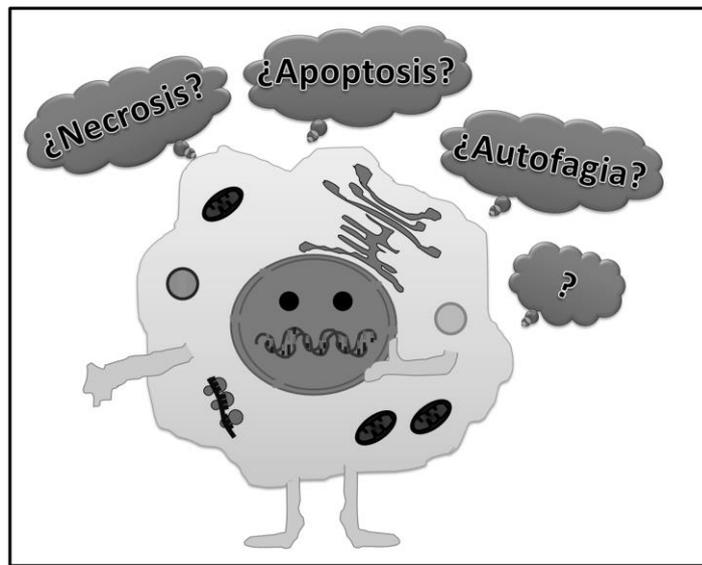


# TIPOS DE MUERTE CELULAR



Lorena German  
Luis Politi  
Nora Rotstein



Editorial de la Universidad Nacional del Sur

Serie Docencia  
Colección Ciencias y Tecnología

Germán, Lorena

Tipos de muerte celular / Lorena Germán; Luis Politi ; Nora Rotstein. - 1a ed. - Bahía Blanca: Universidad Nacional del Sur, 2010.

100 p. ; 30x21 cm. - (Docencia)

**ISBN 978-987-1648-11-5**

1. Biología. 2. Enseñanza Universitaria. I. Politi, Luis II. Rotstein, Nora III. Título

CDD 574.071 1

Fecha de catalogación: 03/06/2010



Editorial de la Universidad Nacional del Sur  
[www.ediuns.uns.edu.ar](http://www.ediuns.uns.edu.ar)  
[ediuns@uns.edu.ar](mailto:ediuns@uns.edu.ar)



Red de Editoriales  
Universitarias Nacionales



Libro  
Universitario  
Argentino

*No se permite la reproducción parcial o total, el alquiler, la transmisión o la transformación de este libro, en cualquier forma o por cualquier medio, sea electrónico o mecánico, mediante fotocopias, digitalización u otros métodos, sin el permiso previo y escrito del editor. Su infracción está penada por las leyes 11.723 y 25.446.*

Queda hecho el depósito que establece la ley 11.723  
Impreso en la Universidad Nacional del Sur  
Bahía Blanca, Argentina, junio 2015

© 2015 Ediuns

# INDICE

Introducción	7
Diferencias entre necrosis y apoptosis	8
Apoptosis	13
Funciones de la apoptosis	13
Los estímulos apoptóticos	14
Principales familias de proteínas que participan en la apoptosis	15
La familia de proteínas Bcl-2	15
La familia de las caspasas	16
Los sustratos de las caspasas efectoras	18
Inactivación de enzimas involucradas en la reparación del ADN y en la replicación celular	18
Fragmentación de proteínas nucleares estructurales	19
Fragmentación del ADN	19
Desorganización del citoesqueleto	19
Otras proteasas	20
La familia de las IAPs: agentes contra la ejecución celular	21
Vías apoptóticas principales dependientes de caspasas	22
La vía intrínseca o vía mitocondrial	22
Formación de poros en la membrana mitocondrial	24
La vía extrínseca	27
La señalización por los receptores de muerte ocurre a través de 5 pasos	28
Señalización de muerte a través de Fas	28
Eliminación de las células apoptóticas	30
Mecanismos moleculares involucrados en la apoptosis	33
La vía intrínseca o vía mitocondrial	33
Regulación de la liberación del citocromo-c	35
Dinámica mitocondrial en células sanas	35
Dinámica mitocondrial en la apoptosis	36
La vía extrínseca	37
Mecanismo de señalización de muerte a través de Fas	37
Señalización de muerte a través de TNFR1	39

