intrínseca del retículo endoplásmico. ^(1,8, 9, 11,14)

La vía extrínseca del receptor de muerte.

Al producirse un estímulo del medio externo se desencadena la vía extrínseca y comienza precisamente cuando los ligandos de muerte (citoquinas proapoptóticas y proinflamatorias) se unen a sus respectivos receptores de muerte que se encuentra en la membrana celular. Estos receptores son miembros de la familia del receptor del factor de necrosis tumoral (FNT). Tienen una zona de la molécula ubicada en la membrana celular que se une al ligando (moléculas que conducen el mensaje de muerte) y una zona intracitoplasmática denominada dominio de muerte (DD). ^(1, 3-6,16)

Los receptores de muerte mejor conocidos son el receptor 1 del factor de necrosis tumoral (TNFR1) y la molécula Fas (CD95) y sus ligandos son el TNF y Fas ligando (FasL).

Cuando el ligando se une al receptor correspondiente provoca un cambio en el mismo y, de ese modo, el receptor es capaz de reclutar proteínas adaptadoras hacia la membrana celular. Ambas proteínas (receptores y proteínas adaptadoras) presentan dominios de muerte (DD) que permiten su interacción. Las proteínas adaptadoras sirven de puente entre el receptor y la caspasa. Dentro de estas se encuentra la proteína FADD (Fas Associated Death Domain) que se une al receptor Fas. Las moléculas adaptadoras interactúan con algunos miembros de la familia de las caspasas provocando su activación. El complejo completo de ligando-receptor-adaptador se conoce como DISC (complejo de señalización que induce muerte). El DISC entonces, inicia la unión y activación de la procaspasa 8 y 10^(1,6). La forma activada de la enzima, la caspasa 8, es una caspasa iniciadora de la vía extrínseca, que inicia la apoptosis clivando y activando otras caspasas ejecutoras.

La vía intrínseca o mitocondrial

Como su nombre lo indica, la vía intrínseca se inicia dentro de la célula. Una gran parte de estímulos apoptóticos internos (estrés celular, drogas, radiaciones, daño genético irreparable, agentes oxidantes, concentraciones elevadas de calcio citosólico, etc.) utilizan esta segunda ruta de señalización que se conoce como la vía mitocondrial o intrínseca^(1, 2, 5, 6, 8). La vía está regulada por proteínas de la familia Bcl-2. Las proteínas antiapoptóticas de esta familia (Bcl-2, Bcl-XL) frenan la apoptosis bloqueando la liberación mitocondrial de citocromo-c, mientras que las proteínas proapoptóticas (Bax, Bak, Bad, Bcl-Xs, Bid, Bik, Bim) actúan promoviendo la liberación de citocromo-c desde la mitocondria hacia el citoplasma⁽⁸⁾. El balance entre las proteínas pro y antiapoptóticas lo que determina si se va a iniciar o no la apoptosis.⁽¹⁾

Los daños mitocondriales con el consiguiente aumento de la permeabilidad de la membrana mitocondrial trae consigo la liberación al citoplasma de proteínas mitocondriales amplificando la señal apoptótica. Entre ellas se liberan de la

mitocondria al citoplasma diversas proteínas apoptogénicas como el citocromo c, el factor inductor de apoptosis (AIF), la endonucleasa G, la proteína Smac/DIABLO (Smac: segundo activador de caspasas derivado de mitocondrias y DIABLO: proteína de unión al IAP directo con bajo pH). Además, se genera un flujo de calcio y se liberan ROS (especies reactivas de oxígeno).^(1, 6,8)

