

*Atlas de Histología Vegetal y Animal*

TEJIDOS ANIMALES

La célula  
**AMPLIACIONES III**

**Manuel Megías, Pilar Molist, Manuel A. Pombal**

Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud.

Facultad de Biología. Universidad de Vigo

(Versión: Junio 2022)

Este documento es una edición en pdf del sitio  
<http://mmegias.webs.uvigo.es/inicio.html>.

Todo el contenido de este documento se distribuye bajo  
la licencia Creative Commons del tipo BY-NC-SA  
(Esta licencia permite modificar, ampliar, distribuir y usar  
sin restricción siempre que no se use para fines comerciales,  
que el resultado tenga la misma licencia y que se nombre  
a los autores)

La edición de este documento se ha realizado con el software  $\text{\LaTeX}$   
(<http://www.latex-project.org/>), usando Texstudio  
([www.texstudio.org/](http://www.texstudio.org/)) como editor.

## Contenidos

<b>1</b>	<b>Condensinas y cohesinas</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Cromosomas</b>	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Centriolos /cuerpo basales</b>	<b>15</b>
<b>4</b>	<b>Cilios y flagelos</b>	<b>19</b>
<b>5</b>	<b>Microvellosidades</b>	<b>24</b>
<b>6</b>	<b>Ciclo del centrosoma</b>	<b>28</b>
<b>7</b>	<b>Plasmodesmos</b>	<b>33</b>
<b>8</b>	<b>Regulación del ciclo celular</b>	<b>35</b>

## 1 Condensinas y cohesinas

El cambio de estado de la cromatina durante el ciclo celular es dramático. En la interfase una gran parte tiene una organización laxa y desempaquetada (eucromatina), aunque otra parte está condensada (heterocromatina). Durante el funcionamiento normal de la célula hay porciones de cromatina que alternan entre los estados laxo y condensado. Estas transiciones en el grado de organización del ADN son imprescindibles para el funcionamiento celular. Durante este periodo tienen que transcribirse (leerse) una gran cantidad de genes y por tanto ser accesibles a las polimerasas y factores de transcripción, por lo que la cromatina ha de estar descondensada. Sin embargo, durante la mitosis la cromatina alcanza un alto grado de compactación y organización para formar los cromosomas. En esta etapa del ciclo celular lo que prima es el reparto y la segregación del ADN entre las células hijas, lo que se hace mejor si la cromatina está bien empaquetada y dividida en porciones discretas, los cromosomas. Empaquetar la cromatina en cromosomas discretos para su posterior separación en mitosis se lleva a cabo, además de por las histonas, por un grupo de proteínas denominadas SMC (structural maintenance chromosome). Éstas son las cohesinas y las condensinas.

### Cohesinas

La primera función que fue atribuida a las cohesinas (Figura 1), y por la cual llevan su nombre, es la de mantener las cromátidas hermanas unidas durante el ciclo celular hasta su correcta segregación en la anafase. En la levadura *Saccharomyces cerevisiae* se ha comprobado que los complejos de cohesina se ensamblan a las cromátidas en las fases G1 y S del ciclo celular, al tiempo que éstas se replican. Este proceso se conoce como "carga" y es dependiente de ATP.

Durante la mitosis es esencial en primer lugar la ordenación de los cromosomas en la placa metafásica y en segundo lugar la pérdida de cohesión entre cromátidas hermanas que permita la migración a polos opuestos durante la anafase. Este proceso es posible por la liberación de forma abrupta de las cohesinas que dejan de enlazar a las cromátidas hermanas. Proceso que ha de coordinarse de forma estricta con el

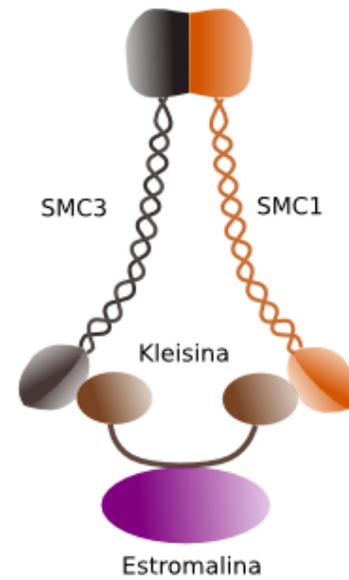


Figura 1: Esquema de la estructura y composición molecular de la cohesina. SMC1 y 3: "structural maintenance of chromosomes" o mantenimiento estructural del cromosoma (Imagen preparada por Ángela L. Debenedetti y Daniel García, alumnos de 4º de Biología. Modificado de Barbero 2009).

cambio de metafase a anafase, es decir, con la puesta en marcha de los mecanismos de tracción de los microtúbulos del huso mitótico. La acción simultánea de la separación de cromátidas y la tracción de los microtúbulos es el resultado de un mecanismo de convergencia entre dos vías moleculares que se inician antes en el tiempo y que están disparadas por la enzima quinasa dependiente de ciclina M (M-cdk).

Al llegar a la fase M la cohesina une cromátidas hermanas en toda su extensión, pero la M-cdk, entre los estados de profase y prometafase, fosforila directamente a un componente del complejo de la cohesina denominado kleisina (ver esquema molecular de la cohesina), lo que provoca la disociación de la cohesina de los brazos de las cromátidas pero no de los centrómeros, por lo que las cromátidas permanecen unidas por este punto. Las cohesinas del centrómero evaden esta fosforilación por la actividad de una proteína fosfatasa PP2A que se encuentra asociada a esta región. De este modo, las cromátidas hermanas enlazadas por el centrómero pueden disponerse de forma ordenada en la placa metafásica.

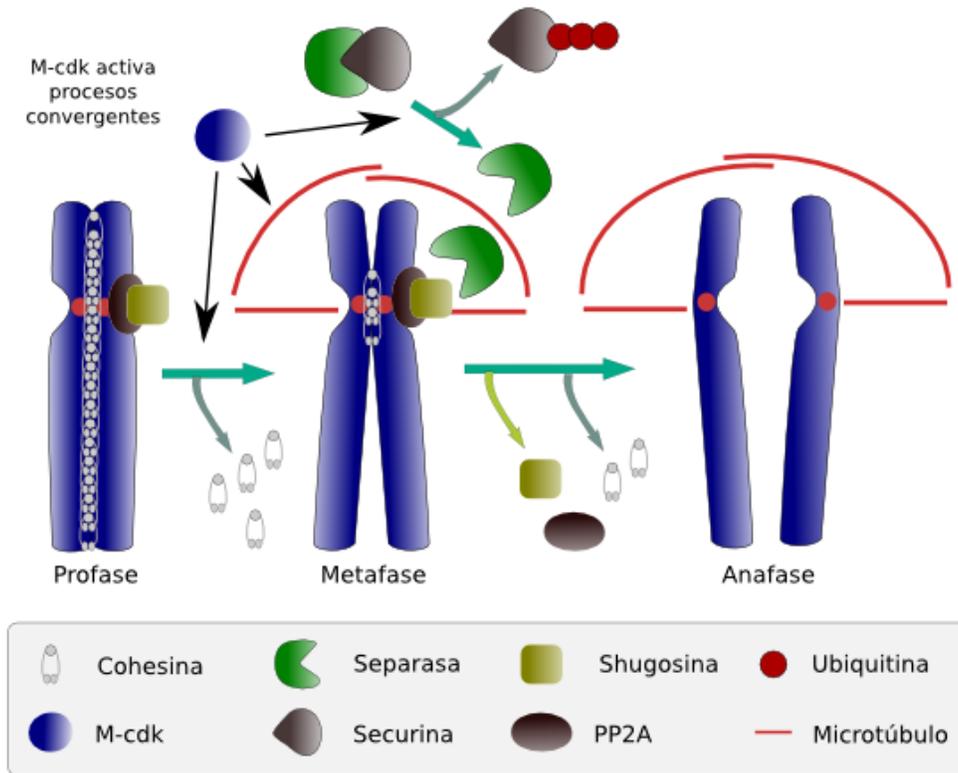


Figura 2: Esquema donde se muestra la acción de la cohesina durante la mitosis permitiendo la unión de las cromátidas desde la profase hasta la anafase. La acción de la M-cdk permite tres procesos de forma simultánea que convergen en la anafase: favorecer la formación del huso mitótico, desvincular las condensinas que no se encuentran en el centrómero y disparar la separación del complejo securina-separasa para permitir que la separasa elimine al complejo Shugosina-PP2A, que mantenía los centrómeros unidos gracias a las cohesinas, y pueda comenzar la anafase. (Imagen preparada por Ángela L. Debenedetti y Daniel García, alumnos de 4º de Biología. Modificado de Barbero 2009).

La M-cdk también ha fosforilado en las primeras etapas de la mitosis el complejo proteico APC (factor promotor de la anafase; en inglés: anaphase promoting factor), el cual disociará el dímero proteico securina-separasa. La misma M-cdk se ha encargado de fosforilar a proteínas que hacen que el citoesqueleto del huso mitótico cree las fuerzas que arrastrarán y separarán las cromátidas, ya desunidas. Estas fuerzas se manifiestan durante toda la mitosis.

Las cohesinas son también esenciales en el reparto de cromosomas durante la meiosis, pero aquí su actuación es más compleja que en la mitosis debido a que los procesos de segregación de los cromosomas son también más complejos. En la primera división meiótica los complejos de cohesina se disponen entrelazando tanto a las cromátidas hermanas (en los brazos y en el centrómero), al igual que ocurría en la mi-

tosis, como a los brazos de los cromosomas homólogos, manteniendo así la cohesión de los bivalentes. De esta manera pueden permanecer unidos hasta su adecuada ordenación en el plano ecuatorial en la metafase I. Al comienzo de la anafase I, a través de la vía dependiente de separasa, se desligan los complejos de cohesina presentes en los brazos cromosómicos, los que enlazan cromátidas hermanas y los que unen cromosomas homólogos. De nuevo las cohesinas de la región centromérica conservan la unión existente entre cromátidas hermanas. Cada homólogo, con su par de cromátidas, migra a polos opuestos. Así concluye la primera división meiótica. Alcanzada la segunda división meiótica, en la prometafase II, los cinetocoros hermanos se asocian a los microtúbulos de polos opuestos celulares, aún con las cohesinas dispuestas en la región del centrómero. En la prometafase II tardía

de mamíferos, la interacción de los microtúbulos de polos opuestos con los cinetocoros hermanos genera tensión en el centrómero desencadenando la deslocalización de la fosfatasa PP2A de los centrómeros y en la transición metafase II/anafase II, la separasa puede romper las uniones de las cohesinas centroméricas provocando la segregación de las cromátidas, al igual que ocurría en la mitosis.

Al margen de su función de cohesión entre cromátidas hermanas a lo largo del ciclo celular, a las cohesinas se les han atribuido también papeles en la reparación de ADN, en el control de la expresión génica y en otros nuevos roles que están siendo descubiertos en procesos bioquímicos ajenos a los aquí descritos.

### Condensinas

La condensación cromosómica resulta esencial por dos motivos. La primera es compactar la cromatina para formar los cromosomas y permitir así formar una estructura robusta que permita soportar el estrés de tracción al que se ven sometidos durante la segregación cromosómica. Por otra parte, sería difícil pensar en una segregación correcta del ADN entre las células hijas si la cromatina estuviese descondensada por todo el núcleo, se darían enrollamientos entre hebras de cromatina que impedirían su reparto. En esta compactación participan las condensinas (Figura 3).

Se ha demostrado *in vitro* que el complejo SMC (ver el esquema del complejo molecular de la condensina) induce la tensión del DNA en un proceso dependiente de ATP. Primeramente, y en presencia de la enzima topoisomerasa I, induce el superenrollamiento de la cromatina. En segundo lugar, promueve la formación de lazos, en colaboración con la enzima topoisomerasa II. Se cree que los mismos procesos ocurren en las células durante la profase.

Las condensinas tienen dos funciones: una dependiente de ATP para enrollar dobles hélices cercanas de DNA, y otra independiente que ayudaría en la rehibridación de las dos cadenas. El ATP parece esencial para la carga de la condensina en la cromatina, mientras que la hidrólisis afecta a la correcta localización y la formación de organizaciones más complejas de la cromatina.

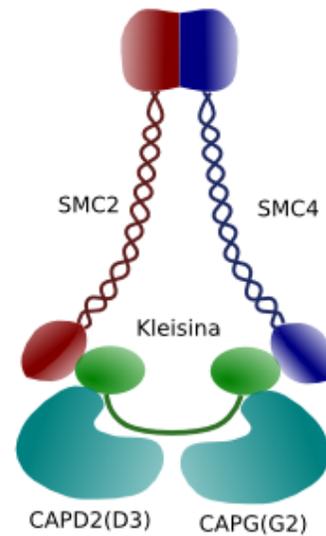


Figura 3: Esquema de la estructura y composición molecular de la condensina (Imagen preparada por Ángela L. DeBenedetti y Daniel García, alumnos de 4º de Biología. Modificado de Maeshima y Eltsov, 2008).

Se cree que el dímero de subunidades SMC de la condensina puede aumentar el ángulo de apertura de sus brazos y asociarse a regiones distantes de las moléculas de DNA por interacción de éstas con los dominios de sus cabezas. A continuación, la estructura del dímero regresa a su estado inicial, induciendo una fuerza de tracción en el DNA que promueve su plegamiento formando un lazo (Figura 4). Mediante interacciones entre los dímeros SMC de distintos complejos de condensinas se formarían estructuras nucleoproteicas de mayor orden en disposición de anillos o hélices. Todo ello permite la condensación de la cromatina resultando en los cromosomas mitóticos.

Todos los organismos tienen algún tipo de condensina, incluidas las bacterias. Los hongos sólo tienen condensina I, sin embargo las algas tienen dos. Los hongos perdieron una. *C. elegans* tiene tres condensinas. Los animales y las plantas tienen dos condensinas: I y II. La proporción de condensina I respecto a la II es aproximadamente 1 en la línea celular humana HeLa, pero 5 a 1 en *Xenopus*, y 10 a 1 en pollos.

Las condensinas I y II actúan en diferentes etapas del proceso de compactación de los cromosomas. La

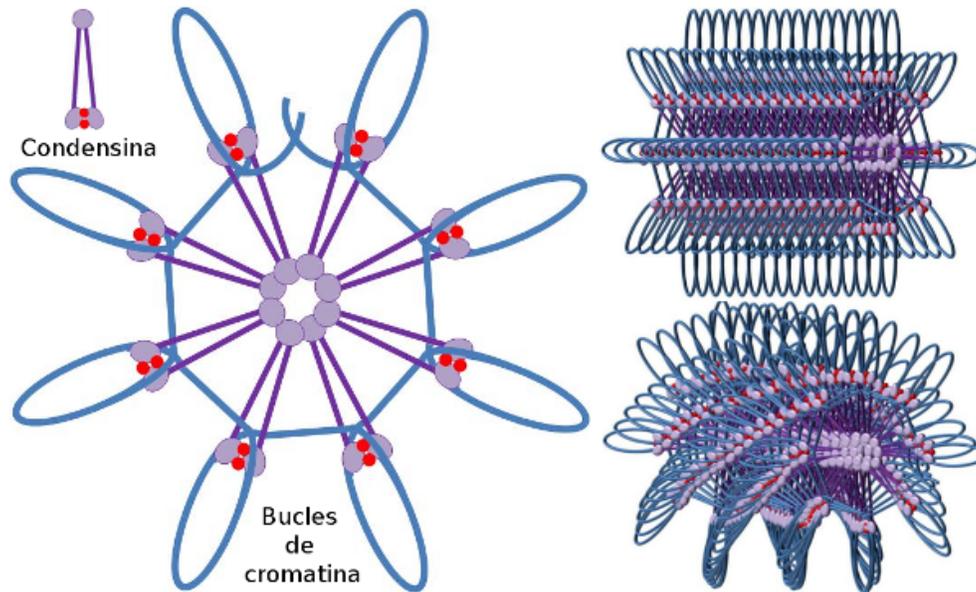


Figura 4: Esquema de la formación de bucles por parte de las condensinas (imagen de la derecha). La línea azul representa a la cromatina. Las imágenes de la derecha intentan dar una visión tridimensional sobre el efecto de las condensinas sobre la cromatina. Hay que tener en cuenta que la disposición de los bucles y su disposición tridimensional (imágenes de la derecha) no son tan regulares como aparecen en el esquema (Imágenes preparada por Ángela L. Debenedetti y Daniel García, alumnos de 4º de Biología. Modificado de Maeshima y Eltsov, 2008).

condensina I se concentra en los cromosomas en profase y desaparece de ellos en telofase. Está en el citoplasma durante la interfase, aunque puede persistir un conjunto de ellas en G1, que luego desaparece. La II se asocia a la cromatina en interfase y se concentra en los cromosomas en profase. Su función en interfase no está clara pero podría influir en la organización de la cromatina. La condensina II participaría en una fase temprana de condensación cromosómica, mientras que la condensina I, ayudada por la condensina II, será la que da forma y estabiliza los cromosomas en una fase de condensación más tardía.