Organelas involucradas en la muerte celular dependiente e independiente de caspasas	39
Mitocondria	40
Lisosomas	40
Catepsinas en la vía apoptótica dependiente de caspasas	41
Catepsinas en la vía apoptóticas independiente de caspasas	42
Retículo endoplasmático	43
Eliminación de las células apoptóticas	44
a) Reconocimiento	44
b) Ingestión	45
c) Digestión	45
Vía apoptótica desencadenada por daños en el ADN	47
p53: “guardián del genoma”	47
Mecanismos moleculares implicados en la detección del daño al ADN y activación de p53	50
Autofagia	53
Las vías autofágicas	53
Mecanismo molecular de la autofagia	55
Rol de la autofagia en la decisión de vida o muerte celular	57
Intercomunicación entre autofagia y apoptosis	59
Mediadores de stress general: ROS, ceramida y Ca <sup>++</sup>	59
Rol de p53	60
Proteína “sólo BH3”	60
Familia de las proteínas quinasas asociadas a muerte (DAPK)	61
Rol de Atg5	61
Necrosis programada	63
Mecanismo molecular de la necrosis programada	65
Fallo energética como causa de la necrosis	65
a) La inhibición de la respiración mitocondrial induce la necrosis en las células en reposo	65
b) La inhibición de la glucólisis induce necrosis en las células en crecimiento	66
El calcio como mediador de la muerte celular necrótica	67
Necrosis iniciada por ROS	68
Conclusión	71
Glosario	73
Bibliografía	81

## INTRODUCCIÓN

Todos los organismos nacen, crecen, se reproducen y mueren. Este ciclo es indispensable para lograr mantener la continuidad del ADN a través de las sucesivas generaciones. Una vez asegurada la transmisión del material genético a la descendencia, la muerte es un proceso inevitable y necesario. Para los organismos sencillos, la muerte, ya sea por depredación, por condiciones desfavorables del medio o por causas patológicas, es un hecho no querido que representa un obstáculo sustancial a la continuidad de su ADN. En cambio, durante el curso de su vida, los organismos multicelulares requieren que muchas de sus células sean eliminadas para que el organismo en su conjunto tenga éxito en la réplica y transmisión del material genético a la progenie. En éstos, la muerte celular no necesariamente implica la muerte del organismo sino que constituye una manera de contribuir a su supervivencia y reproducción. Por lo tanto, la muerte celular es parte esencial del proceso normal de desarrollo, maduración y remodelación de los organismos multicelulares. La muerte es también una respuesta necesaria del organismo frente a mutaciones en el ADN de sus propias células o a agentes xenobióticos (por ejemplo a microorganismos y a agentes químicos) o situaciones patológicas, en procesos como la inflamación o cuando ocurren alteraciones en el suministro normal de sangre a un tejido.

El concepto de que las células pueden morir principalmente a través de un proceso pasivo y degenerativo fue desarrollado por primera vez por Virchow en 1859, quien introdujo el término **Necrosis** para referirse a un estado avanzado de deterioro del tejido. Recién en 1971 el australiano John Kerr y sus colaboradores, luego de inducir atrofia en hígado de rata, describieron un tipo de muerte celular discreta, producida a través de una secuencia de cambios programados, al cual denominaron **apoptosis**. Este término griego significa el acto de caer (como caen las hojas de los árboles en otoño), y fue elegido porque sugiere pérdidas benéficas, necesarias para el desarrollo y mantenimiento de los organismos multicelulares (HORTA, 1999: 12). El término, apoptosis, se utilizó por mucho tiempo como sinónimo de muerte celular programada, hasta la identificación posterior de otros mecanismos que conducen a dicha muerte. En contraposición, la muerte celular no apoptótica comenzó a denominarse necrosis. Inicialmente, este término se refería al punto final de la muerte celular. Luego, este término se extendió para abarcar la serie de procesos bioquímicos y estructurales que ocurren en células que están muriendo hasta alcanzar la muerte como tal.

La muerte celular programada es un proceso fisiológico que contribuye a establecer el número final de células de un organismo, número que precisamente resulta de un balance entre la proliferación y la muerte celular. La mayor parte de las células necesarias para constituir los distintos tejidos del organismo se generan durante la ontogenia, a través de un crecimiento exponencial debido a las divisiones continuadas y sucesivas de las células hijas. Para alcanzar el número adecuado de células, los organismos multicelulares poseen dos mecanismos principales de control: el primero es la inducción de la salida del ciclo celular para iniciar la diferenciación celular, y el segundo, la eliminación de las células supernumerarias a través de la activación de la muerte celular programada, cuya forma más frecuente es la apoptosis. De este modo, el equilibrio entre la generación y muerte celular es parte esencial de la homeostasis del organismo.