Al liberarse el citocromo c interacciona con la proteína citosólica Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1), que actúa como molécula adaptadora en esta vía, con dATP y posteriormente con la procaspasa-9, formando el complejo conocido como apoptosoma que ejecuta el programa apoptótico. La formación del complejo conduce a un cambio conformacional de la procaspasa-9 activándola que, a su vez, rompe y activa las caspasas efectoras, como las caspasas 3, 6 y 7.^(1, 5, 6,8) En algunos tipos de células (ej. hepatocitos) esta vía puede ocurrir en ausencia de caspasa-9 o de su activador Apaf-1. En este caso la vía extrínseca queda interrelacionada con la intrínseca formándose una amplificación de la señal mediada por receptores de muerte^(1, 2, 8,10). En ella interviene la proteína proapoptótica Bid (de la familia de Bcl-2) que se rompe en dos fragmentos por la caspasa-8. Uno de ellos, el C-terminal (tBid), actúa sobre la mitocondria haciendo que se libere el citocromo c. Por tanto, Bid funciona como un puente de unión entre las dos vías amplificando la activación de las caspasas.^(8,14,16)

Cuando la proteína proapoptóticas Smac/DIABLO se libera al citoplasma, interacciona con inhibidores endógenos de las caspasas (IAP) neutralizándolos y, por tanto, previniendo el bloqueo de la apoptosis.

Por otra parte cuando el ADN está dañado se acumula p53 en la célula y detiene el ciclo celular en G1 esperando la reparación, si esta no es posible la célula se encamina a la apoptosis porque p53 estimula la síntesis de moléculas proapoptóticas.^(1, 6) Se describió una relación entre la proteína p53 y la activación de la caspasa-2 en respuesta a un daño en el ADN lo que conduce a la apoptosis.⁽¹⁾

Cuando las células son estimuladas por factores de crecimiento u otras señales de supervivencia, aumentan la síntesis de los miembros antiapoptóticos de la familia Bcl-2. Por el contrario cuando las células no reciben señales de supervivencia o están sometidas a stress, se producen canales de transición de permeabilidad

mitocondrial, que aumentan la permeabilidad de las membranas mitocondriales saliendo el citocromo c al citosol y la membrana mitocondrial externa pierde Bcl-2. (1, 5, 6,14)

La vía común

La fase de ejecución de la apoptosis involucra la activación de una serie de caspasas. Las vías intrínseca y extrínseca convergen en la caspasa 3. Además, las caspasas que están “cascada abajo”, inducen el clivaje de las proteín-kinasas, proteínas del citoesqueleto, proteínas de reparación del DNA y subunidades inhibitorias de la familia de las endonucleasas. Tienen también un efecto sobre el citoesqueleto, el ciclo celular y las vías de señalización, los cuales, todos juntos, contribuyen a los cambios morfológicos típicos de la apoptosis. (1, 5, 6, 8, 10,14)

Para resumir podemos decir que en la actualidad existen varios modelos que explican el modo en que se regularía la actividad de estas proteasas:

- 1) Activación de las caspasas efectoras: una señal proapoptótica culmina en una caspasa iniciadora que, posteriormente, activa a las efectoras provocando el desensamblaje celular.
- 2) Activación de las caspasas iniciadoras: las caspasas iniciadoras se activarían por unión a cofactores específicos. Así, en el caso de la procaspasa 8 se requeriría la unión con su cofactor FADD para su activación. La procaspasa 9, en cambio, se activa al unirse a Apaf-1, pero requiere del citocromo-c y del ATP para conformar el apoptosoma.
- 3) Los inhibidores como reguladores: las IAPs actuarían bloqueando la apoptosis a través de la inhibición de caspasas efectoras, sin embargo, también previenen la activación de estas enzimas cuando hay sobreexpresión, sugiriendo que los blancos reales en las células son las procaspasas efectoras y otras proteínas involucradas en la activación.

La vía intrínseca del retículo endoplasmático.

La mitocondria, no es el único organito implicado en la muerte celular. Los lisosomas y el retículo endoplásmico desempeñan una función importante en la liberación de otros factores de muerte como las catepsinas, calpaínas y otras proteasas. (1, 6, 8,16)

Así, el estrés del retículo endoplásmico se considera como otra de las vías intrínsecas de inducción de apoptosis que se caracteriza por la alteración de la homeostasis de calcio y por la acumulación de proteínas incorrectamente plegadas. En este caso, se dispara una cascada específica de iniciación de la apoptosis con la activación de la caspasa-12 localizada en la cara citosólica del retículo endoplásmico. La caspasa-12 activa, provoca a su vez, la activación de la caspasa-9 y ésta la de la caspasa-3, pero de una forma independiente de citocromo c por lo que esta vía no requiere la activación previa de la vía mitocondrial. (1, 8,14)

Importancia de la apoptosis.