La distribución espacial y temporal desigual determina el momento de acceso de las condensinas al material genético. Así, la condensación inicial de la cromatina durante la profase se produce por la actividad de la condensina II, gracias a que es fosforilada por diferentes quinasas. Al final de la profase la envuelta nuclear se desorganiza y la condensina I, que se encontraba en el citoplasma, tiene acceso a la cromatina. Entonces las actividades conjuntas de las condensinas I y II ayudan a compactar el ADN hasta los niveles vistos en los cromosomas metafásicos (Figura 5).

Las condensinas no se unen aleatoriamente al cromosoma. Tienen preferencias por centrómeros, telómeros, genes, y a regiones de comienzo y finalización de la transcripción, luego puede que su función se más que meramente estructural. Además, la condensina I se une específicamente a la histona H2A y H4 durante la mitosis.

A pesar de que los cromosomas de vertebrados son capaces de compactarse casi espontáneamente, en ausencia de condensinas pierden su arquitectura organizada durante la anafase. Además, se supone que los complejos de condensina deben permanecer activos tras el cese de la actividad Cdk a medida que transcurre la anafase, con el fin de garantizar la correcta migración de los cromosomas a los polos opuestos. La actuación de las condensinas en la compactación meiótica de la cromatina todavía no ha sido estudiada con detalle, por lo que no podemos aportar datos en lo que atañe a este mecanismo.

Los papeles de la condensina II se intuyen por mutantes que carecen de ella: se pierde condensación axial con cromosomas más largos y curvados, las cromátidas parece más enredadas, también en

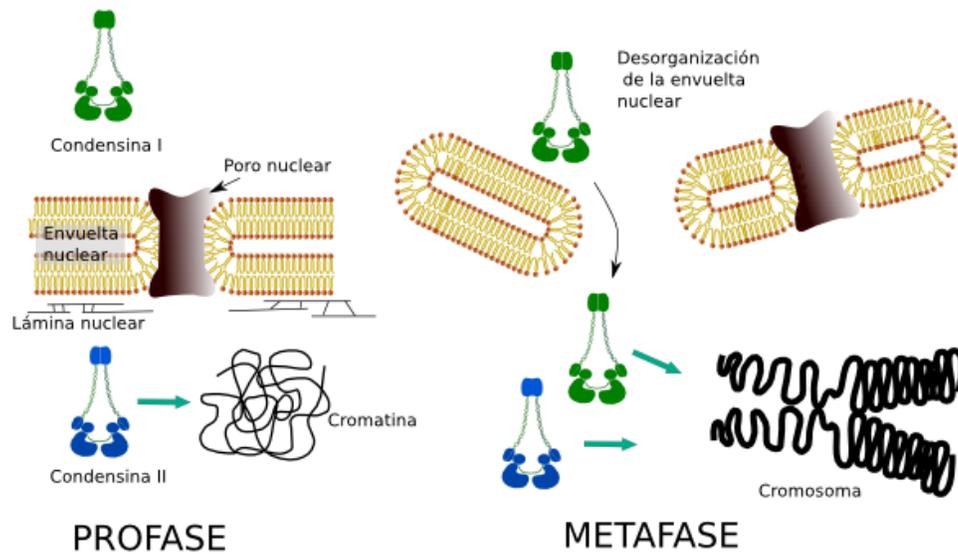


Figura 5: Acción de las condensinas I y II en las diferentes fases de la mitosis (Imágenes preparada por Ángela L. Debenedetti y Daniel García, alumnos de 4º de Biología. Modificado de Ono et al., 2004)

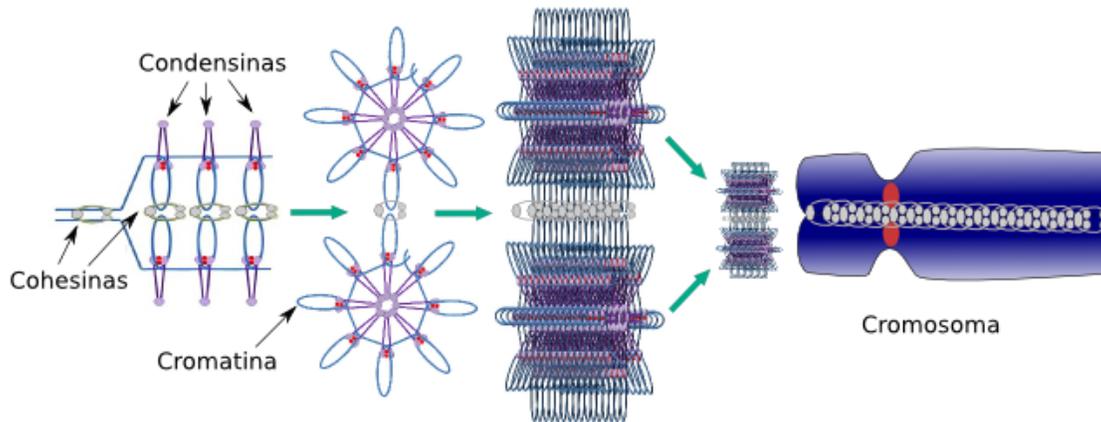


Figura 6: Acción conjunta de las cohesinas y las condensinas. (Imágenes preparada por Ángela L. Debenedetti y Daniel García, alumnos de 4º de Biología. Modificado de Maeshima y Eltsov, 2008).

anafase. También hay una profase más corta. Cuando falta la condensina I se produce sin embargo una falta en la condensación lateral, falla la citocinesis y las células se vuelven poliploides.

Las condensinas también se han relacionado con la regulación de la compactación de la cromatina durante la interfase. Al alterar el grado de compactación de la cromatina permiten o deniegan el acceso de la maquinaria de transcripción a las regiones génicas. Pero parece que este mecanismo regulatorio está basado en otras rutas moleculares distintas

a las que actúan durante la mitosis, aunque también participan las condensinas.

Se ha descrito la acción de las condensinas y de las cohesinas por separado pero ambas actúan conjuntamente y de forma coordinada durante la división celular. En el siguiente esquema se resumen ambas actuaciones (Figura 6).

#### Bibliografía

Barbero JL. Cohesins: chromatin architects in chromosome segregation, control of gene expression

and much more. Cellular and molecular life sciences. 2009. 66:2025-2035.

Hirano T. SMC proteins and chromosome mechanics: from bacteria to humans. *Philosophical transactions of the Royal Society B*. 2005. 360:507-514.

Hudson DF, Marshall KM, Earnshaw WC. Condensin: Architect of mitotic chromosomes. *Chromosome Research*. 2009. 17:131-144.

Kalitsis P, Zhang T, Marshall KM, Nielsen GF, Hudson DF. 2017. Condensin, master organizer of the genome. *Chromosome research*. 25:61-76.

Maeshima K, Eltsov M. Packaging the genome: the structure of mitotic chromosomes. *Journal of biochemistry*. 2008. 143:145-53.

Nashmyth K, Haering CH. The structure and function of SMC and kleisin complexes. *Annual Review of Biochemistry*. 2005. 74:595-648.

Ono T, Fang Y, Spector DL, Hirano T. Spatial and temporal regulation of Condensins I and II in mitotic chromosome assembly in human cells. *Molecular biology of the cell*. 2004. 15:3296-3308.

Peters JM. The cohesin complex and its roles in chromosome biology. *Genes and development*. (2008) 22: 3089-3114.

Uhlmann F, Lottspelch F, Nasmyth K. Sister chromatid separation at anaphase onset is promoted by cleavage of the cohesin subunit Scc1. *Nature*. 1999. 400, 6739:37-42

## 2 Cromosomas

En esta página vamos a tratar la organización estructural de la cromatina a lo largo del ciclo celular y las características morfológicas de los cromosomas. La información genética de las células eucariotas está almacenada en cadenas de ADN enormemente largas (si exceptuamos a las mitocondrias y a los cloroplastos, con cadenas de ADN mucho más cortas). El ADN es una molécula relativamente inerte y necesita de las proteínas para expresarse, para regular dicha expresión, para replicarse y para organizarse en el interior del núcleo. También necesita la actividad de las proteínas para que se repartan durante la fase M las dos copias de cada molécula de ADN, tras replicarse durante la fase S, entre las dos células hijas resultantes. Por tanto, el ADN siempre está asociado a proteínas y al conjunto de ADN más proteínas asociadas se le denomina cromatina.

En el núcleo en interfase (fases G1, S y G2) y en células que no se están dividiendo, se puede observar a la cromatina en dos estados: poco densa (eucromatina) y más empaquetada (heterocromatina) (Figura 7), mientras que en la fase M, sobre todo en metafase, la cromatina está fuertemente compactada formando unas estructuras denominadas cromosomas. Tras la fase M, la cromatina que forma los cromosomas se descondensa para formar de nuevo un núcleo típico en interfase. Es decir, durante el ciclo celular se produce condensación y descondensación de la cromatina. Aunque también fuera de la fase M se producen cambios en la compactación de la cromatina. Así, la denominada heterocromatina facultativa, también denominada eucromatina heterocromatinizada, puede cambiar entre los estados de heterocromatina y de eucromatina según las necesidades de la célula.

### Nucleosomas (10 nm de diámetro)

Como vimos en la página dedica a la cromatina, el ADN siempre se encuentra asociado a unas proteínas denominadas histonas. La asociación ADN-histonas produce una unidad de organización básica que se denomina nucleosoma (Figura 8). Podríamos decir que el nucleosoma es el nivel más básico de empaquetamiento del ADN. Se estima que un núcleo

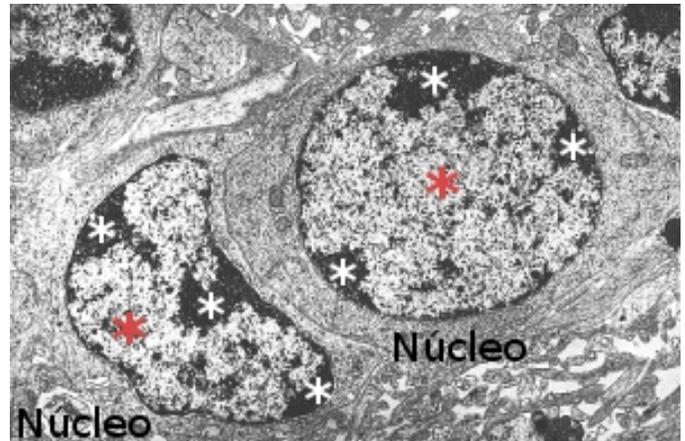


Figura 7: Imagen de varias células realizada con un microscopio electrónico en cuyos núcleos se observan acúmulos de heterocromatina, que aparece de color negro (asteriscos blancos), y de eucromatina, de color claro y aspecto granulado (asteriscos rojos).

de una célula humana contiene  $3,3 \times 10^7$  nucleosomas. Un nucleosoma está formado por un núcleo de histonas, alrededor del cual está enrollada la cadena de ADN. Esta última da aproximadamente dos vueltas al núcleo de histonas, lo que representa unos 166 pares de bases (el ADN es una doble cadena). Entre dos núcleos de histonas contiguos, más ADN enrollado, existe ADN de unión de unas 34 pares de bases de longitud, por lo que existen "cuantos" de unos 200 pares de bases que se repiten en la cromatina. Hay que tener en cuenta que este ADN de unión entre nucleosomas puede variar ampliamente entre tipos celulares y tejidos diferentes, incluso dentro de un mismo núcleo. La parte proteica del nucleosoma está constituida por un octámero de histonas formado por cuatro dímeros de los tipos de histonas H3, H4, H2A y H2B. Cada una de estas histonas tiene una secuencia de unos 30 aminoácidos en su extremo amino que sobresale del nucleosoma y que es una de las regiones mejor conservadas evolutivamente. Estas "colas" de las histonas tienen dos funciones importantes: regulan el acceso de otras proteínas al ADN para la transcripción, replicación y reparación, y permiten grados de mayor compactación de la cromatina mediante la interacción y acercamiento de nucleosomas vecinos.

### Fibras (30 nm de diámetro)

La histona H1 o histona de conexión, de la cual

en mamíferos hay al menos 8 variantes, se asocia al ADN de unión, en un lugar muy próximo a la salida o entrada del ADN al nucleosoma. Una función de la histona H1, junto con las histonas del nucleosoma, es favorecer el empaquetamiento de la cromatina en fibras de 30 nm de grosor. Existen diferentes teorías en cuanto al modo en que se organiza el ADN cuando se compacta en estas fibras: formando una hélice, en zig-zag o con uniones cruzadas, entre otras.

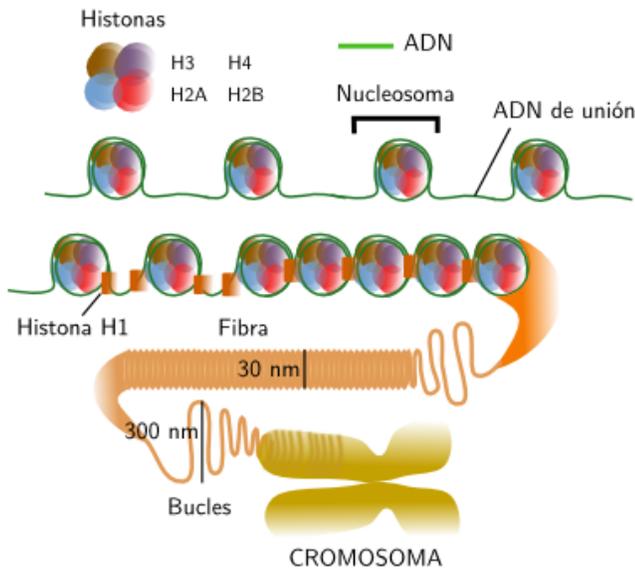


Figura 8: Esquema de los diferentes grados de empaquetamiento de la cromatina, desde los nucleosomas hasta los cromosomas.

Hay diversos modelos de cómo se aumenta la compactación de la cromatina desde las fibras hasta los cromosomas, el mayor grado de empaquetamiento de ADN. La mayoría de los autores proponen que las fibras se organizan formando bucles, de unos 300 nm. Se ha propuesto que los bucles se empaquetan más en unas estructuras denominadas cromómeros (300 a 700 nm). Éstos últimos serían también constituyentes de la heterocromatina y aparecerían en forma de granulado oscuro en los núcleos en interfase. Sin embargo, numerosos autores proponen que los bucles se compactan directamente, sin formar estructuras discernibles más compactadas, hasta formar los cromosomas. La heterocromatina correspondería con diferentes grados de empaquetamiento de las fibras de 30 nm.

## Cromosomas

La entrada en fase M supone que la mayor parte de la cromatina, tanto eucromatina como heterocromatina, pasará a formar los cromosomas. Esta última compactación está dirigida y mantenida por una serie de proteínas entre las que se encuentran la cohesina y la condensina, y aparentemente la topoisomerasa 2. Cada cromosoma en metafase está formado por dos cromátidas hermanas, que resultan de la replicación del ADN durante la fase S y se mantienen unidas por las condensinas. Esta unión entre cromátidas quedará posteriormente reducida a una única región, la región centromérica.

Muchas de las especies animales que nos son comunes son diploides, es decir, tienen dos copias de cada cromosoma (cromosomas homólogos) y son portadoras por tanto de dos formas de cada gen, denominadas alelos. El cariotipo es el conjunto completo de los pares de cromosomas de una célula tal y como aparecen en metafase (Figura 9). El número, las formas y los tamaños de los cromosomas que forman el cariotipo son característicos para cada especie, aunque existan excepciones. Hay dos tipos de cromosomas en un cariotipo: los autosomas y los cromosomas sexuales. Mientras que los autosomas son los mismos en hembras y en machos, los sexuales pueden ser diferentes. Por ejemplo, las hembras de los mamíferos presentan dos cromosomas X mientras que los machos presentan un cromosoma X y otro Y (La última pareja de la primera fila de la imagen anterior del cariotipo son los cromosomas sexuales). En cuanto al número de cromosomas, éste puede variar según la especie considerada, desde 1 ó 2 cromosomas, como en ciertas especies de hormigas, hasta más de 700, como en algunos helechos.