La regulación del número de células en un organismo no es menos importante que otros procesos homeostáticos como la regulación del pH o de la temperatura corporal. A modo de ejemplo, en el sistema nervioso humano se originan unas  $10^{11}$  neuronas durante la ontogenia; aproximadamente la mitad de ellas son generadas en exceso y no serán utilizadas en el adulto. La eliminación de las células redundantes ocurre por activación de los procesos de muerte programada y tiene una función esencial en el modelado de tejidos y órganos. Aunque la cantidad de células que se generan y mueren es mucho más espectacular durante las fases iniciales del desarrollo, el proceso de muerte celular programada ocurre también en el adulto. Así por ejemplo, las células generadas en las capas basales del epitelio son eliminadas en forma programada al alcanzar las capas más superficiales. En todos los casos, la muerte programada es un proceso altamente organizado y controlado, que permite la eliminación de células excedentes o no deseadas sin ocasionar daños al tejido u organismo involucrado.

### **DIFERENCIAS ENTRE NECROSIS Y APOPTOSIS**

Una vez establecido que las células morían por dos tipos diferentes de muerte celular, necrosis y apoptosis, ambos procesos fueron detalladamente caracterizados. El primer tipo de muerte celular, denominado necrosis, es un proceso desorganizado, caracterizado por la pérdida de control de las funciones celulares, y con efectos perjudiciales para los tejidos involucrados. El otro, denominado apoptosis, es un tipo de muerte marcadamente diferente, que puede ser definido como una auto-destrucción celular dirigida.

Durante los últimos 35 años la muerte celular se clasificó en base a esta dicotomía, con el preconcepto de la necrosis como un proceso con connotaciones negativas. La muerte por necrosis ocurre cuando la homeostasis celular es dramáticamente alterada por cambios extremos, como la hipoxia o la hipotermia, entre otros. Estas perturbaciones imposibilitan mantener la homeostasis, al interrumpir la generación de energía. La falta de ATP impide a las bombas dependientes de éste eliminar el agua y los iones, que se acumulan en el interior celular y provocan la rápida pérdida de la integridad de la membrana plasmática. Las organelas celulares y la célula entera se hinchan hasta lisarse y liberar su contenido al medio extracelular. La liberación del contenido citoplasmático y de las enzimas lisosomales provoca un daño considerable que se extiende en el tejido circundante, dando lugar a una intensa respuesta inflamatoria que conduce a la muerte de las células del entorno.

En contraste, la apoptosis se produce ante alteraciones menos pronunciadas de la homeostasis celular, que permiten a la célula mantener, aunque baja, cierta generación de energía. Al contrario que en la necrosis, en la apoptosis se produce la condensación y fragmentación del núcleo y el citoplasma. En el núcleo, este proceso se caracteriza por una extensa fragmentación del ADN cromosómico a nivel de las regiones internucleosomales (NAGATA, 1995: 1449). La aparición de fragmentos de ADN de diversos tamaños puede detectarse por técnicas de electroforesis utilizando geles de agarosa (escalera de ADN) o por técnicas inmunocitoquímicas, evaluando la presencia de extremos no apareados de ADN (técnica de TUNEL). La fragmentación de los núcleos puede analizarse por microscopía de fluorescencia con sondas fluorescentes, como el 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) o el colorante de Hoechst, que se fijan directamente al ADN (Fig. 1). Al contrario de lo que ocurre en la necrosis, la ruptura

de la membrana plasmática es tardía, y en ningún momento el contenido intracelular es liberado al entorno, sino que los fragmentos celulares están siempre rodeados de membrana, formando los denominados “cuerpos apoptóticos”. Esto evita que las células que han entrado en apoptosis liberen enzimas hidrolíticas que pueden dañar a las células vecinas. *In vivo*, el programa apoptótico culmina con la fagocitosis de los cuerpos apoptóticos por células vecinas y macrófagos, con lo cual se evita la respuesta inflamatoria. Para promover su fagocitosis, las células apoptóticas presentan cambios en su membrana plasmática que permiten que las células que las rodean las reconozcan como apoptóticas y disparan la respuesta de los macrófagos. Uno de estos cambios es la translocación del fosfolípido fosfatidilserina (PS) de la cara interna a la cara externa de la membrana plasmática (SAVILL, 2000: 784). La secuencia de cambios durante la apoptosis se produce en forma predecible y reproducible y puede ocurrir en un lapso de 30 a 60 minutos (Tabla. 1; Fig. 2).