Además de su importancia como fenómeno biológico, es un hecho que gran cantidad de enfermedades presentan una desregulación en la MCR. Entre las que cursan con un aumento de la apoptosis se encuentran patologías degenerativas como la Enfermedad de Alzheimer o Parkinson; por otra parte las neoplasias y enfermedades autoinmunes se producen por una inhibición de la apoptosis. (5, 8, 13, 15,16) Comprender la complejidad de estos procesos y su regulación juega un papel fundamental en el diagnóstico y tratamiento de estas patologías, pues la muerte celular es susceptible a intervenciones farmacológicas y genéticas. (12,13) **Anexo 5**

Conclusiones.

Después de revisar el tema se pone de manifiesto que la apoptosis es un mecanismo básico de autodestrucción, regulado genéticamente, imprescindible para el desarrollo y el mantenimiento de la homeostasia celular. Los cambios morfológicos son característicos y se producen tanto en el citoplasma, la membrana plasmática y el núcleo. Las causas que desencadenan la muerte celular por apoptosis pueden ser fisiológicas o patológicas, utilizándose generalmente los términos de muerte celular programada o muerte celular regulada respectivamente. Los componentes fundamentales en la regulación del proceso son: la familia Bcl-2, la proteína p53 y las caspasas . El mecanismo de apoptosis tiene diferentes rutas de señalización y todas son dependientes de la activación de las caspasas: las vías de iniciación extrínseca e intrínseca y que convergen en una vía común o fase de ejecución de la apoptosis. Además existe una vía menos conocida , la vía intrínseca del retículo endoplásmico, dependiente de la caspasa 12 y que no requiere de la activación de la vía mitocondrial.

Consideramos que comprender los mecanismos y componentes moleculares de la apoptosis es crucial en el diagnóstico y posibles dianas terapéuticas en enfermedades que se producen por desregulación de la MCR. Además de conocer que la muerte celular por apoptosis es necesario para el mantenimiento de la vida.

Bibliografía

1. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins.patología estructural y funcional. 6^{ta} ed. Madrid: McGraw-Hill.Interamericana; 2000.
2. Ameisen, J.C.On the origin, evolution, and nature of programmed cell death: a timeline of four billion years. Cell Death Differ [internet].2002 [may 2013]; 9(4): 367-393.Disponible en: <http://go.microsoft.com/fwlink/p/?LinkId=255141>
3. Lockshin RA, Williams CM. Programmed cell death—I. cytology of degeneration in the intersegmental muscles of the pernyi silkmoth. J Insect Physiol. 1965 Feb; 11:123-133.
4. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR, Peter ME, Vaux D, Vandenabeele P. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br.J.Cancer .1972; 26: 239-257.
5. De Toro G. Muerte celular programada. Revisión del paradigma apoptosis-necrosis y formas alternativas de muerte celular. Act Hisp de Pat. [Internet]. 2016 [oct 2016]; 12:1-13. Disponible en: <http://conganat.cs.urjc.es>
6. Espinosa MB. Apoptosis, muerte celular fisiológica, reseña histórica y actualidad. Rev de Educ en Biol. [Internet].2014 [may 2014]; 16(2):153-159. Disponible en: <file:///D:/Apoptosis/Conicet Digital>.
7. Yu L., Wan F., Dutta S. Autophagic programmed cell death by selective catalase degradation. Proc Natl Acad Sci. 2006; 103:4952-4957.
8. Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. Mitochondrial regulation of cell death: a phylogenetically conserved control. Microb Cell. 2016; 3 (3):101–108.
9. Kroemer G, El-Deiry WS, Golstein P, Peter ME, Vaux D, Vandenabeele P. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. Cell Death Differ. 2005; 12 Suppl 2:1463-1467.