Con el microscopio óptico se pueden observar diferentes regiones en los cromosomas caracterizadas por diferencias morfológicas (Figura 10) debidas al distinto grado de compactación de la cromatina como los centrómeros o constricciones primarias, las constricciones secundarias y los satélites, por su situación en el cromosoma como los telómeros o por las diferencias en su tinción como las bandas. Los extremos de los cromosomas se denominan telómeros y el lugar de unión de las cromátidas hermanas se denomina

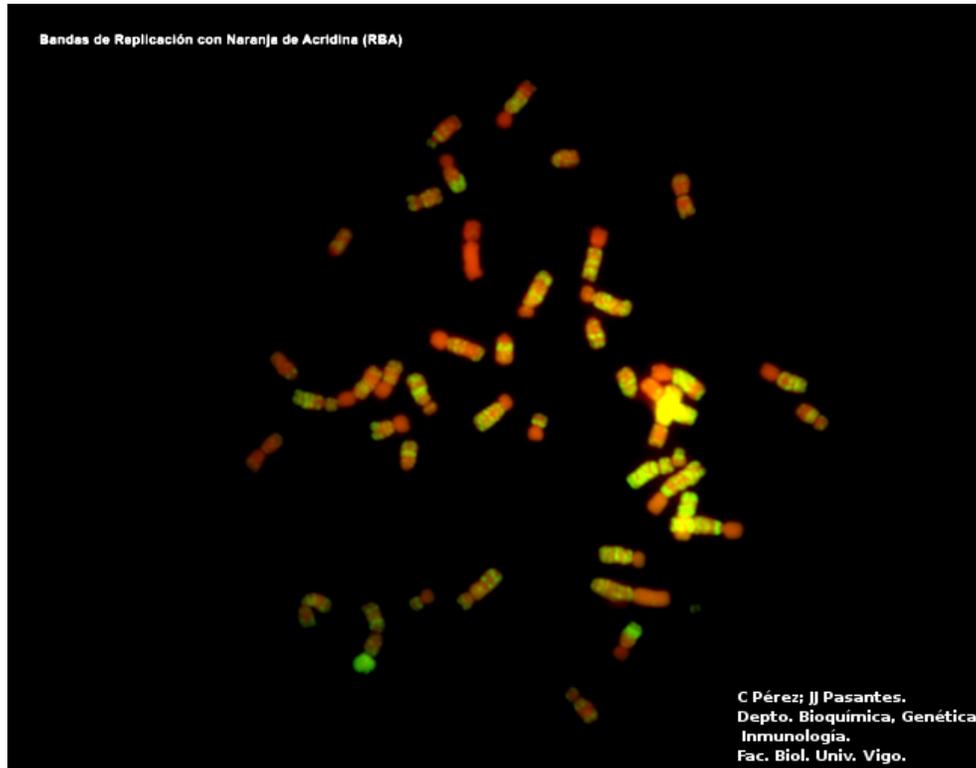


Figura 9: Imágenes de cromosomas en metafase (pulsar en ellas para verlas ampliadas). En estas dos imágenes se muestran los cromosomas en metafase de un hámster sirio teñidos con la molécula fluorescente naranja de acridina. Las bandas que se observan en los cromosomas son bandas de replicación. En la imagen A se muestran los cromosomas tal y como se observan tras el proceso experimental de obtención y tinción, mientras que la imagen B muestra el cariotipo, es decir, los cromosomas homólogos emparejados y ordenados. (Imágenes donadas por Concepción Pérez García y Juan José Pasantes Ludeña. Dpto. de Bioquímica, Genética e Inmunología; Facultad de Biología. Universidad de Vigo).

centrómero o constricción primaria.

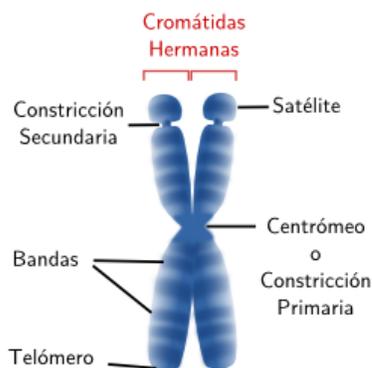


Figura 10: Esquema de las estructuras visibles de un cromosoma al microscopio óptico. Estas estructuras no necesariamente aparecen a la vez en todos los cromosomas.

La forma de los cromosomas es importante para el estudio de los cariotipos puesto que nos permite

identificar y comparar cromosomas de forma individualizada (Figuras 9 y 11). Principalmente viene determinada por la posición del centrómero, pues éste pone de manifiesto en el cromosoma sus dos brazos, generalmente uno más corto que el otro. Los cromosomas metacéntricos presentan dos brazos de longitud similar (por ejemplo, las parejas A5 y E20 de la imagen del cariotipo; Figura 3), los submetacéntricos tienen un brazo claramente más corto que el otro (por ejemplo, las parejas A2 y C14 de la imagen del cariotipo; Figura 3). En los cromosomas submetelocéntricos o acrocéntricos la diferencia en longitud de los brazos es mayor que en los submetacéntricos (por ejemplo, la parejas B6 y D19 de la imagen del cariotipo; Figura 3) y en los cromosomas telocéntricos uno de los brazos es muy corto o inexistente, es decir, el punto de unión entre cromátidas hermanas está en el extremo de éstas (por ejemplo, las parejas D16 y D17 de la

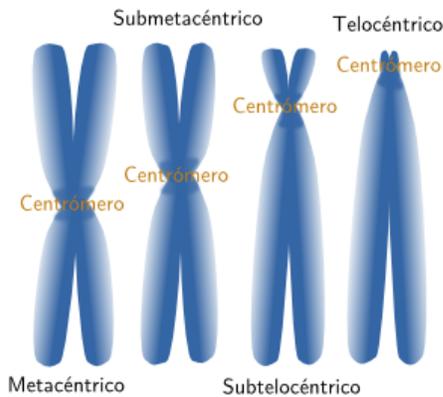


Figura 11: Esquema de los diferentes nombres que se dan a los cromosomas según la longitud de sus brazos.

imagen del cariotipo).

En centrómero típico aparece como una constricción, denominada primaria, visible con el microscopio óptico en los cromosomas en metafase de eucariotas superiores (Figura 12). Se podría definir una constricción primaria como un lugar del cromosoma donde no se pueden discernir las dos cromátidas hermanas y en el que ambas cromátidas son más delgadas que en el resto del cromosoma. El centrómero es una región especializada del cromosoma, formada por cromatina menos condensada, que dirige la segregación de los cromosomas en la anafase. Esto es debido a que sobre él se ensambla un complejo proteico, el cinetocoro, al que se unen parte de los microtúbulos que constituyen el huso mitótico, posibilitando la correcta separación de las cromátidas hermanas a polos distintos durante la anafase. Hay dos tipos de cinetocoros, los denominados localizados y los difusos. En el primer caso, el más frecuente, el cinetocoro ocupa una región única en el cromosoma (el centrómero) y sobre él convergen parte de los microtúbulos del huso mitótico. Un caso extremo de este tipo es cuando el centrómero está tan localizado que ensambla un cinetocoro al que sólo se une un microtúbulo, como ocurre en algunas levaduras. Los cinetocoros difusos, que son poco frecuentes, no se localizan en una región pequeña del cromosoma sino que las proteínas del cinetocoro se distribuyen por todo el cromosoma, así como los puntos de anclaje de los microtúbulos.

En los brazos de los cromosomas se detectan a veces

otras constricciones, denominadas secundarias, en las que las cromátidas hermanas no están unidas como en el centrómero y que son regiones de cromatina menos condensada. La constricción secundaria mejor conocida es la generada por la presencia de las secuencias de ADN que forman parte del nucléolo, denominada región organizadora del nucléolo (NOR). Esta constricción secundaria sólo aparece en uno o varios cromosomas del cariotipo y se encuentra situada en una región intermedia (no terminal) del cromosoma. Si estas regiones intermedias están próximas a los telómeros, las constricciones secundarias separan un pequeño fragmento terminal de la cromátida del resto de la misma. Estos fragmentos terminales son denominados satélites y aparecen por ejemplo en los extremos de los brazos cortos de los cromosomas humanos 13, 14, 15, 21 y 22.

También con el microscopio óptico se pueden distinguir ciertas regiones dispuestas en bandas de distinta intensidad de tinción o de distinto color cuando se tiñen los cromosomas con determinados colorantes, algunos fluorescentes (Figura 13). El patrón de bandas depende del tipo de tratamiento previo del cromosoma y de la clase de tinción empleada, así como de las características estructurales (riqueza en pares de bases guanina y citosina, compactación de la cromatina) o funcionales (momento de la replicación) del ADN que las componen. Puesto que estos patrones de bandas son característicos de cada cromosoma, su uso es esencial para identificar inequívocamente cromosomas similares en tamaño y morfología. Las bandas cromosómicas tienen una gran utilidad en la detección de alteraciones cromosómicas o para situar con precisión la posición ocupada por genes concretos en un cromosoma.

#### 4. Cromosomas descondensados

Si pensamos en el núcleo interfásico como un amasijo de cromatina, consecuencia de la descondensación de los cromosomas, es difícil imaginar cómo la célula es capaz de manejar esta cromatina, condensarla, descondensarla, regularla y expresarla, sin formar un enorme enredo. Lejos de ser un amasijo, en 1980 se observó que los cromosomas de mamíferos ocupaban territorios espaciales definidos en el núcleo (Figura 14). Estos territorios son casi esféricos, de

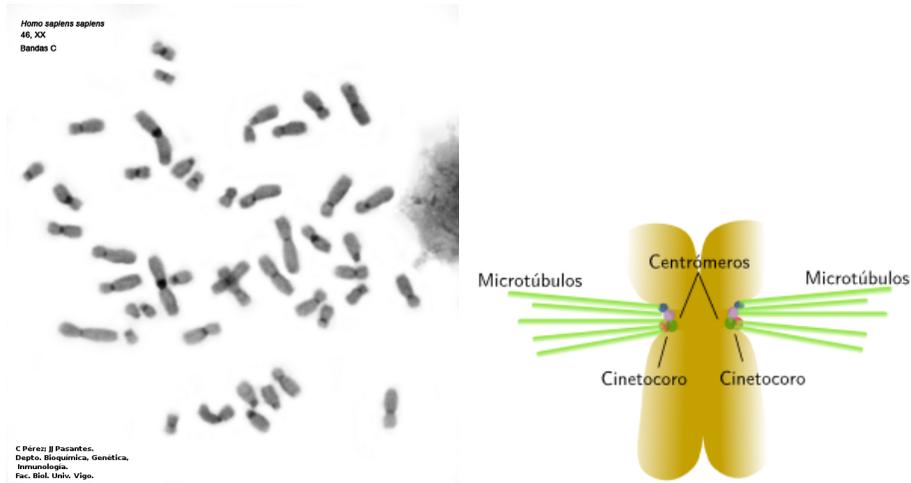


Figura 12: En la imagen de la izquierda aparecen cromosomas de humano donde se aprecian bandas C o regiones de heterocromatina constitutiva, las cuales suelen localizarse en las proximidades de los centrómeros. En torno a ellos se asocian una serie de proteínas que constituyen los cinetocoros, a los cuales se unen parte de los microtúbulos del huso mitótico, esquematizado en la imagen de la derecha. (La imagen de la izquierda donada por Concepción Pérez García y Juan José Pasantes Ludeña. Dpto. de Bioquímica, Genética e Inmunología; Facultad de Biología. Universidad de Vigo)

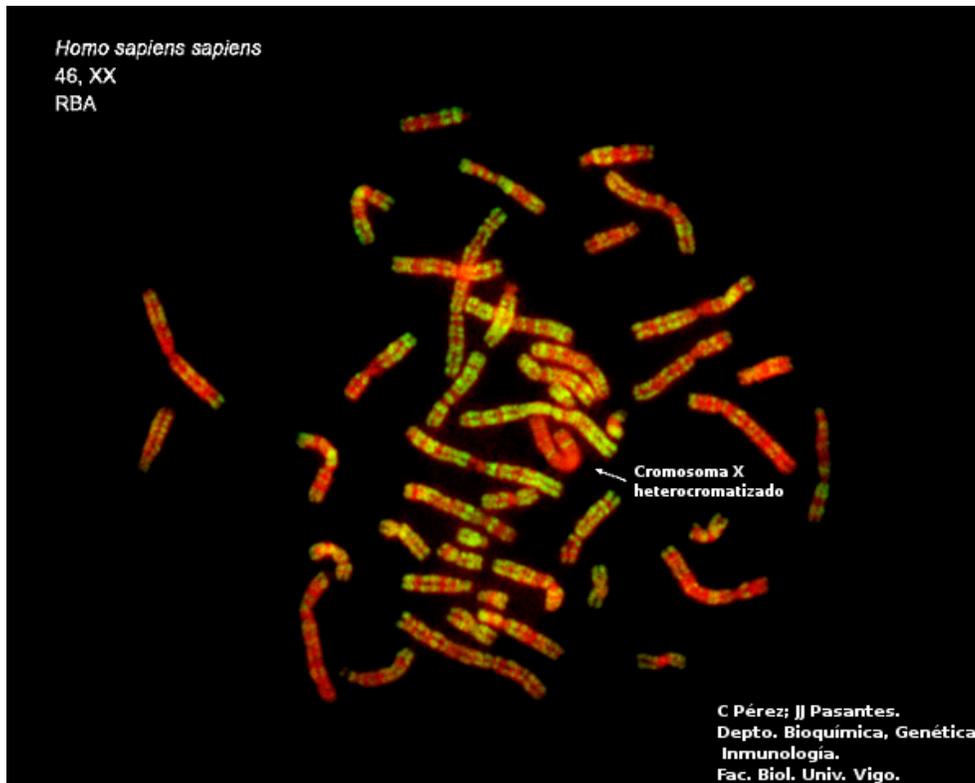


Figura 13: Imágenes de cromosomas en metafase (pulsar en ellas para verlas ampliadas). A) Cromosomas de humano teñidos con el colorante giemsa. B) Cromosomas de humano teñidos con la molécula fluorescente naranja de acridina. (Imágenes donadas por Concepción Pérez García y Juan José Pasantes Ludeña. Dpto. de Bioquímica, Genética e Inmunología; Facultad de Biología. Universidad de Vigo)

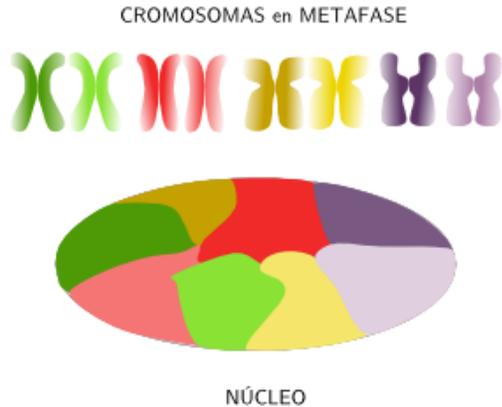


Figura 14: Los cromosomas se descondensan durante la anafase y su cromatina se distribuye por el núcleo de forma organizada ocupando territorios definidos que no suelen entremezclarse. (Modificado de Bolzer et al., 2005).

unos 2 a 4  $\mu\text{m}$  de diámetro, y los territorios de diferentes cromosomas sólo se mezclan un poco en sus bordes (en levaduras, sin embargo, los límites entre territorios no están tan bien definidos). Muchas evidencias soportan una organización no aleatoria de los territorios en el nucleoplasma. Aunque la disposición puede diferir entre tipos celulares, estados de diferenciación y a lo largo del ciclo celular, parece que la ordenación territorial es bastante estable en el tiempo para una misma célula. Por tanto, los territorios que ocupan los cromosomas dentro del núcleo no son al azar. Los más activos suelen localizarse en el centro del núcleo, mientras que los menos activos lo hacen cerca de la envuelta nuclear. No sólo eso, dentro de cada territorio las regiones que se replican durante la primera mitad de la fase S (regiones de replicación temprana) se encuentran separadas de las que se replican en la segunda mitad de la fase S (regiones de replicación tardía). Las interacciones con el lámina nuclear y con las membranas de la envuelta ayudan en esta segregación por territorios. Es interesante reseñar que también los cromosomas homólogos se despliegan en regiones diferentes del núcleo.

Dentro de cada territorio hay subterritorios o dominios (Figura 15). Así, hay territorios de cromatina reprimida: cromatina policómbica, heterocromatina y otra menos caracterizada. La cromatina activa o abierta puede contener secuencias reguladoras, pro-

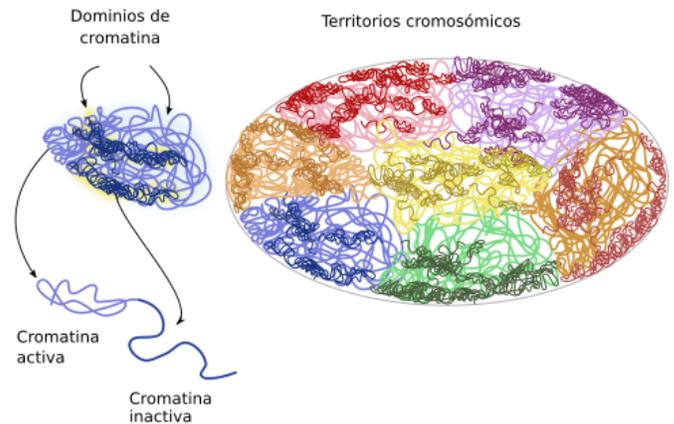


Figura 15: Esquema de la organización de la cromatina en núcleo en interfase.

motores, secuencias transcritas y regiones unidas a proteínas cromatínicas aislantes. A pesar de ello, los territorios no determinan por completo cómo se va a comportar un gen. La cromatina reprimida no parece interactuar con otros territorios, mientras que la cromatina abierta puede hacerlo, incluso con dominios de otros territorios cromosómicos. Los mecanismos para la formación de los dominios cromosómicos son las interacciones locales entre lazos de cromatina. Por ejemplo, la cromatina activa tiene más propensión a interactuar con otras zonas cercanas de cromatina activa que con cromatina reprimida.