El concepto de una dicotomía necrosis-apoptosis y de la apoptosis como única forma de muerte celular programada cambiaron a principios del siglo XXI. Nuevos hallazgos en el campo de la muerte celular revelaron una creciente complejidad en los procesos que llevan a la muerte, identificándose nuevos programas de muerte que derivan en morfologías particulares. Inclusive, hallazgos recientes revelan cierta direccionalidad aún en eventos considerados no programados como la necrosis (Fig. 3). Una de las formas recientemente identificadas de muerte celular programada es la denominada autofagia, que deriva del griego comer (fagia) y uno mismo (auto), o sea auto-digestión. La autofagia es un proceso en el que la célula consume sus propios componentes para protegerse o para obtener energía; la exacerbación de este proceso lleva a la muerte por destrucción total de la célula.

Estos hallazgos condujeron a abandonar el uso del término apoptosis como sinónimo de muerte celular programada. Como se detallan a continuación, existen diversos tipos de muerte celular.

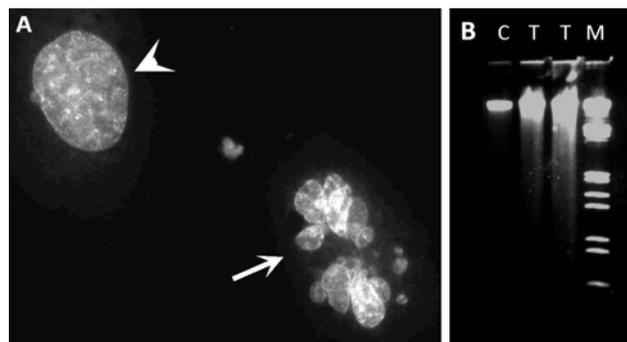


Fig. 1. Daños en el ADN en células de la línea de epitelio pigmentario humano (ARPE-19) inducidos por agua oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

A) Análisis de la integridad nuclear a través de la marcación con la sonda fluorescente DAPI. Se pueden observar núcleos fragmentados (flechas) y núcleos íntegros (cabeza de flechas). B) “escalera de ADN”. Electroforesis en geles de agarosa del ADN de muestras control (C) y tratadas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (T); y del marcador de peso molecular (M).

## Tipos de muerte celular

NECROSIS	APOPTOSIS
No requiere energía	Dependiente de energía
Afecta a distintos tipos de células dentro de un área del tejido	Afecta a células individuales y es selectiva para un tipo celular
Ruptura rápida de la membrana plasmática	Mantenimiento de la integridad de membrana y formación de evaginaciones características.
Pérdida del control osmótico: la célula se edematiza hasta producirse la lisis	Condensación citoplasmática y nuclear
Cambios rápidos (hinchamiento) en las organelas	Cambios tardíos en las organelas, con excepción de la mitocondria
Lisis: liberación del contenido celular	Formación de cuerpos apoptóticos
Ruptura generalizada del ADN por ADNasas y del contenido celular por enzimas lisosomales	Fragmentación del ADN en sitios específicos (internucleosomas) por activación regulada de nucleasas
Fagocitosis por macrófagos	Exposición de señales para ser fagocitada por macrófagos o células vecinas
Inflamación del tejido circundante	Sin inflamación