10. Martínez-Torres, A.C. CD47: un prometedor blanco terapéutico contra el cáncer. *Ciencia y desarrollo*. 2017; 43(290): 13-17.
11. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death & Differentiation*. [Internet]. 2018 [jun 2018]; 25:486–541. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>.
- 12 Birkinshaw RW, Czabotar PE. The BCL-2 family of proteins and Mitochondrial outer membrane permeabilisation. *Semin Cell Dev Biol*. 2017; 72:152–162.
13. WHO infobase. The top 10 causes of death [Internet]. [jan 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html>
14. Bonora M, Chinopoulos C, Wieckowski M, Keep O. Molecular mechanisms of cell death: central implication of ATP synthase in Mitochondrial permeability transition. *Oncogene*. 2015; 34:1475–86.
15. Liu X, He Y, Li F, Huang Q, Kato TA, Hall RP. Caspase-3 promotes genetic instability and carcinogenesis. *Mol Cell*. 2015; 58:284-296.
16. Degterev A, Yuan J. Expansion and evolution of cell death programmes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008; 9: 378-390.
17. Vervliet T. Bcl-2 proteins and calcium signaling: complexity beneath the surface. *Oncogene*. 2016; 35:5079–92.
18. Brdiczka DG, Zorov DB, Sheu SS. Mitochondrial contact sites: their role in energy metabolism and apoptosis. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Feb;1762(2):148-63.

17.

Anexos

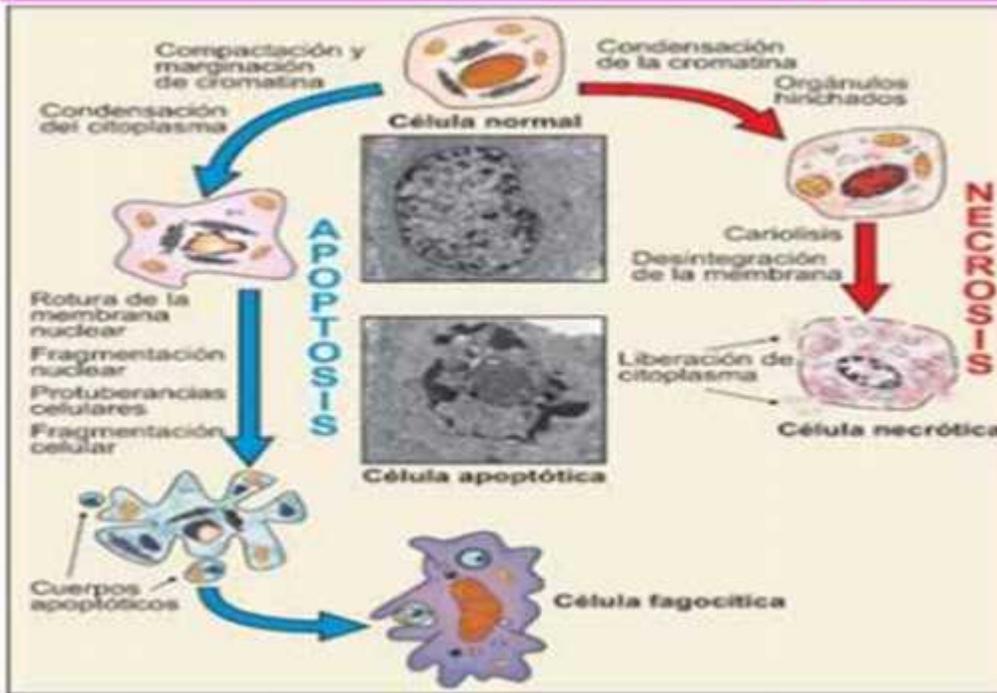
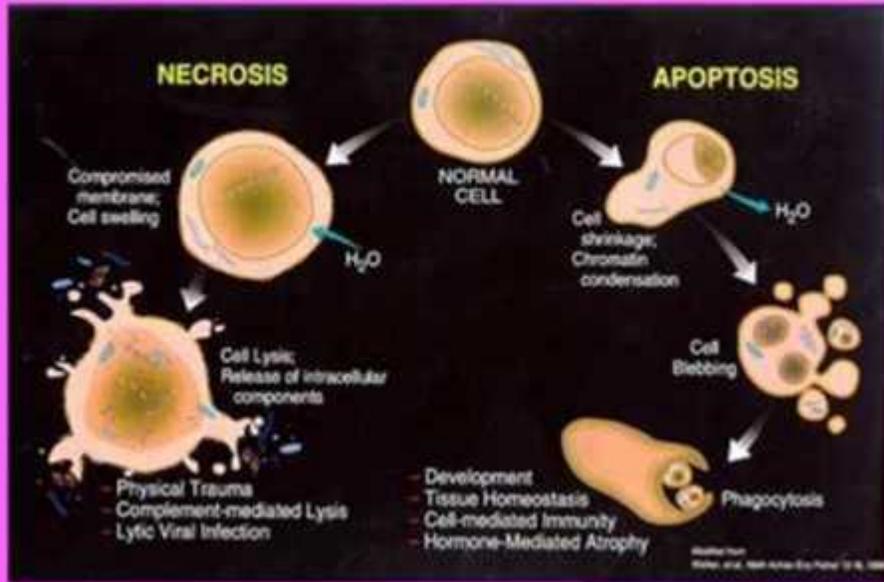