### Bibliografía

- Belmond AS. Mitotic chromosome scaffold structure: new approaches to an old controversy. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2002. 99:15855 -15857.
- Bolzer A, Kreth G, Solovei I, Koehler D, Saracoglu K, Fauth C, Muller S, Eils R, Cremer C, Speicher MR, Cremer T. Three-dimensional maps of all chromosomes in human male fibroblast nuclei and prometaphase rosettes. *PLOS biology*. 2005. 3(5):e157. doi:10.1371/journal.pbio.0030157.
- Cavalli G, Misteli T. 2012. Functional implications of genome topology. *Nature structural and molecular biology*. 20: 290-299.
- Vagnarelli P, Ribeiro SA, Earnshaw WC. Centromeres: old tales and new tools. *FEBS Letters*.

2008. 582:1950 -1959.

Wanner G, Formanek H. A new chromosome model.  
Journal of structural biology. 2000. 132:147 -161.

### 3 Centriolos /cuerpo basales

Los centriolos y los cuerpos basales son estructuras formadas por microtúbulos que están presentes en la mayoría de las células eucariotas. Los centriolos forman parte de los centrosomas y los cuerpos basales son parte de los cilios y flagelos. Ambos poseen la misma estructura molecular y son intercambiables en la célula. Es decir, un centriolo puede viajar a la membrana y formar un cilio, y un cuerpo basal puede dirigirse al interior celular y formar un centrosoma. La misión de los centriolos en el centrosoma parece relacionada con la organización del propio centrosoma, mientras que la función de los cuerpos basales es nuclear los microtúbulos que forman el axonema o esqueleto de los cilios y flagelos. Pero tanto centriolos como cuerpos basales tienen otras funciones secundarias asociadas.

#### Estructura

En humanos un centriolo maduro, o cuerpo basal, es un cilindro que mide de 150 a 500 nm de altura y unos 250 nm de diámetro. Esto hace al centriolo/cuerpo basal una de las estructuras proteicas más grandes de la célula. La altura es variable y no se sabe todavía cómo se establece. Sus paredes están formadas en la mayoría de los casos por 9 tripletes de microtúbulos dispuestos longitudinalmente. Aunque en ocasiones pueden ser 9 parejas, como ocurre en los embriones de la mosca del vinagre, o incluso 9 microtúbulos simples, como se puede observar en los embriones del nemátodo *C. elegans*. Los microtúbulos de los centriolos están orientados todos en la misma dirección, sus extremos más están en una parte del cilindro y los menos en la otra, denominados extremos distal y proximal del centriolo/cuerpo basal, respectivamente. En definitiva, el centriolo/cuerpo basal es una estructura también polarizada. De los tres microtúbulos que forman cada triplete sólo el más interno, o microtúbulo A, tiene una estructura de microtúbulo completo con sus 13 protofilamentos, mientras que el B y el C son incompletos, tienen 10 protofilamentos y comparten 3 del A y 3 del B, respectivamente. A la parte distal del centriolo maduro sólo llegan los microtúbulos A y B, mientras que el C es más corto. En el interior del extremo proximal de los cen-

triolos jóvenes existen estructuras proteicas a modo de rueda de carro que permiten la consistencia y organización espacial de los 9 tripletes de microtúbulos (Figura 16).

En los centrosomas hay dos centriolos, uno maduro y otro inmaduro. El centriolo maduro posee unas estructuras proteicas denominados apéndices distales y subdistales. Los apéndices distales están relacionados con la asociación a la membrana plasmática cuando los centriolos maduros migran a sus proximidades para generar los cuerpos basales que formarán los cilios. Los apéndices subdistales se encargan de anclar microtúbulos. Los cuerpos basales también poseen apéndices en su extremo distal denominados pies basales y fibras conectoras o de transición, homólogas a los cuerpos distales y subdistales de los centriolos, y en su extremo basal muestran las raíces ciliares estriadas. Los apéndices ayudan al anclaje del cuerpo basal en la membrana plasmática, mientras que las raíces estriadas localizan al cilio respecto a la estructura celular.

#### Formación

Dentro de un mismo organismo puede haber células con distinto número de centriolos y de cuerpos basales. Mientras que la mayoría de las células animales tienen una pareja de centriolos formando parte del centrosoma y otro como parte de un cilio, las células ciliadas de la tráquea pueden tener cientos de cuerpos basales, porque tienen cientos de cilios. Otros, como las gimnospermas, han perdido la capacidad de sintetizar ambos. Incluso en algunas especies, en el mismo organismo hay células con centriolos y otras sin ellos. Por ejemplo, los ovocitos de los mamíferos y las células musculares esqueléticas carecen de centriolos.

Para la mayoría de las células animales tener un número adecuado de centriolos en el citosol es crucial durante la división celular. Si hay sólo una pareja se producen husos mitóticos monopolares y la división celular se detiene, y si hay más de dos parejas de centriolos se forman husos mitóticos multipolares con el consiguiente reparto desigual del material genético, lo que puede provocar la muerte o funcionamiento celular anormal. Antes de la división celular se tienen que deshacer todos los cuerpos basales que forman

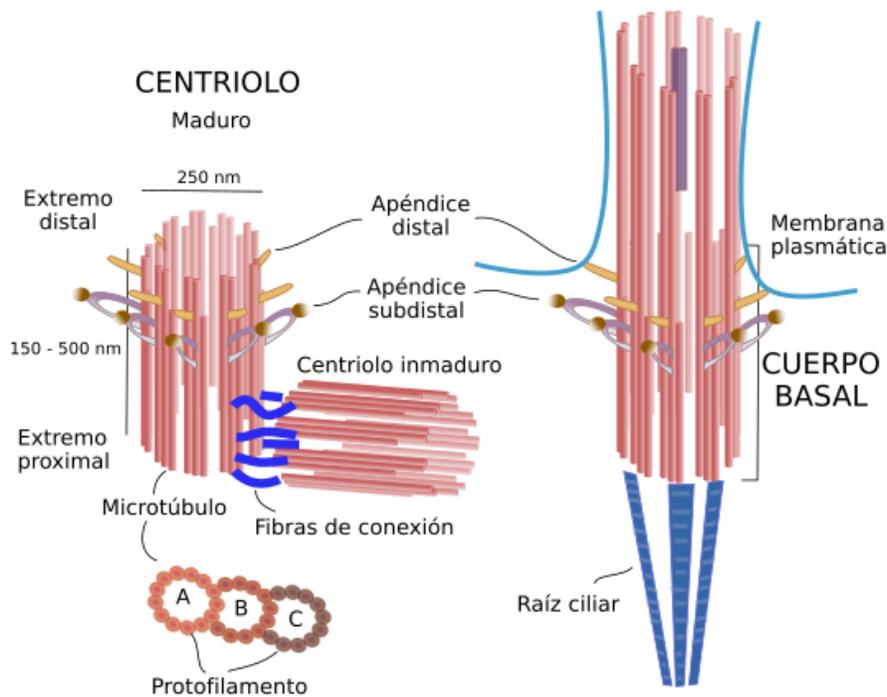


Figura 16: Estructura molecular de centriolos y cuerpos basales.

los cilios y flagelos. Cada uno de los dos centriolos se usará como plataforma para crear uno nuevo. Habrá dos parejas que formarán los dos polos del huso, y cuando se reparta el citoplasma durante la citocinesis cada célula hija recibirá una pareja de centriolos. En la fase G1 y S, entre los dos centriolos del centrosoma existen unas proteínas de conexión que mantienen a ambos centriolos unidos por sus extremos proximales. Tras la formación de los dos nuevos centriolos, estas fibras tienen que romperse en fase G2 para que cada pareja pueda viajar de manera independiente.

Existen dos formas de producir centriolos y cuerpos basales. La forma más común es a partir de un centriolo/cuerpo basal preexistente que hace de plataforma para la formación de uno nuevo. Por ejemplo, el espermatozoide suele aportar el primer centriolo del futuro animal. Otra manera es producir centriolos/cuerpos basales de nuevo, sin la participación de otro previo. Esto ocurre en aquellas células carecen de ellos o en aquellas que necesitan producir muchos cuerpos basales en poco tiempo. Por ejemplo, los embriones de ratones se desarrollan hasta el estado de

64 células sin poseerlos. Del mismo modo, las células epiteliales multiciliadas necesitan crear muchos cuerpos basales para generar cilios de forma rápida. En estos dos casos, los centriolos/cuerpos basales se forman a partir de agregados de material de naturaleza desconocida denominados deuterosomas.

En los centrosomas la formación de un nuevo centriolo, o procentriolo, ocurre en el extremo proximal (extremos menos de los microtúbulos) de otro centriolo preexistente. Lo primero que se aprecia es la formación de una estructura proteica en forma de rueda de carro (Figura 17). Esta rueda de carro de 9 radios es dependiente de la proteína Plk4, SAS-6 y STIL, entre otras. En esta estructura se forma el microtúbululo A, el cual crece desde un anillo de  $\gamma$ -tubulina. Mientras que los túbulos B y C utilizan al microtúbululo A como plantilla para polimerizar y necesitan la presencia de tubulina  $\epsilon$  y  $\delta$ . Por ejemplo, si falta la tubulina  $\delta$  no se forma el microtúbululo C del triplete. La rueda de carro desaparece durante la fase G1, una vez que los centriolos han madurado. No se sabe cómo se establece la longitud de los centriolos pero sí que sólo el

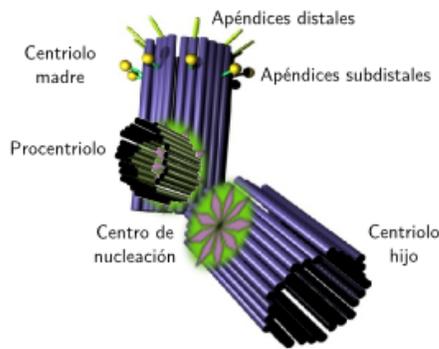


Figura 17: Estructura molecular de centriolos y cuerpos basales.

procentriolo o centriolo inmaduro es capaz de aumentar su longitud. La elongación de los centriolos no maduros ocurre durante la fase G2. Éstos alcanzan la madurez una vez que adquieren los apéndices distales y subdistales y alcanzan la longitud apropiada.

Una vez formados, los centriolos/cuerpos basales son estructuras muy estables. Esto es porque sus microtúbulos no intercambian dímeros de tubulina con el citoplasma, puesto que los dímeros están acetilados o poliglutamilados, además de tener otras modificaciones. Existen también conexiones proteicas entre los tripletes de microtúbulos que estabilizan la estructura. En el caso de los cuerpos basales, los microtúbulos A y B de cada triplete seguirán creciendo para formar el axonema. Este crecimiento se produce gracias al transporte intraflagelar de moléculas entre los extremos distales y proximales del cilio o flagelo.

## Función

### Centrosomas

Los centrosomas son los principales responsables de la nucleación de microtúbulos citosólicos en las células animales. Un centrosoma está formado por una pareja de centriolos y por una nube de moléculas alrededor llamada material pericentriolar. Los centriolos parecen ser los responsables de formar los centrosomas, puesto que reclutan las moléculas que forman el material pericentriolar. Los anillos de  $\gamma$ -tubulina que hay en la matriz pericentriolar son los verdaderos nucleadores de microtúbulos. Tanto centriolos como el material pericentriolar juegan un papel crucial durante la

división celular de las células animales, puesto que son los encargados de formar el huso mitótico. En algunas células diferenciadas, sin embargo, el centrosoma no es el principal centro nucleador de microtúbulos, como es el caso de las células epiteliales, musculares y neuronas. Además, los centrosomas, como tales, no están presentes en la mayoría de las células vegetales y levaduras. En las células vegetales el huso mitótico se forma en ausencia de centriolos.

### Ciliogénesis

Los cilios se forman a partir de los cuerpos basales por elongación mediante polimerización de los microtúbulos A y B de cada uno de los tripletes. Cuando una célula termina la división celular, el centriolo más viejo suele migrar a la membrana plasmática y se convierte en cuerpo basal para formar un cilio. En las células ciliadas de la tráquea, oviducto o epéndimo, donde puede haber cientos de cilios en sus superficies libres, los cuerpos basales se forman de nuevo de manera independiente y migran hacia la superficie celular para formar dichos cilios. La actina y los microtúbulos son importantes para el atraque de los cuerpos basales en la membrana celular. La presencia de cilios es incompatible con la división celular, de modo que cuando una célula se va a dividir el cilio desaparece. Esto podría ser para que los cuerpos basales no interfieran con los centriolos en la formación del huso mitótico.

### Asimetría celular

Las divisiones asimétricas son aquellas en las que hay un reparto desigual de componentes entre las dos células hijas. Aunque los centriolos no parecen imprescindibles para la división celular, parecen ser necesarios para las divisiones asimétricas puesto que contribuirían a una orientación adecuada del huso mitótico. Otra forma de crear asimetría parece depender de qué célula se lleve el centriolo más viejo. Éste parece rodearse de moléculas que son ligeramente diferentes a las que rodean al centriolo más joven, lo sirve para segregar en las células hijas diferentes moléculas asociadas a la matriz pericentriolar de uno u otro centriolo, como ARN mensajero o factores de transcripción. Se ha comprobado que la célula que capta el centrosoma con el centriolo más viejo desarrolla primero el cilio y responde antes a señales del

medio, pudiendo generar un comportamiento celular diferente.

### ***Organización celular***

La localización de los centriolos en el citosol, formando parte de los centrosomas, es importante para mantener la organización de muchas células, o para permitir su desplazamiento puesto que ayudan a crear una diferenciación entre el frente de avance y la parte trasera de la célula. Por ejemplo, en los astrocitos el aparato de Golgi se orienta hacia el frente de avance gracias a la acción del centrosoma, mientras que en los fibroblastos el núcleo se localiza en la parte más caudal, también gracias al centrosoma.

La posición de los centriolos, y por ello del centrosoma, en una zona determinada de la célula animal parece depender de la interacción entre microtúbulos y filamentos de actina. Normalmente, la posición del centrosoma se debe a la interacción de los microtúbulos generados desde él mismo con la corteza de actina de las proximidades de la membrana plasmática. Sin embargo, cuando el centrosoma se encuentra próximo al núcleo es debido a la interacción con proteínas de la envuelta nuclear que anclan al centrosoma en esa posición. En algunos eucariotas esta relación centrosoma envuelta nuclear está mediada por fibras proteicas relacionadas con los centriolos denominadas fibras estriadas, que unen ambas estructuras celulares.

### ***Inicio del desarrollo***

La fecundación supone la fusión de dos células de las cuales sólo el espermatozoide tiene centriolo, resul-

sultante del cuerpo basal del flagelo. Este centriolo será el encargado primero de reclutar material pericentriolar que se encuentra en el óvulo. El centrosoma recién formado se encargará ya de nuclear y organizar el sistema de microtúbulos necesario para la migración y fusión de los dos pronúcleos, que son los núcleos haploides de los dos gametos, y posteriormente se dividirá y generará el huso mitótico que llevará a cabo la primera división celular. En algunas especies el espermatozoide puede aportar dos centriolos y, curiosamente, en otras como en el ratón, no se han encontrado centriolos en los cigotos, ni en las células somáticas de los primeros estadios del desarrollo embrionario temprano.

### ***Bibliografía***

- Bornens M. 2012. The centrosome in cells and organisms. *Science*. 335: 422-426.
- Gönczy P. 2012. Towards a molecular architecture of centriole assembly. *Nature review of molecular and cell biology*. 13: 425-535.
- Carvalho-Santos Z, Azimzadeh J, Pereira-Leal JB, and Bettencourt-Dias M. 2013. Evolution: Tracing the origins of centrioles, cilia, and flagella. *Journal of cell biology*. 194: 165-175.
- Avidor-Reiss T, Khire A Fishman EL, Kyoung JH. 2015. Atypical centrioles during sexual reproduction. *Frontiers in cell and developmental biology*. 3:21.
- Winey M, O'Toole E. 2015. Centriole structure. *Philosophical transactions of the Royal Society of London B biological sciences*. 369:1650.

## 4 Cilios y flagelos

Los microtúbulos, elementos del citoesqueleto, tienen una función esencial en la fisiología celular. El entramado de microtúbulos que se extiende en el citosol es muy maleable gracias a su capacidad de polimerización y despolimerización, fundamentalmente en su extremo más. Sin embargo, no todos los microtúbulos de la célula están sometidos a esta "inestabilidad dinámica". Existen estructuras celulares en las células animales, en los gametos de algunas especies vegetales y en organismos unicelulares que poseen haces de microtúbulos altamente organizados y muy estables en cuanto a su disposición y longitud: los centriolos, los cilios y los flagelos. En esta sección vamos a estudiar a los cilios y a los flagelos.