Tabla 1: Diferencias entre necrosis y apoptosis

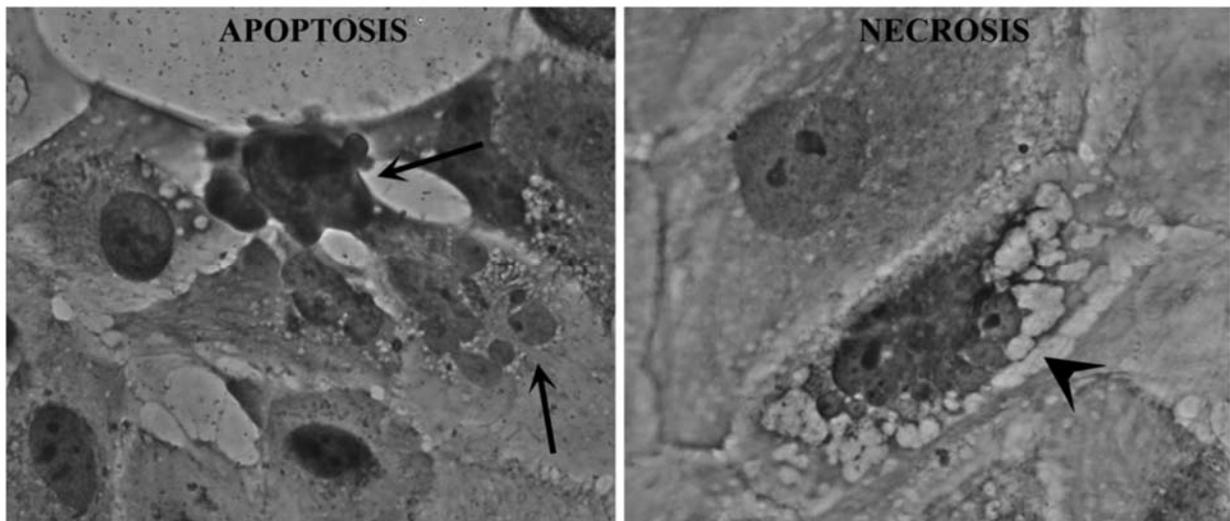


Fig. 2. Inducción de la muerte celular en células de la línea ARPE-19 con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Micrografías de células teñidas con hematoxilina-eosina. Se pueden observar células apoptóticas (flechas negras) y células necróticas (cabeza de flecha negra), así como la morfología de la célula viable (flecha hueca). Aumento total 400X.

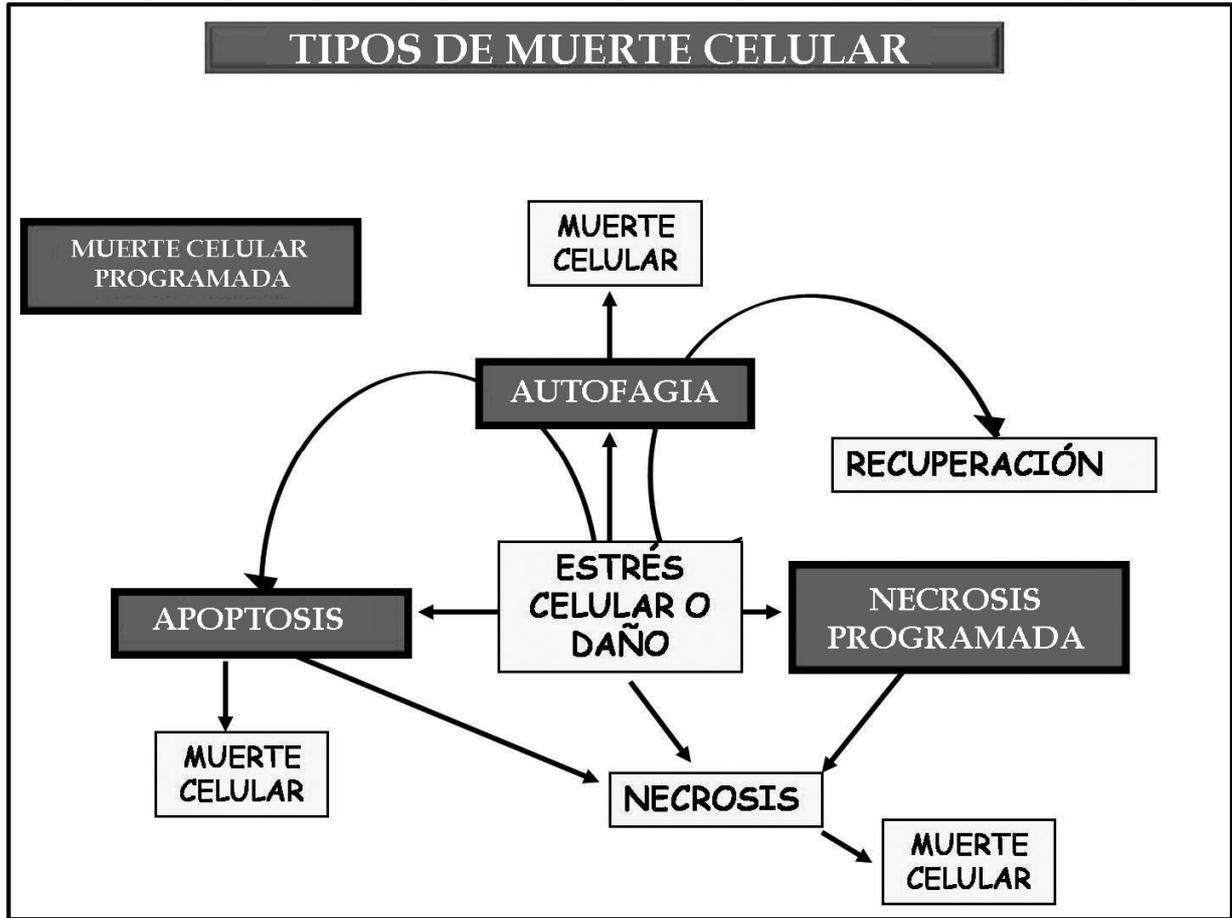


Fig. 3. Esquema de los distintos tipos de muerte