Anexo 1

De Toro Gonzalo 2016

Esquema de la degradación y autofágica, siendo el punto de no retorno, cuando se engloban las mitocondria y son destruidas.

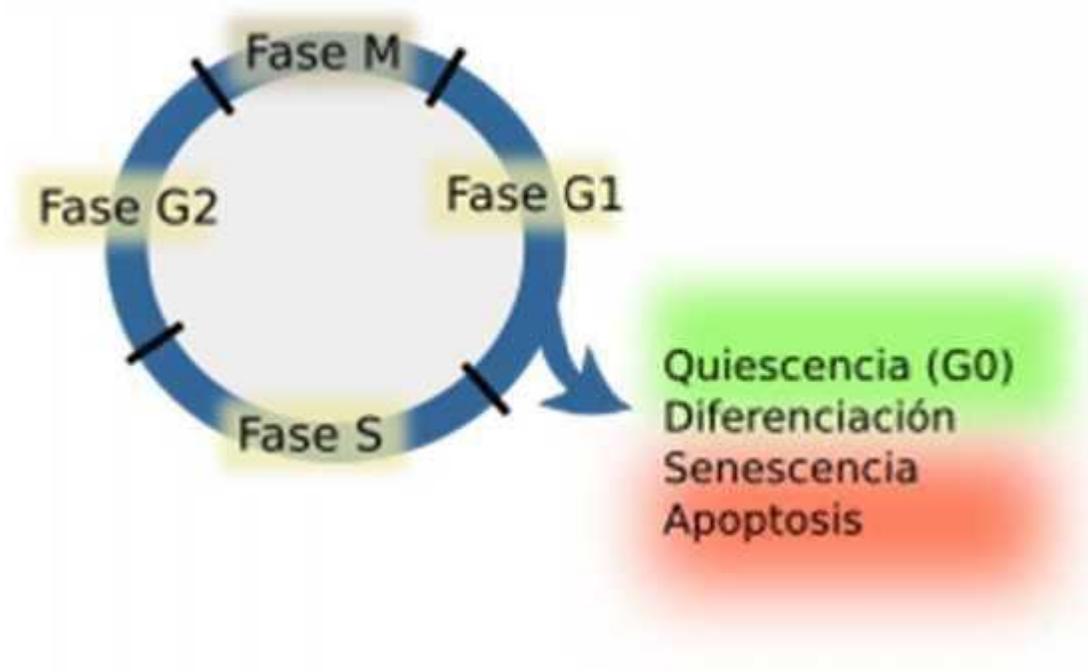