### 1. Cilios

Los cilios son expansiones celulares filiformes, de unos  $0,25 \mu\text{m}$  de diámetro y unos 10 a  $15 \mu\text{m}$  de longitud, que aparecen en las células animales y en algunos protozoos. Suelen disponerse densamente empaquetados, a modo de césped, en las superficies libres de numerosas células (Figuras 18 y 19), como las que forman los epitelios de los tractos respiratorios, de los conductos del aparato reproductor femenino de mamíferos o de las branquias de los peces y bivalvos. También aparecen en numerosos protozoos. Son estructuras que pueden moverse y su principal misión es la de desplazar fluidos, como ocurre con el mucus del tracto respiratorio, pero también empujan al óvulo a lo largo de las trompas de Falopio hasta el útero o mueven el agua alrededor de las branquias. Los organismos unicelulares los usan para moverse ellos mismos o para arremolinar el líquido que les rodea y así atraer alimento. Una función del movimiento ciliar descubierta recientemente está implicada con el establecimiento de la lateralidad de determinadas estructuras de los vertebrados durante el desarrollo embrionario. El tipo de movimiento que realizan es de bateo, a modo de látigo, y de manera sincronizada, produciendo una especie de ola que desplaza el fluido en una dirección paralela a la superficie de la célula.

Se han observado numerosos cilios, denominados cilios primarios, que no funcionan como estructuras móviles. Prácticamente todos los tejidos animales es-

tudiados, excepto las células sanguíneas, poseen cilios primarios: células de los oviductos, neuronas, cartílago, ectodermo de las extremidades en desarrollo, células mesenquimáticas, ventrículos cerebrales, células epiteliales de los conductos urinarios, conductos pancreáticos, células hepáticas, e incluso células en cultivo. La mayoría de estos cilios no son móviles y se pensó que no eran funcionales. Sin embargo, se observó que la membrana ciliar tenía numerosos receptores y canales iónicos, por lo que se le asignó un papel sensorial. Por ejemplo, los receptores olfativos se encuentran en cilios dendríticos y los segmentos externos de los conos y bastones de la retina son en realidad cilios modificados. Algunos de los receptores están más densamente empaquetados en sus membranas que en el resto de la membrana plasmática de la célula. Además, existen numerosas moléculas en el interior del cilio primario que transducen estas señales. La mayor relación superficie/volumen hace que las respuestas intraciliares sean muy intensas frente a señales externas relativamente débiles. Además de sustancias químicas también pueden detectar movimientos de fluidos circundantes, actuando como mecanorreceptores.

### 2. Flagelos

Los flagelos son similares a los cilios pero mucho más largos, con unas  $150 \mu\text{m}$  de longitud, y un poco más gruesos. Su principal misión es desplazar a la célula. Son mucho menos numerosos que los cilios en las células que los poseen. Su movimiento también es diferente puesto que no desplazan el líquido en una dirección paralela a la superficie de la célula sino en una dirección paralela al propio eje longitudinal del flagelo. Los flagelos son frecuentes en células móviles como ciertos organismos unicelulares y gametos masculinos.

### 3. Estructura

Los cilios y flagelos son estructuras complejas con más de 250 proteínas diferentes. Ambos contienen una estructura central de microtúbulos y otras proteínas asociadas, denominadas conjuntamente como axonema, rodeado todo ello por membrana celular (Figura 20). En su interior, además del axonema, se encuentran una gran cantidad de moléculas solubles que participan en cascadas de

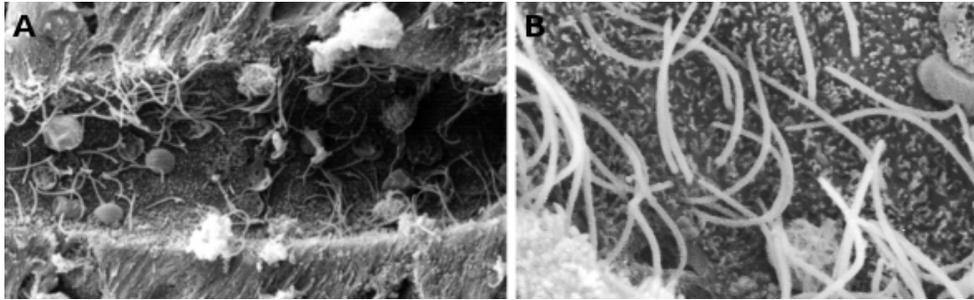


Figura 18: Imágenes obtenidas con un microscopio electrónico de barrido. Muestran el interior del canal central de una médula espinal de lamprea. Se pueden observar numerosos cilios (con más detalle en B) y pequeñas microvellosidades en los dominios apicales de las células que forman las paredes de dicho canal.

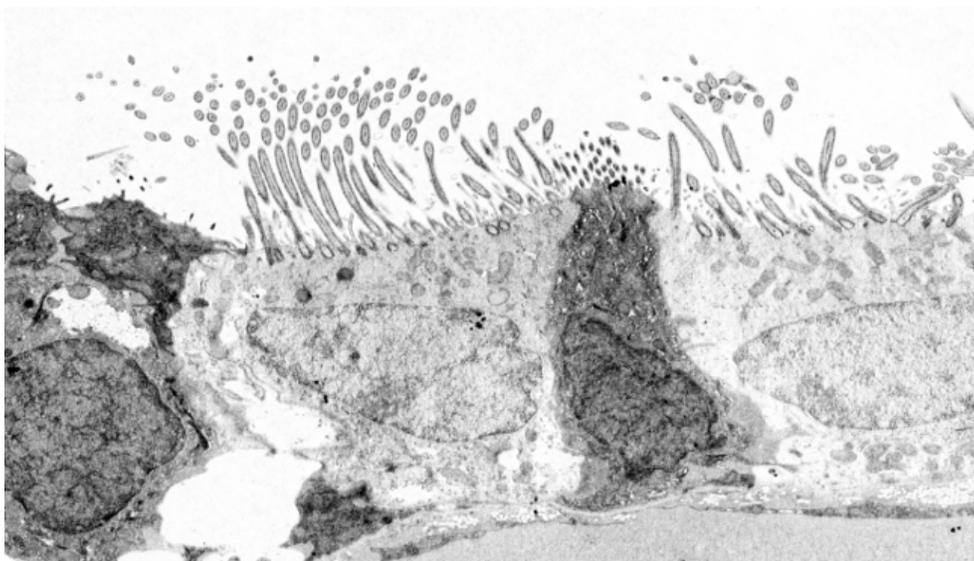


Figura 19: Imagen obtenidas con un microscopio electrónico de transmisión de la superficie de un epitelio. Se observan las células más claras muestran cilios en su superficie libre.

señalización y que forman la denominada matriz. Un axonema consta de 9 pares de microtúbulos exteriores que rodean a un par central. A esta disposición se la conoce como  $9 \times 2 + 2$ . El par central de microtúbulos contiene los 13 protofilamentos típicos, pero las parejas externas comparten protofilamentos. Los cilios primarios carecen de par central. A uno de los microtúbulos de cada par periférico se le denomina túbulo A y al otro túbulo B. El A es un microtúbulo completo mientras que el B contiene sólo 10 u 11 protofilamentos propios y 2 o 3 compartidos con el A.

Esta disposición se mantiene gracias a un entramado de conexiones proteicas internas. Al menos

doce proteínas diferentes se han encontrado formando parte del axonema, las cuales están implicadas fundamentalmente en mantener la organización de los microtúbulos. Las parejas de microtúbulos externos están conectadas entre sí mediante una proteína denominada nexina. Los túbulo A de cada pareja están conectados por radios proteicos a un anillo central que encierra al par central de microtúbulos. En los microtúbulos externos aparece una proteína motora asociada llamada dineína que está implicada en el movimiento de cilios y flagelos.

Los microtúbulos se originan por polimerización a partir de una estructura localizada en el citoplasma celular periférico denominada cuerpo basal (Figuras

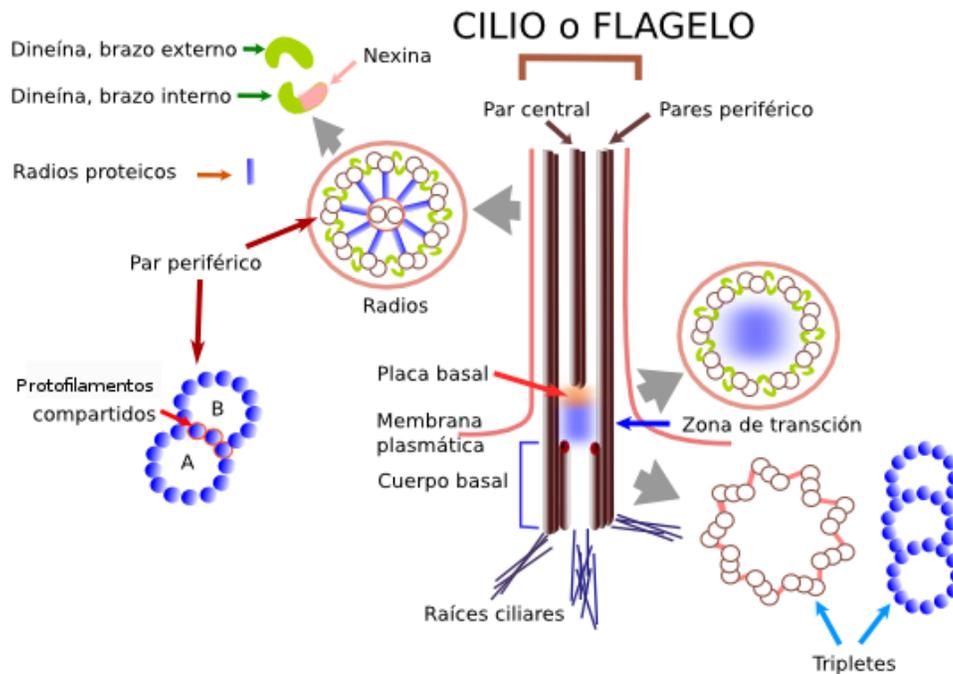


Figura 20: Esquema donde se indican los principales componentes de la estructura de un cilio o un flagelo. En los cilios primarios el par central de microtúbulos está ausente.

20 y 21). La estructura del cuerpo basal es similar a la de los centriolos, es decir, 9 tripletes de microtúbulos que se disponen formando una estructura cilíndrica. Carece del par central ( $9 \times 3 + 0$ ). En cada triplete sólo uno de los microtúbulos contiene una forma completa y los otros dos comparten protofilamentos. Entre el cuerpo basal y el axonema del cilio existe una zona de transición que posee sólo los 9 dobletes típicos del cilio pero no el par central. éste se formará a partir de una estructura llamada placa basal, localizada entre la zona de transición y el doblete interno. Los microtúbulos tienen sus extremos más localizados en la punta distal de los cilios y flagelos. La parte del cuerpo basal más próxima al interior celular se ancla al citoesqueleto mediante estructuras proteicas denominadas radios ciliares

Además del axonema y sus proteínas asociadas se pueden encontrar otros tres compartimentos en los cilios, sobre todo en los cilios primarios. La membrana ciliar que, en los cilios primarios, contiene numerosos receptores y canales, consistente con la función sensorial. Otro compartimento es la matriz, la fase fluida

que ocupa el interior ciliar. La matriz, además de ayudar a mantener la estructura del flagelo, también tiene proteínas que transducen la señales generadas en la membrana. Otros dos compartimentos son la base y la parte más distal del cilio. En la base se encuentra el cuerpo basal y complejos proteicos desde los que parten y nuclean los microtúbulos del axonema. En la parte distal se encuentra un entramado proteico complejo donde aparecen proteínas asociadas a los microtúbulos que estabilizan los extremos más.

#### 4. ¿Cómo se produce el movimiento?

Cuando los cilios o flagelos se separan artificialmente de las células continúan moviéndose hasta que se les acaban las reservas de ATP. Esto implica que tienen movilidad intrínseca (Figura 22). El movimiento se produce por deslizamientos de unos pares de microtúbulos sobre otros. Las proteínas nexinas y los radios proteicos son los que impiden que el flagelo se desorganice. El movimiento de los microtúbulos está producido por la dineína, un motor molecular, puesto que es donde se produce la hidrólisis de ATP y si se elimina, el movimiento cesa, aún en

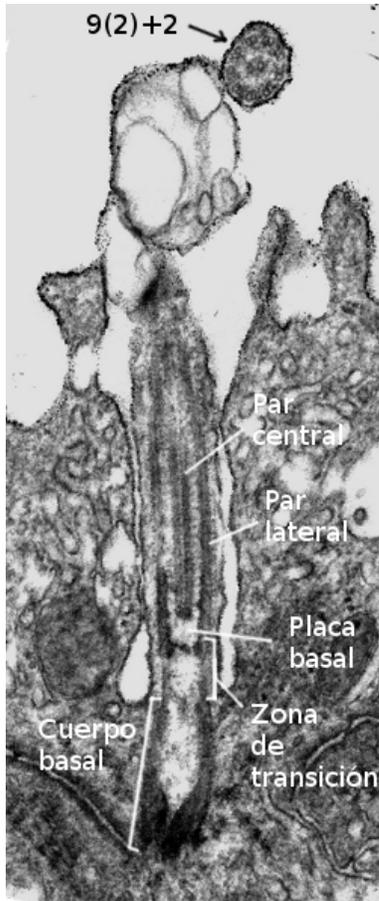


Figura 21: Ultraestructura de un flagelo. Imagen de un endocitocito del canal central de la médula espinal. Par se refiere a pares de microtúbulos y  $9(2)+2$  significa que el axonema está formado por 9 pares laterales y un par central de microtúbulos.

presencia de ATP. La dineína se ancla con su zona globular al microtúbulo B de una pareja externa y con la zona motora al microtúbulo A del par vecino. El proceso es similar al que se utiliza para el transporte de orgánulos en el citoplasma celular pero en este caso la carga que transporta es otro microtúbulo. Cuando la dineína se activa produce un desplazamiento de un par respecto al otro. Para permitir un movimiento eficiente se necesita una coordinación entre las dineínas de los dobletes externos de microtúbulos. El control del movimiento parece depender de las concentraciones de calcio y permite a la célula variar el movimiento de estas estructuras. Una cuestión interesante es que no todas las dineínas se pueden activar a la vez sino de manera sincrónica.

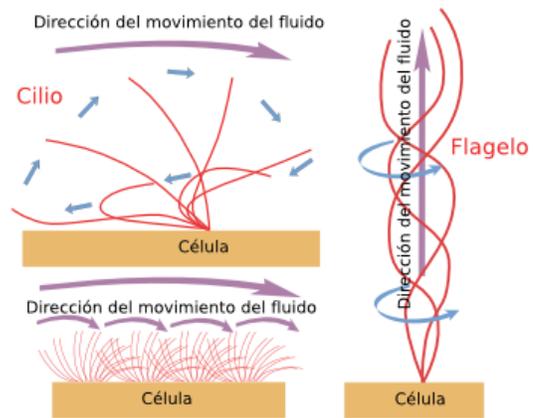


Figura 22: Esquema que ilustra los modelos de movimiento propuestos para los cilios y los flagelos. En cada caso el flujo neto del fluido es diferente.

### 5. Formación de cilios y flagelos. Cuerpos basales.

Los cilios y flagelos que tendrá una célula se produce durante la diferenciación celular y por tanto se tienen que formar de nuevo. Los microtúbulos se forman a partir de los microtúbulos que forman el cuerpo basal. Pero entonces, ¿quién forma los cuerpos basales? Inicialmente, uno de los centriolos del centrosoma migra hacia la membrana plasmática, contacta con ella y se inicia la polimerización de los túbulo A y B del axonema. Al final del proceso el centriolo se transforma en cuerpo basal. ¿Cómo aporta la célula suficiente cantidad de centriolos? Existen al menos tres formas de producir centriolos: a) por división de los centriolos gracias a un proceso por el que se forman nuevos centriolos a partir de la pared de centriolos preexistentes; b) por la presencia de deuteriosomas, que son estructuras proteicas a partir de las cuales los centriolos pueden formarse independientemente de otros centriolos, lo cual es importante cuando la célula tiene que crear una gran cantidad de cilios; c) las plantas, que carecen de centriolos, realizan un proceso similar al anterior pero con otro tipo de agregados propios de los vegetales.

Hay numerosas enfermedades humanas con base en el cilio denominadas ciliopatías. Incluyen aleatoriedad de la lateralidad, anomalías en el cierre y estructuración del tubo neural, polidactilia, riñón cístico, enfermedades hepáticas y pancreáticas, degen-

eración retiniana, efectos cognitivos y obesidad.

#### Bibliografía

Marshall WF, Nonaka S . Cilia: tuning in to the cell's antenna. *Current biology*. 2006. 16:R604-R614.

Satir P, Christensen ST. Overview of structure and function of mammalian cilia. *Annual review of physiology*. 2007. 69:377-400.

## 5 Microvellosidades

Las microvellosidades son prolongaciones celulares delgadas localizadas en las membranas plasmáticas de las células diferenciadas, normalmente en las células con superficies libres como las epiteliales (Figuras 23 y 24). Son estructuras con forma filiforme, miden de 1 a 2  $\mu\text{m}$  de altura y unos 100 nm de grosor, e internamente tienen varias decenas de filamentos de actina dispuestos paralelos al eje mayor de la microvellosidad. Las microvellosidades están generalmente muy empaquetadas creando lo que se denomina un ribete en cepillo. En una vista superficial de este ribete se puede observar que las microvellosidades se organizan espacialmente formando de exágonos.