NECROSIS Vs APOPTOSIS



Anexo 2

Lizarbe Iracheta MA 2007

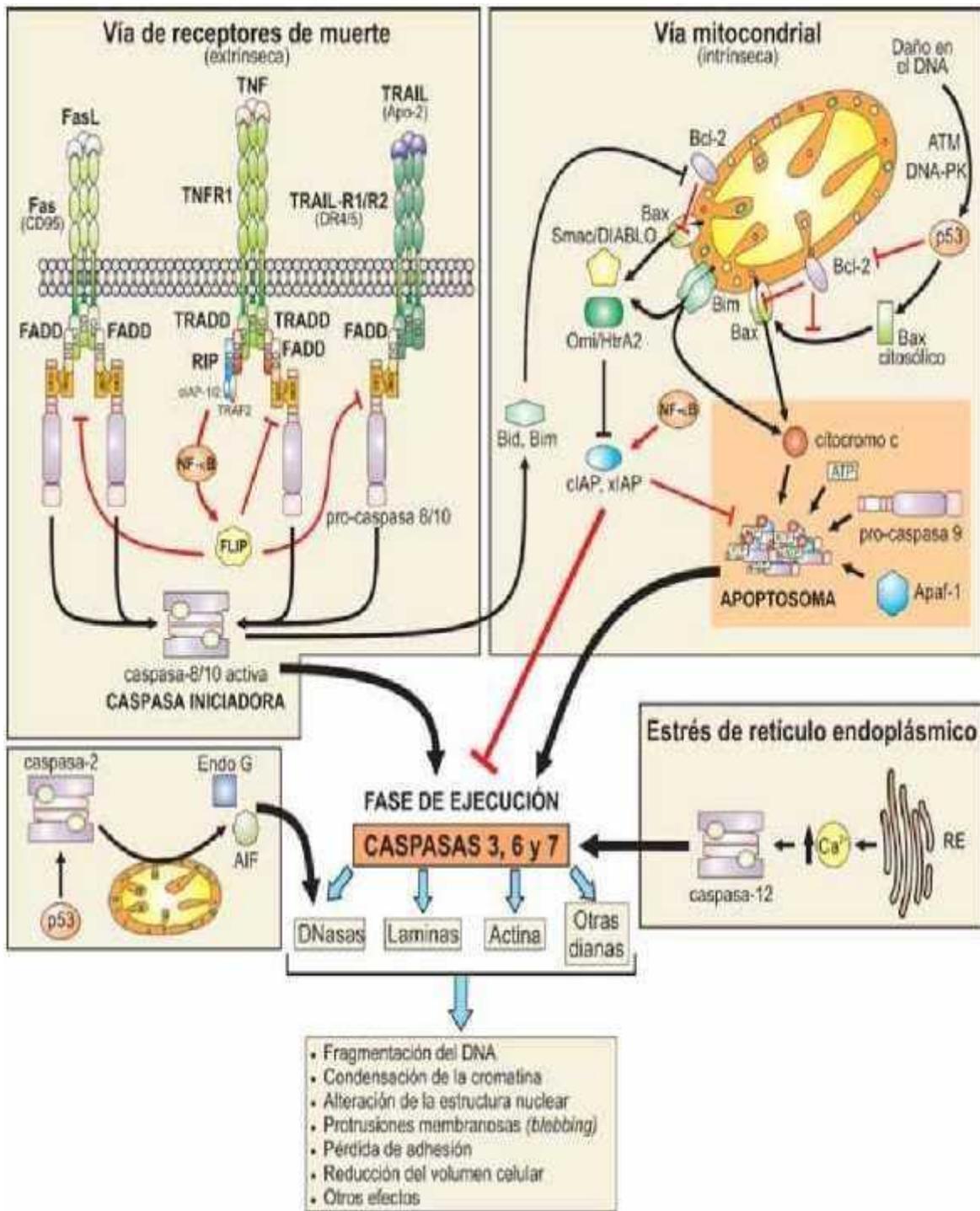
Esquema comparativo de las características morfológicas de la muerte celular por apoptosis y por necrosis.