Hay multitud de células que contienen microvellosidades entre las que destacan las epiteliales como los enterocitos del digestivo, el epitelio de los tubos conorneados del riñón o el epitelio del epidídimo, pero también aparecen microvellosidades en células sensoriales especializadas como las del epitelio olfativo o las del órgano de Corti, y también hay microvellosidades en las células en movimiento y en las células de la placenta. Cada una de estos tipos de expansiones filiformes, aunque todas se denominen microvellosidades tienen en realidad funciones diferentes, y también se diferencian en la estructura y composición química. A continuación vamos a describir la estructura de las microvellosidades que aparecen muy empaquetadas en las células epiteliales del digestivo.

### 1. Formación

Las microvellosidades se forman cuando se asocian filamentos de actina a una placa densa que se localiza en la superficie interna de la membrana plasmática. Para la formación de la microvellosidad se necesitan además proteínas que agrupen los filamentos de actina en un haz y los estabilicen. Estas proteínas parecen actuar secuencialmente. Primero parece intervenir la vilina, que favorece la formación de haces de filamentos de actina. Además la vilina impide la nucleación de más actina en el extremo más y podría contribuir a controlar la longitud de la microvellosidad. La ezrina es más escasa en las microvellosidades pero ayudaría a la conexión del haz de filamentos de actina a la membrana plasmática. Hay una segunda

fase de la formación de las microvellosidades en las que se produce la elongación, además de organizarse en exágonos. Esta fase parece mediada por la fimbrina y en menor medida la espina. Durante esta fase también se establecen conexiones laterales entre microvellosidades que están mediadas por protocadherinas. Durante todo este proceso se necesita una actividad exocítica que aporta las membranas y otras proteínas de superficie para la evaginación de la membrana plasmática provocada por la polimerización de los filamentos de actina. Esta evaginación es lo que definitivamente creará la microvellosidad.

### 2. Estructura

Las microvellosidades están formadas principalmente por 6 proteínas: actina, fimbrina, vilina, miosina (Myo1A), calmodulina y espectrina (no eritrocítica)(Figura 25). Su estructura se mantiene gracias a un entramado de unos 30 a 40 filamentos de actina internos dispuestos en haces paralelos al eje longitudinal y orientados con su extremo más (extremo de crecimiento) hacia la zona distal de la microvellosidad. Estos filamentos están unidos entre sí por la fimbrina y la vilina, y mediante la Myo1A y la calmodulina se unen lateralmente a la membrana celular. El esqueleto de actina de cada microvellosidad continúa basalmente hacia el citoplasma donde se entrelaza con otros microfilamentos de otras microvellosidades formando una red con patrón exagonal. Esta red se denomina red terminal y se extiende por la zona cortical apical citoplasmática. La red terminal está formada en gran medida por espectrina no eritrocítica.

A pesar de que las microvellosidades individuales son estables e inmóviles, su citoesqueleto sufre una continua renovación, adición y eliminación, de proteínas de actina en sus filamentos, así como de los otros elementos del armazón proteico, estableciéndose una especie de equilibrio. Se estima que el citoesqueleto de una microvellosidad se renueva completamente cada 20 minutos. Un aumento anormal de la concentración de calcio, como en situaciones de estrés, provocan que la vilina pase de proteína estabilizadora a proteína que corta los filamentos de actina y por tanto la desaparición de la microvellosidad. Del mismo modo, las microvellosidades desa-

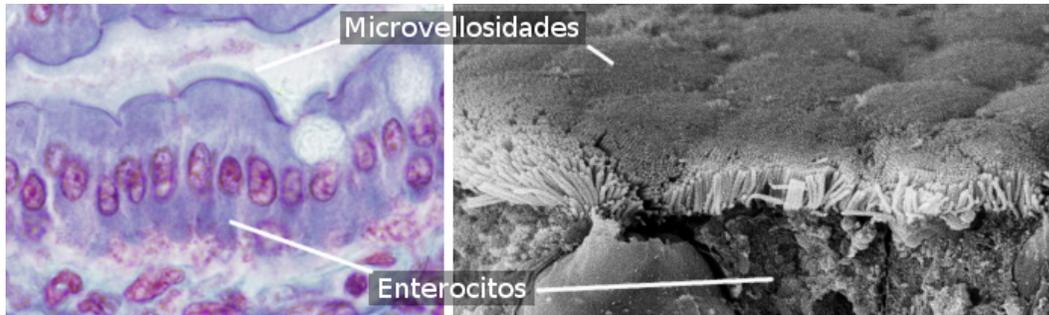


Figura 23: Imagen del epitelio del intestino delgado de rata tomada con un microscopio óptico (izquierda) y con un microscopio electrónico de barrido (derecha) donde se muestra el recubrimiento de microvellosidades que poseen los enterocitos en sus superficies libres.

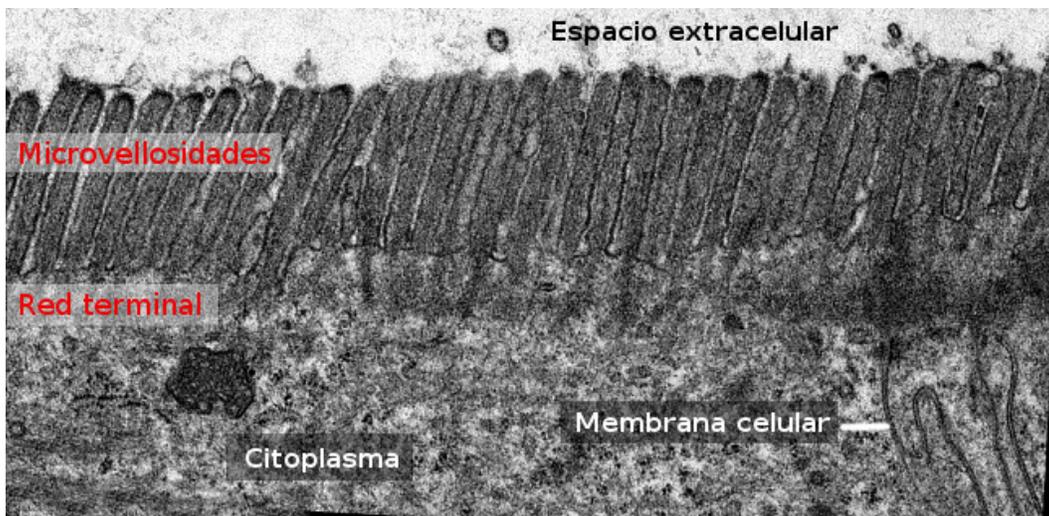


Figura 24: Imagen de microscopía electrónica de transmisión de la superficie del epitelio digestivo. La red terminal de filamentos de actina aparece como una zona oscura en la parte basal de las microvellosidades.

parecen en las células que van a dividirse. La red terminal es también muy plástica y moldeable.

### 3. Función

El intercambio de sustancias entre los tejidos y el medio extracelular es la principal misión de algunos epitelios, tales como el epitelio digestivo y el que conforma los túbulos contorneados proximales de las nefronas de los riñones. Este intercambio se realiza en las membranas celulares de la superficie libre apical de las células epiteliales, donde se encuentran proteínas transportadoras, bombas de iones y donde se realizan procesos de endocitosis. Cuanto mayor sea dicha superficie mayor será el espacio para incorporar más maquinaria que realice estas tareas de transporte. Las microvellosidades son estructuras filiformes que per-

miten el aumento de la superficie de la membrana plasmática y por tanto el contenido de moléculas como receptores, transportadores, canales, etcétera. Esto es especialmente importante en células absortivas o secretoras de los epitelios. Pueden incrementar la superficie de membrana unas 100 veces respecto a una superficie plana. En las células del digestivo las membranas de las microvellosidades tienen una gran cantidad de enzimas que les confiere una alta capacidad digestiva.

Las microvellosidades también regulan la transducción de señales. Posee en sus membranas moléculas segregadas del resto de la membrana plasmática, tales como transportadores de glucosa, canales iónicos o receptores. La longitud de las mi-

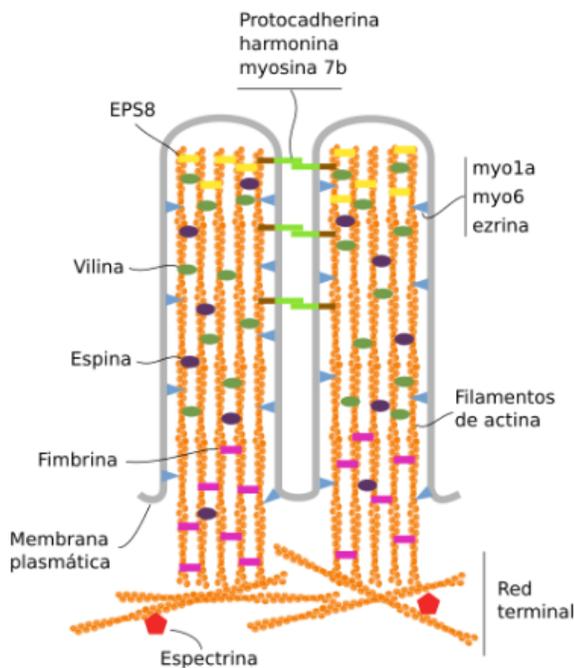


Figura 25: Organización molecular de las microvellosidades. Tan importantes son aquellas moléculas que estabilizan el haz de filamentos de actina, como las que unen dicho haz a la membrana y las que establecen conexiones entre microvellosidades próximas. (Modificado de Crawley et al., 2014)

crovellosidades es la justa para aislar el interior de la microvellosidad del resto del citoplasma y por tanto hacer una interpretación de la información relativamente independiente del resto de la célula. Además, el entramado de actina y miosina que forman el citoesqueleto de las microvellosidades crea un filtro a la difusión de moléculas, lo que permite una regulación de las señales moleculares que van desde el interior de la microvellosidad al citoplasma y viceversa. Este entramado también funciona como almacén temporal de calcio.

El denso empaquetamiento de las microvellosidades les permite también actuar como una barrera física de protección frente a parásitos, por ejemplo en el epitelio digestivo. Pero además, la gran cantidad de membrana que poseen las microvellosidades les permite ser un reservorio frente a choques hipertónicos, y así se puede evitar la rotura celular.

Algunas microvellosidades especializadas denomi-

nadas estereocilios realizan funciones sensoriales. A pesar de su nombre los estereocilios son microvellosidades modificadas y convertidas en estructuras sensoriales, por ello también se llaman estereovellosidades. Aparecen en células del epidídimo y en las células sensoriales del oído interno. Estos cilios modificados son mecanorreceptores que captan movimientos de fluido. Los del oído interno de mamíferos miden de 10 a 50  $\mu\text{m}$  de longitud, con más de 3000 microfilamentos de actina en su interior, y se localizan en el órgano de Corti. Transforman las ondas sonoras en señales eléctricas que viajan por el nervio auditivo. El pequeño volumen de la microvellosidad crea un lugar cerrado donde las señales y cascadas de señalización se pueden dar más eficientemente, luego pueden funcionar a modo de antenas. Existen también microvellosidades especializadas en la recepción de señales luminosas. Los fotorreceptores, células sensibles a la luz, pueden derivar su membrana fotosensible a partir de un cilio o de una microvellosidad. Los fotorreceptores que se basan en microvellosidades son más comunes en invertebrados y forman unas estructuras denominadas radómeros, estructuras donde se agrupan dichas microvellosidades, los cuales contienen pigmentos fotosensibles a baja luz y más eficientes bajo condiciones de alta intensidad de luz. La organización en el radómero, así como la cadena molecular de fototransducción, hacen que sean más sensibles que los fotorreceptores basados en cilios.

A las microvellosidades también se les atribuyen otras funciones como por ejemplo la generación de vesículas extracelulares. Se ha comprobado que la superficie de las microvellosidades de los enterocitos son capaces de liberar pequeñas vesículas. Esto ocurre por la conexión que tiene la membrana plasmática con el entramado de actina y miosina de su citoesqueleto. Es el propio citoesqueleto el que arrastra porciones de membrana hasta la parte apical de la microvellosidad y termina por separarlas y convertirlas en vesículas. Estas vesículas tienen enzimas en sus membranas y están enriquecidas en fosfatasa alcalina.

### Bibliografía

Brown J W, McKnight C J. (2010). Molecular model of the microvillar cytoskeleton and organization of the brush border. PLoS One. 5: e940.

Crawley SW, Mooseker MS, Tyska MJ. 2014. Shaping the intestinal brush border. *J Cell Biol.* 207: 441-451.

Fain G L, Hardie R, Laughlin S B. (2010) Phototransduction and the evolution of photoreceptors. *Curr Biol.* 20: R114-R124.

Lange K. 2011. Fundamental role of microvilli in the main functions of differentiated cells: Outline of an universal regulating and signaling system at the cell periphery. *J Cell Physiol.* 226: 896-92.

McConnell R E, Higginbotham J N, Shifrin Jr D A, Tabb D L, Coffey R J, Tyska M J. (2009). The enterocyte microvillus is a vesicle-generating organelle. *J Cell Biol.* 185: 1285-129

Sauvanet C, Wayt J, Pelaseyed T, Bretscher A. 2015. Structure, regulation, and functional diversity of microvilli on the apical domain of epithelial cells. *Annual review of cell and development biology.* 31: 593-621.

## 6 Ciclo del centrosoma

Los centrosomas son centros organizadores de microtúbulos que están presentes en las células animales, tanto en interfase como durante la mitosis. Están formados por dos componentes: una pareja de centriolos y el material pericentriolar. Además, la actividad del centrosoma parece ser necesaria para la consecución del ciclo celular. Este papel está mediado por las proteínas, se estiman en más de 100 diferentes, que se encuentran formando parte del material pericentriolar, bien permanentemente o bien de forma pasajera. Los cambios en la actividad del centrosoma y su papel en las diferentes etapas del ciclo celular depende de la composición del material pericentriolar, la cual es distinta según la fase del ciclo celular en que se encuentre.

Durante la fase G1 del ciclo celular, o en fase G0, cada célula posee un solo centrosoma. Sin embargo, cuando una célula pasa el punto de control G1/S y comienza la fase S, además de iniciarse la replicación del ADN, se produce la replicación del centrosoma.

**1. ¿Para qué se duplica el centrosoma en la fase S?** Para formar el huso mitótico.

La división celular debe procurar que las cromátidas de cada cromosoma se repartan equitativamente entre las células hijas. De otra manera se podrían producir células con juegos anormales de cromosomas (aneuploidías) que desencadenaría la falta o el exceso de algunos cromosomas en las células hijas o la desregulación de ciertos genes, todo ello con consecuencias potencialmente peligrosas para un organismo, como por ejemplo la inviabilidad celular o la aparición de células tumorales. La segregación adecuada de las cromátidas depende de la formación y acción de un sistema de microtúbulos denominado huso mitótico, el cual debe estar correctamente formado, y que depende a su vez de la acción de los centrosomas. Durante la fase S la célula hace una réplica de su centrosoma y por tanto tenemos dos centrosomas en la célula. Durante la fase G2 se colocan en lugares separados dentro del citoplasma, y durante la fase M formarán el huso mitótico bipolar. Tras la citocinesis cada célula hija contiene un centrosoma. Así, igual que el ADN, el centrosoma debe duplicarse

una y sólo una vez en cada ciclo de división. .

**2. ¿Cómo se sincroniza la duplicación de los centriolos con la del ADN?** Por la acción fosforiladora de enzimas quinasas.

La duplicación y cambios que sufren los centrosomas están sincronizados con otros eventos que ocurren en la célula durante el ciclo celular (Figura 26). El paso de la fase G1 a la S del ciclo celular se debe a la actividad de quinasas (enzimas que añaden grupos fosfato) dependientes de ciclina. En el centrosoma se produce la primera activación de la Cdk1/ciclina B, que inicia la fase S. Además, la replicación del centrosoma comparte reguladores con la replicación del DNA. Por ejemplo, ambos son dependientes de Cdk2/ciclina E. La quinasa Plk4 parece ser crucial por su papel en la replicación de los centriolos. En el centrosoma y en el interior del núcleo existen moléculas (por ejemplo, la nucleofosmina en el centrosoma) que son fosforiladas por estas quinasas y que por tanto son activadas simultáneamente. Las proteínas fosforiladas provocan la duplicación del ADN en el núcleo y la de los centriolos, y por tanto del centrosoma, en el citoplasma. Hay otros posibles mecanismos como los pequeños aumentos de calcio que se produce antes de iniciarse la fase S y que podrían activar otras quinasas dependientes de calcio en el citoplasma y también en el núcleo.

**3. ¿Cómo se duplican los centrosomas?** Nucleación de nuevos centriolos sobre los centriolos preexistentes.

La duplicación del centrosoma depende de la duplicación de los centriolos (Figura 27). Todo centrosoma antes de entrar en la fase S contiene dos centriolos denominados madre e hijo, respectivamente. Ambos centriolos están conectados por proteínas que los mantienen unidos. La duplicación de los centriolos, tanto el centriolo madre como el centriolo hijo, comienza al principio de la fase S. Se crean los denominados procentriolos. La elongación de los procentriolos ocurre al final de la fase S. Es interesante hacer notar que a un centriolo recién formado le lleva un ciclo de división y medio convertirse en un centriolo madre con la adquisición de los apéndices distales y subdistales.

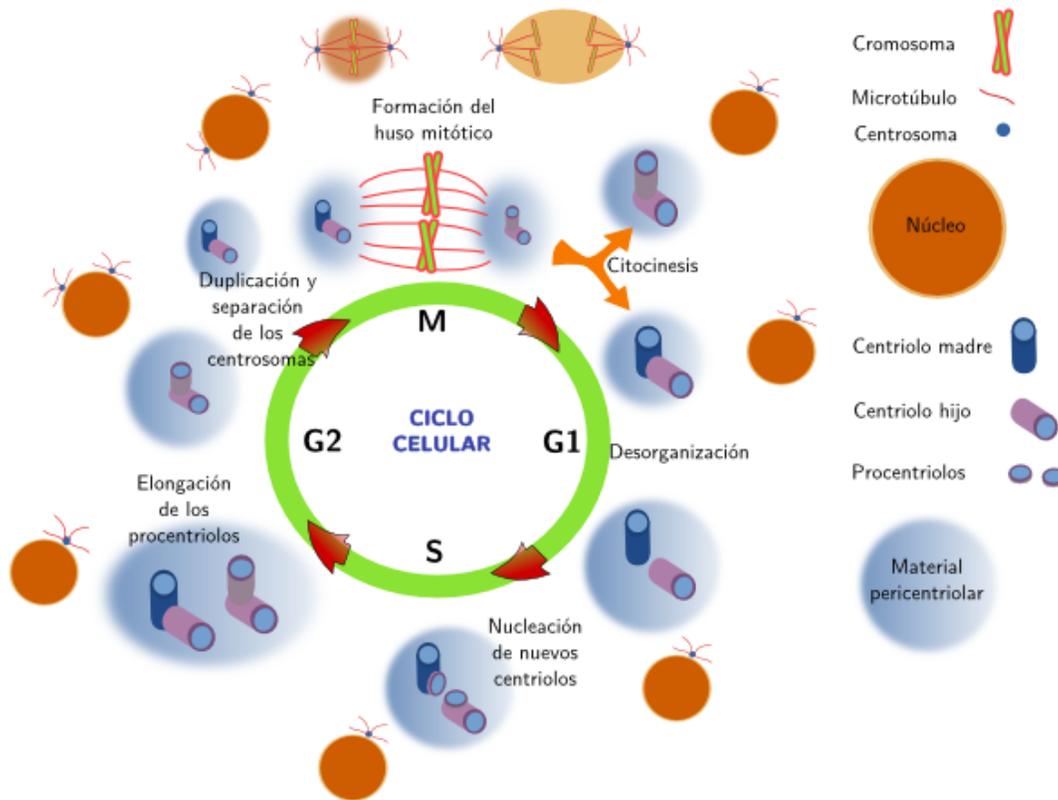


Figura 26: Esquema de los diferentes pasos por los que pasa el centrosoma durante el ciclo celular. Durante la fase G1 los centriolos del centrosoma pierden su disposición ortogonal. Al comienzo de la fase S se empiezan a nuclear nuevos centriolos, denominados procentriolos, a partir de los preexistentes. Al final de la fase S se inicia la elongación de los procentriolos. Durante la fase G2 hay un crecimiento del material pericentriolar (no indicado en el esquema). Al final de la fase G2 cada pareja de centriolos con una porción del material pericentriolar migra hacia lugares opuestos de la envuelta nuclear. Durante la fase M se organiza el huso mitótico y del reparto de las cromátidas de cada cromosoma. Al final de la fase M se produce la citocinesis y cada célula hija queda con un centrosoma, pudiendo empezar de nuevo el ciclo celular.

Durante la mitosis los centriolos están dispuestos ortogonalmente, pero esta disposición cambia tras la mitosis. La separación se produce ya en la mitosis tardía. Requiere la actividad de la Plk1 y otras proteínas. Entonces se establece otra unión entre ellos mediante proteínas como la "rootelin" y Nap1. Estas proteínas conectan las partes proximales de los centriolos y persistirá así hasta G2/M si la célula se va a volver a dividir (Figura 28). La "rootelin" también está presente en la parte proximal de los cuerpos basales.

Durante la fase G2 se produce una separación de los dos centriolos originales con sus respectivos procentriolos en formación (Figura 28). Los centriolos, con su

material pericentriolar asociado, se mueven gracias a la quinesina Eg5, una proteína motora asociada a los microtúbulos. Esto requiere la rotura de las fibras proteicas que conectaban ambos centriolos originales durante toda la fase G1 y S, liberándose cada centriolo con su procentriolo en formación. Esta separación de los centriolos originales más procentriolos conlleva que se reparta el material pericentriolar, apareciendo entonces dos centrosomas. En la transición entre fase G2 y M se requiere un cambio importante en los centrosomas que se denomina maduración del centrosoma. Antes de la mitosis, los centriolos empiezan a reclutar más material pericentriolar. En este proceso se altera la composición proteica del material

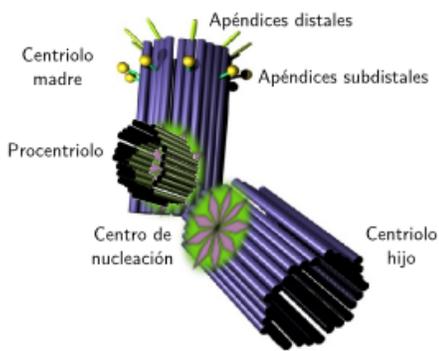


Figura 27: Los centriolos se duplican gracias a una serie de proteínas que se organizan en la zona proximal del centriolo madre y del hijo, respectivamente. Esto se produce al comienzo de la fase S del ciclo celular.

pericentriolar. Por ejemplo, aumenta el número de anillos de  $\gamma$ -tubulina, con lo que aumenta la capacidad para originar microtúbulos. Inicialmente se pensó que el material pericentriolar tenía una disposición amorfa pero ahora se sabe que está organizado en capas a modo de toroides (especie de donuts). Es útil considerar al material pericentriolar dividido en dos grupo de proteínas: aquellas asociadas con el centriolo madre durante todo el ciclo celular (por ejemplo, la pericentrina y la plk4), y aquellas que son fuertemente incorporadas antes de la mitosis (por ejemplo, la  $\gamma$ -tubulina).

#### 4. Los centromas en fase M. Formación del huso mitótico.

El huso mitótico se forma durante la fase M. Desde la matriz pericentriolar de cada centrosoma se forman microtúbulos que crecerán hasta contactar con los cinetocoros de los cromosomas (microtúbulos cinetocóricos) o con otros microtúbulos que crecen desde el centrosoma opuesto (microtúbulos polares). Los centrosomas también forman microtúbulos que se orientan hacia la membrana plasmática (microtúbulos astrales) que interaccionan con elementos del citoplasma. Los cromosomas no son actores pasivos sino que participan en la formación y estabilización de los microtúbulos del huso. Este entramado y sus interacciones con otros componentes celulares son cruciales para orientar el huso mitótico dentro de la célula y para orientar la formación del surco de escisión por el cual se dividirá la célula. Este plano por el que la

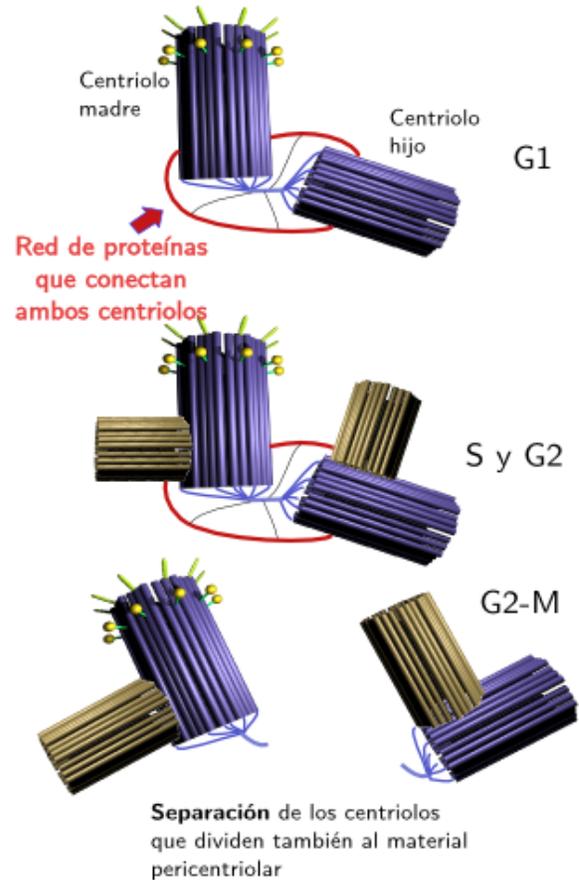


Figura 28: Los dos centriolos del centrosoma están unidos por una red de fibras proteicas. En la interfase entre la fase G2 y M estas fibras se deshacen y los centriolos, con sus respectivos procentriolos, pueden viajar a distintas partes de la célula arrastrando con ellos la mitad del material pericentriolar (modificado de Azimzadeh y Bornens, 2007).

célula madre se dividirá en dos es siempre perpendicular al eje del huso mitótico y suele ser equidistante a los dos centrosomas (Figura 29). La localización y orientación del plano de división es trascendental para el reparto de constituyentes celulares entre las células hijas y para el reparto desigual cuando las divisiones son de tipo asimétrico.

Sin embargo, la estricta necesidad de los centrosomas, y por tanto de los centriolos, para formar el huso mitótico no está totalmente clara. Se ha demostrado que cuando se eliminan los centriolos de una célula animal mediante aplicación de láser muy preciso se puede formar un huso mitótico gracias a la acción de los cromosomas y de las proteínas motoras,

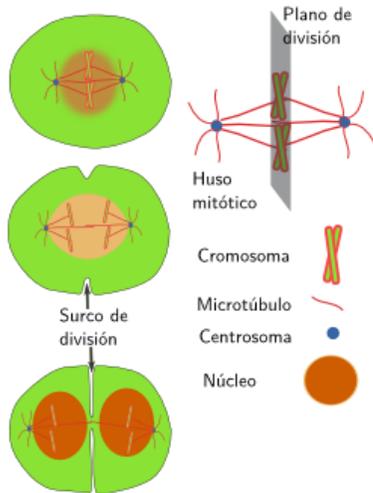


Figura 29: La localización de los centrosomas determina la orientación del huso mitótico y éste a su vez el plano de división celular.

aunque la citocinesis no se produce o es deficiente. En las plantas vasculares no existen centrosomas, aunque forman husos mitóticos normales y citocinesis completa. Por tanto, los centrosomas no parecen imprescindibles para la formación del huso mitótico en las células animales, aunque cuando están presentes son los principales responsables de su formación y sí parecen imprescindibles para completar correctamente la división celular.

### 5. Los centrosomas en citocinesis.

Quizá uno de los papeles más importantes que tienen los dos centrosomas en las células animales se pone de manifiesto durante la citocinesis porque establecen la orientación del surco de división. Este plano, por el que se divide una célula, es siempre perpendicular al eje del uso mitótico, y por tanto depende de la posición de los dos centrosomas. La ausencia de un centrosoma o la existencia de más de dos centrosomas parece impedir una orientación adecuada. Una orientación adecuada es crucial cuando han de producirse divisiones asimétricas. Las divisiones asimétricas son trascendentales durante la meiosis femenina, durante el desarrollo embrionario temprano y en otros muchos procesos de diferenciación, como por ejemplo en el mantenimiento de las células madre y la diferenciación de sus descendientes. Sin divisiones asimétricas correctas un animal no es

viable. La orientación adecuada del huso mitótico se consigue gracias a la interacción de los microtúbulos astrales con otros elementos del citoesqueleto situados en la periferia celular.

Aparte de la orientación del huso mitótico, el centrosoma parece importante durante la citocinesis puesto que algunas células eucariotas, como en las humanas, el centriolo madre viaja hasta la zona de cierre definitivo del surco de división y este movimiento coincide con la separación celular. También es importante el centrosoma para regular el tráfico vesicular, relevante durante la citocinesis.

### 6. ¿Qué pasa si hay más de dos centrosomas?

A pesar de que intuitivamente parece conveniente tener dos centrosomas para que sea correcta la formación del huso mitótico y así una segregación segura y equitativa de los cromosomas entre las células hijas y una división celular adecuada, existen algunas células en las que hay más de dos centrosomas. Por ejemplo, durante la diferenciación de los hepatocitos o de las células musculares. Pero esto no es habitual y ocurre durante etapas muy concretas. Por el contrario, la existencia de más de dos centrosomas suele ser síntoma de una anomalía celular. Cuando esto ocurre se dice que la célula tiene centrosomas supernumerarios. La presencia de centrosomas supernumerarios es habitual en un alto porcentaje de las células tumorales, lo que llevó a pensar que eran los centrosomas los causantes de las aberraciones cromosómicas. La presencia de más de dos centrosomas puede llevar a la formación de husos mitóticos multipolares que puede desencadenar un reparto anormal de cromátidas. Sin embargo, no está claro si la presencia de numerosos centrosomas en estas células tumorales es causa o consecuencia del proceso cancerígeno. Así, es posible crear células que son capaces de manejar un exceso de centrosomas. El mecanismo es concentrar más de un centrosoma en cada uno de los polos del huso mitótico por la interacción de los microtúbulos entre sí gracias a la acción de las proteínas motoras como la dineína, o por la acción de los filamentos de actina en la regulación y posicionamiento del huso mitótico. Entonces, ¿por qué se controla tan estrictamente el número de centrosomas en las células animales? Como dijimos anteriormente, parece que

la orientación del huso mitótico y por tanto el plano de división celular puede verse afectado cuando hay más de dos centrosomas y por tanto las divisiones asimétricas pueden ser defectuosas, siendo este tipo de división crucial para los organismos.

#### Bibliografía

Acilan C, Saunder WS. A tale of too many centrosomes. *Cell*. 2008. 134:572-575.

Azimzadeh J, Bornens M. Structure and duplication of the centrosome. *Journal of cell science*. 2007. 120:2139-2142.

Bettencourt-Dias M, Glover DM. Centrosome biogenesis and function: centrosomics brings new understanding. *Nature reviews in molecular and cell biology*. 2007. 8:451-463.

Bornens M. Organelle positioning and cell polarity. *Nature reviews in molecular and cell biology*. 2007. 9:874-886.

Bornens M. The centrosome in cells and organisms. *Science*. 2012. 335: 422-426.

Fu J, Hagan IM, Glover DM . The centrosome and its duplication cycle. *Cold Spring Harbour perspectives in biology*. 2015. 7: a015800.

Marshall WF. What is the function of centrioles? *Journal of cell biochemistry*. 2007. 100:916-922.

## 7 Plasmodesmos

Los plasmodesmos son pequeños conductos en las paredes celulares que permiten el paso de moléculas entre citoplasmas de células vegetales vecinas. Son la principal vía de comunicación entre células próximas, sobre todo en aquellos lugares alejados de los vasos conductores. El intercambio de sustancias por los plasmodesmos es la forma más común de intercambiar moléculas entre las células vegetales. De hecho, sólo algunas células muy especializadas, o durante procesos de diferenciación celular, tienen la vía de comunicación por plasmodesmos muy reducida o incluso cortada.

### 1. Morfología

La mayoría de los plasmodesmos son canales rectos (Figura 30), pero los hay los más complejos, por ejemplo algunos ramificados. Tienen un diámetro de unos 30 nm y una longitud de unos 100 nm. En las plantas terrestres los plasmodesmos tienen dos regiones, la del orificio de entrada y la interna. Además, están formados por tres componentes: una membrana plasmática que tapiza el hueco en la pared celular y se continúa con las membranas plasmáticas de las dos células contiguas, por cisternas de retículo endoplasmático comprimidas (conocidas en conjunto como desmotúbulo) y situadas en el interior de dichos conductos, por fluido citosólico llenando los espacios entre membranas, en el que se han encontrado proteínas del citoesqueleto como la actina y la miosina. La membrana plasmática del plasmodesmo parece tener una composición lipídica diferentes al resto de la membrana plasmática de las células. Las membranas del desmotúbulo se continúan con las del retículo endoplasmático y están tan comprimidas que prácticamente no hay espacio entre ellas. La calosa suele recubrir la cara de la pared celular en el plasmodesmo a la altura del cuello o reborde en la entrada al plasmodesmo (Figura 32).