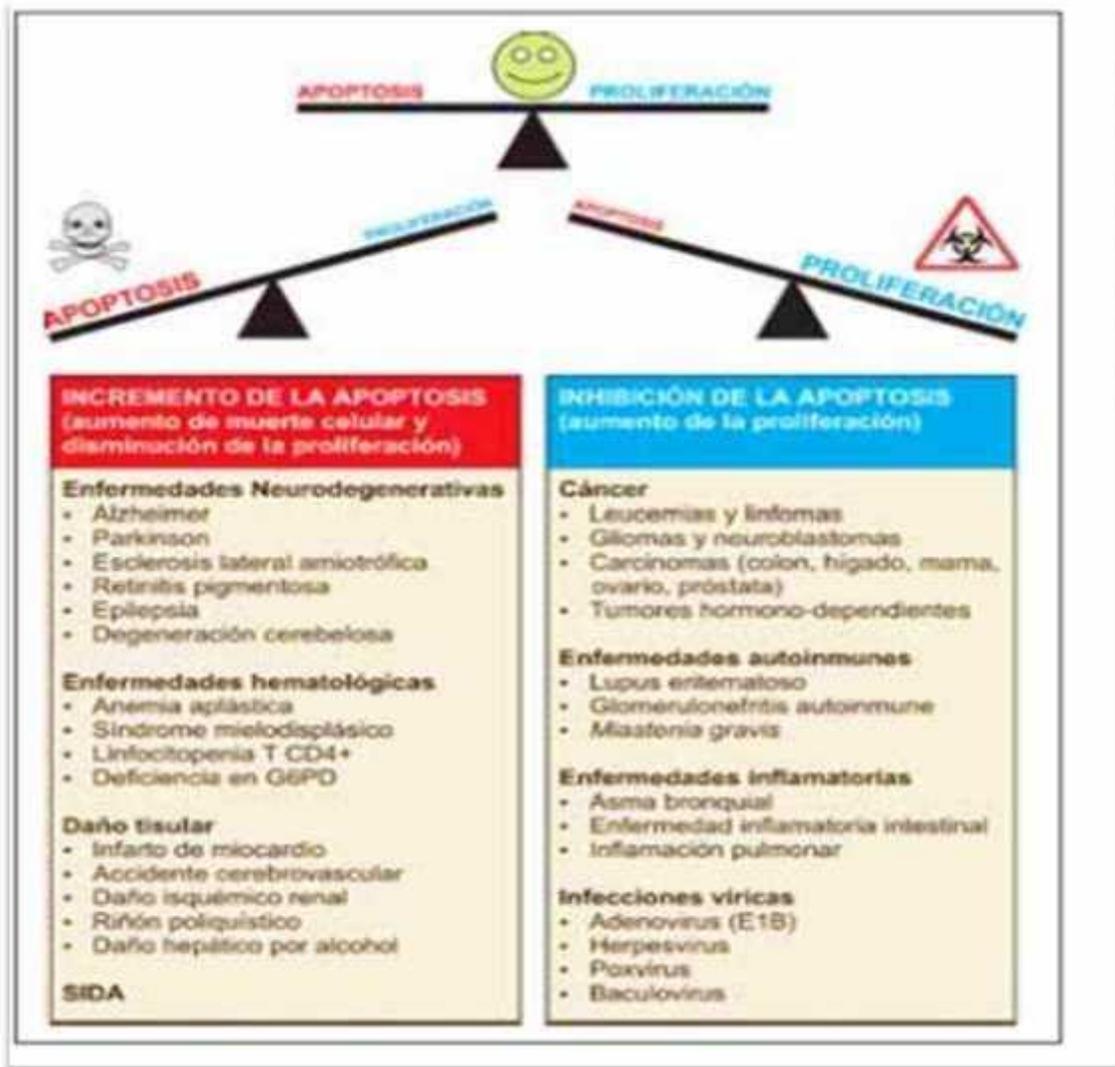


Anexo 3.

Modificado de Blomen y Boonstra, 2007

Esquema de las posibles salidas de una célula desde la fase G1.





Anexo 5

Lizarbe Iracheta MA. 2007

Patologías asociadas en el equilibrio entre los procesos de apoptosis y de proliferación celular (por incremento o por inhibición de la apoptosis).