### 2. Función

Los plasmodesmos son esenciales para transportar moléculas entre las células de las plantas y también desde y hacia los haces vasculares. Por ejemplo, moléculas como agua, azúcares, hormonas, proteínas

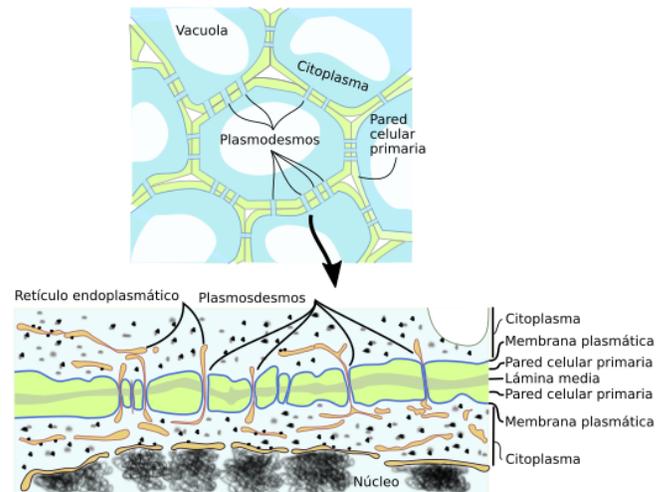


Figura 30: Plasmodesmos en la pared celular primaria. En la parte de abajo de muestra un dibujo de una sección de microscopía electrónica.

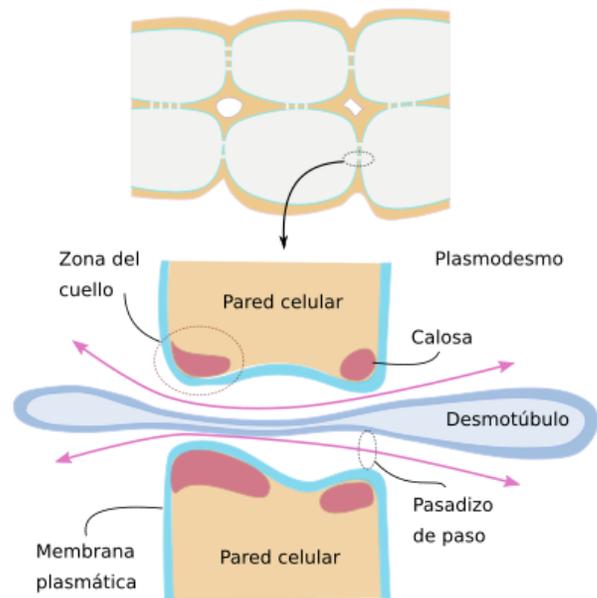


Figura 31: Estructura de un plasmodesmo (modificado de Lee 2015)

y ANRs (ARN mensajeros incluidos) viajan por los plasmodesmos hasta el floema. Pero también son una vía para la propagación de los virus por la planta. Las moléculas de tamaño menor o igual a 70 kDa pueden cruzar libremente el plasmodesmo por difusión. Este tipo de viaje de citoplasma en citoplasma se denomina vía simplasto. Simplasto se refiere a todos los

citoplasmas conectados por plasmodesmos. El espacio extracelular se denomina apoplasto y cuando las moléculas viajan extracelularmente se llama difusión vía apoplasto.

La conexión entre células por plasmodesmos es tan alta que las moléculas que son propias de unas células y no de otras necesitan mecanismos para ser retenidos en dichas células y no difundir a través de estos poros. Las moléculas que son específicas de ciertas células lo son porque son muy grandes para cruzar por los plasmodesmos o porque son ancladas o incorporadas en estructuras como orgánulos celulares. En realidad si una célula quiere tener una expresión diferencial de genes respecto a sus vecinas debe reducir enormemente la comunicación por plasmodesmos y en realidad esto ocurre, por ejemplo, durante la morfogénesis, el desarrollo de las flores o la formación de las raíces laterales. En los meristemas se ha propuesto que las líneas celulares se establecen por la posición de la células en el meristemo, por lo que el control de la comunicación entre células en estas estructuras es crucial. Además, el mantenimiento de los gradientes de auxina es necesario para la diferenciación de numerosas estructuras de la planta. Los plasmodesmos participan en el mantenimiento de estos gradientes restringiendo la permeabilidad de esta hormona. La acumulación de calosa es un mecanismo para disminuir el diámetro útil de difusión del plasmodesmo, y varía según las condiciones fisiológicas. La deposición de calosa es además extremadamente rápida, del orden de minutos. Igual que se sintetiza y deposita en los plasmodesmos, la calosa puede ser eliminada de ellos por enzimas.

Las plantas tienen la capacidad de cerrar los plasmodesmos cuando esta circulación entre células pueda ser perjudicial, por ejemplo, durante una infección o daño del tejido. Un mecanismo inicial es rellenar los huecos de los plasmodesmos con calosa. La calosa se sintetiza en respuesta a proteínas bacterianas o fúngicas.

Actualmente se considera a los plasmodesmos también como centrales de señalización puesto que diversas proteínas, entre ellas varios tipos de receptores, se concentran en sus membranas, bien plasmática o del desmotúbulo. Algunas de estas proteínas están relacionadas con respuestas de defensa de la planta e influyen en la deposición de calosa y otras con procesos de diferenciación celular.

#### Bibliografía

Evolutivamente, los plasmodesmos se han inventado de manera independiente por organismos como las algas y las plantas que tienen tejidos parenquimáticos, es decir, con células que se pueden dividir en las tres dimensiones, y con paredes celulares.

Brunkard JO, Zambryski PC 2017. Plasmodesmata enable multicellularity: new insights into their evolution, biogenesis, and functions in development and immunity. *Current opinion in plant biology*. 35:76-83.

Jackson D. 2015. Plasmodesmata spread their influence. *F1000Prime Reports*. 7:25.

Lee JY. 2015. Plasmodesmata: a signaling hub at the cellular boundary. *Current opinion in plant biology*. 27: 133-140.

## 8 Regulación del ciclo celular

Si una célula ha de dividirse o no, y cuántas veces, es algo que debe estar regulado en los organismos pluricelulares. Este control se aplica para alcanzar un tamaño corporal adecuado durante el desarrollo, qué es típico de la especie. Hay que pensar que las células de una ballena y de una sardina son muy similares en tamaño, pero la ballena tiene más células. También es importante para las diferentes partes del cuerpo. Por ejemplo, las células de un brazo deben dividirse un número de veces semejante a las células del otro brazo, puesto que de otra manera tendríamos brazos de diferente tamaño. Además, es importante en aquellos tejidos que necesiten renovación celular donde mueren muchas células diariamente de forma natural como las de la epidermis o la de las sangre.

Cuando una célula está dividiéndose, en cada ciclo de división, pasa por cuatro etapas llamadas: G1, S, G2 y M (Figura 32). G es por "gap" o intervalo, S por síntesis y M por mitosis. Durante las fases G1 y G2 la célula crece y se prepara para tener todo listo para la siguiente fase. Algunas células abandonan el ciclo celular en G1 para diferenciarse, permanecer inactivas, envejecer o morir. Algunas de estas células pueden retornar a G1 y continuar otra vez con el ciclo celular. En la fase S se produce la replicación del ADN. En la fase M ocurre la mitosis, la separación de los cromosomas duplicados entre las células hijas, y la división del citoplasma por un proceso denominado citocinesis.

### Puntos de control

En puntos estratégicos del ciclo celular hay momentos en que se establecen controles moleculares ("checkpoints"). Los controles moleculares son conjuntos de moléculas que permiten o no seguir con el ciclo celular. Su misión es asegurarse de que está listo todo lo necesario para avanzar en el ciclo celular y que la siguiente fase se producirá con éxito. Si no es así, estos controles bloquearán el avance del ciclo celular.

Pasar un punto de control supone la activación de ciertas moléculas o la expresión de nuevos genes que codifican para proteínas que son necesarias en las siguientes fases. También es importante la inactivación o eliminación de otras proteínas, una gran

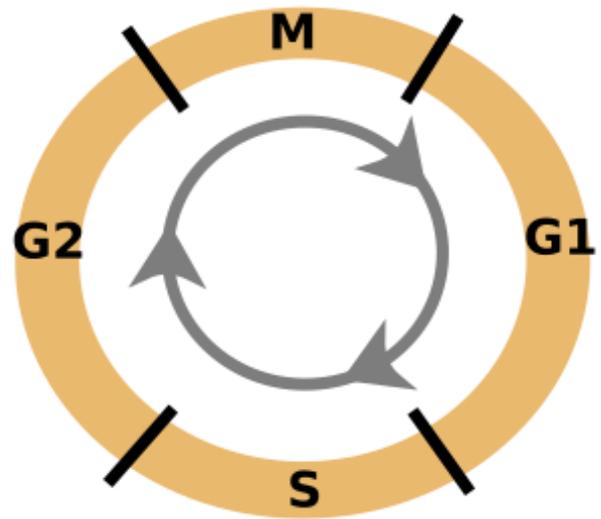


Figura 32: Fases del ciclo celular de cualquier célula eucariota. Las fases G1, S, y G2 se agrupan en una fase mayor denominada interfase.

parte de la cual se produce por degradación mediante la acción de las ubiquitinas (ver más abajo). Hay cerca de 100 genes que se expresan cíclicamente durante el ciclo celular y que tienen un papel en los puntos de control. Entre los más importantes de éstos están los que codifican para proteínas denominadas ciclinas.

### Localización

Hay varios puntos de control importantes en el ciclo celular (Figura 33).

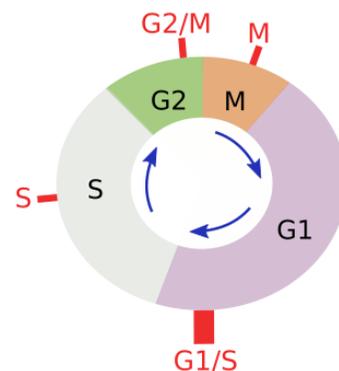


Figura 33: Principales puntos de regulación del ciclo celular

a) Al final de la fase G1, y antes de entrar en la fase S, hay un control muy restrictivo, tanto que se denomina punto de restricción ("restriction point"). Si la célula pasa este control el ciclo celular avanzará, independientemente de las señales externas, pero pasarlo necesita muchas tareas resueltas previamente y la ayuda de estímulos externos. Este punto es tan importante porque en la fase S se replicará el ADN, y tiene que hacerse con todas las garantías.

b) En la fase S hay un punto de control que vigila que la replicación del ADN se produzca correctamente: que sea completa y que se produzca sin fallos.

c) Al final de la fase G2 hay otro punto de control que determina la entrada en la fase M. Se asegura de que la célula ha crecido lo suficiente y está todo dispuesto para empezar el reparto de los cromosomas y del citoplasma entre las células hijas.

d) En la transición entre metafase y anafase, durante la mitosis, hay otro punto de restricción que se asegura que la segregación de las cromátidas de los cromosomas entre las dos células hijas será la correcta.

### CDKs: Quinasas dependientes de ciclinas

Una de los enzimas importantes que actúan en los puntos de control son las denominadas quinasas dependientes de ciclinas (CDK; "cyclin dependent kinases"). Estas enzimas, cuando están activas, ayudan a pasar los puntos de control mediante la fosforilación de moléculas muy variadas. Pero, como se puede imaginar, su actividad está muy regulada, es decir, necesitan que una serie de condiciones se cumplan para activarse. Hay en la célula unas 20 CDKs diferentes, pero las relacionadas con el ciclo celular son la 1, 2, 4 y 6. CDK4 y CDK6 son promotoras de G1. La CDK7 es capaz de activar a estas CDKs, y la CDK3 permite salir de la inactividad (G0) y entrar de nuevo en G1 para reiniciar el ciclo celular. Cada una de ellas se activa en determinadas fases del ciclo celular, y algunas dependen del tipo de tejido. Como su nombre indica, necesitan asociarse con otra proteína denominada ciclina para ser activas. También dependen de la actividad de otras quinasas y fosfatasas que les añaden y eliminan grupos fosfatos. Por último, hay otras proteínas que, si están presentes, se unen a las CDKs y las inactivan, incluso si todo lo demás

requisitos se han cumplido adecuadamente.

Parece que la diversidad de CDKs que hay en la célula no es esencial para la proliferación, y esto puede ser porque hay una alta redundancia en sus funciones, es decir, unas CDKs podrían suplir la actividad de otras. Por ejemplo, la CDK1 es capaz de suplir la carencia de todas las demás CDKs en embriones tempranos de ratón. También, en levaduras una sola CDK puede llevar a cabo el ciclo celular sin problema cuando se anulan las demás. Sin embargo, la variedad de CDKs existentes en las células normales puede aportar versatilidad en el comportamiento y respuesta a estímulos externos variados.

### Ciclinas

Las ciclinas son proteínas que se sintetizan y se degradan periódicamente en distintas etapas del ciclo celular (Figura 34). Esto les permite unirse y activar a las CDKs durante periodos concretos del ciclo celular. Cada ciclina activa un tipo de CDK: CDK1 interactúa con la ciclina A y B; CDK2 con las ciclinas A, B y E; CDK 4 y 6 con la ciclina D.

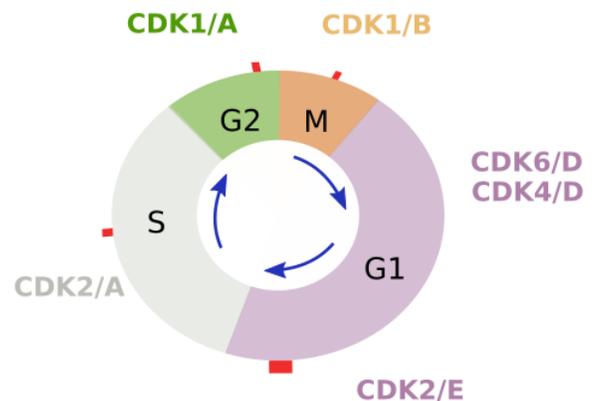


Figura 34: Diferentes complejos CDK + ciclinas (CDK/Ciclina) actúan en diferentes fases del ciclo celular

### Degradación. Ubiquitinas. APC/C

La ubiquitina es una molécula conservada y presente en todas las células eucariotas que se enlaza covalentemente a otras proteínas. La unión de muchas ubiquitinas marca a esa proteína para su degradación o para modificar su función. La degradación de las

ciclinas está mediada por varios complejos, como el complejo APC/C, que promueven la ubiquitinización de las ciclinas en momentos concretos del ciclo celular y las marcan para su degradación.

### Factores internos y externos

Que una célula se vaya a dividir o no depende de dos tipos de factores: internos y externos. Los factores internos que pueden impedir el avance del ciclo celular son, por ejemplo, daños en el ADN, tamaño celular insuficiente, falta de moléculas para la siguiente fase, longitud de los telómeros, etcétera. Cualquiera de estos fallos lleva que el punto de control no se pase.

Una célula animal se divide si recibe una serie de señales de su entorno. Estas señales son proteínas que liberan otras células, y que se pueden agrupar en mitógenos, factores de crecimiento y factores de supervivencia. Cada uno de ellos tiene su función en diferentes aspectos del avance del ciclo celular, y se están ausentes la célula no pasará el punto de restricción G1/S.

Hoy en día se acepta que el tamaño celular depende una serie de factores internos y externos. Durante la fase G1, CDK4 parece estar ligada al control del tamaño celular. Esto podría ser mediante la regulación de la longitud de la fase G1. Es decir, hay una relación entre la longitud del ciclo celular y el tamaño celular.

Las células pluripotentes, células madre, tienen un ciclo celular muy modificado y muy corto. Estas células pueden dividirse muy rápidamente y esta alta proliferación está muy relacionada con su estado indiferenciado. En las células madre adultas no hay oscilación de las ciclinas, excepto la ciclina E. La ciclina A es imprescindible para matener la proliferación, pero no otras ciclinas. Por otra parte, las CDK2 están siempre

activadas y la proteína retinoblastoma permanentemente fosforilada. A medida que la célula se va convirtiendo en multipotente el ciclo celular se va alargando y las oscilaciones de las ciclinas y otros componentes oscilatorios del ciclo celular se van estableciendo, además de activarse los puntos de control. El alargamiento del ciclo celular se debe sobre todo al mayor tiempo en G1

Las células tumorales tienen mutaciones que les permiten saltarse los controles moleculares y se dividen sin control. Una célula tumoral necesita muchas mutaciones para conseguirlo, puesto que ya hemos dicho que hay muchas vías de regulación que convergen en los puntos de control. En concreto hay dos conjuntos de genes que tienen que ser mutados, los oncogenes y los genes supresores de tumores. Los primeros son los que favorecen el avance normal del ciclo celular y los segundos son los que inhiben el avance del ciclo celular cuando las condiciones no son apropiadas.

### Bibliografía

Brown A, Geiger H. 2018. Chromosome integrity checkpoints in stem and progenitor cells: transitions upon differentiation, pathogenesis, and aging. *Cellular and molecular life sciences* 75:3771–3779.

Kernan J, Bonacci T, Emanuele MJ. 2018. Who guards the guardian? Mechanisms that restrain APC/C during the cell cycle. *BBA - Molecular Cell Research*. 1865: 1924–1933.

Hernández-Carralero E, Cabrera E, Alonso-de Vega I, Hernández-Pérez S, Smits VAJ, Freire R. 2018. Control of DNA Replication Initiation by Ubiquitin. *Cells* 7, 146; doi:10.3390/cells7100146.

Zaveri L, Dhawan, J. 2018. Cycling to meet fate: connecting pluripotency to the cell cycle. *Frontiers in cell and development biology*. 6, 146.