

Vida y muerte de la célula: las señales intracelulares

El destino de una célula ante la señal de una hormona, una droga, el estrés o un neurotransmisor es a veces impredecible y a veces incomprensible para todos aquellos comprometidos con el estudio de las enfermedades humanas. Tratándose de algo tan complejo, resulta casi inevitable perderse en marañas y redes con nombres y siglas que representan las cascadas de transducción de señales. Si bien la investigación básica se ocupa del estudio de estas señales, pocas veces se enfatiza la importancia de estos estudios para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades de las que hablamos y vemos cotidianamente, tal es el caso de las enfermedades autoinmunes o el desarrollo de tumores.

Más allá de la complejidad de las cascadas de transducción de señales intracelulares, es importante destacar un concepto básico: en general, las señales son siempre las mismas, salvo raras excepciones, según el tipo celular y la presencia de mutaciones. A modo de ejemplo: el receptor de membrana para una hormona, que una vez unido a su ligando activa la cascada de la proteína quinasa A (PKA) en una célula hepática, hará lo mismo en cualquier otro tipo celular, siempre y cuando ese tejido exprese el receptor para la hormona en cuestión. Sin embargo, la respuesta biológica a la hormona de los diferentes tejidos, muy probablemente, no sea la misma. De hecho, la gran mayoría de las hormonas tienen acciones diversas y diferentes según el tejido blanco sobre el que actúan. ¿A qué se debe la diferencia si las cascadas que dispara la hormona son las mismas? Entorno, momento y fundamentalmente, otras señales.

La misma quinasa o el mismo factor de transcripción pueden controlar la activación de señales o la expresión de genes involucrados tanto en mensajes de supervivencia, como en señales de apoptosis o muerte celular programada. Tal es lo que ocurre con el factor de transcripción *nuclear factor- kappa B* (NF- κ B), originalmente descrito como el factor responsable de la expresión génica de la cadena kappa de inmunoglobulinas. Luego se descubrió que este factor controla, además, la expresión de muchos otros genes involucrados en la respuesta inmune e inflamatoria, la prevención de apoptosis y resistencia a drogas quimioterapéuticas en numerosos tipos celulares¹, la expresión de moléculas de adhesión², la proliferación celular³, la invasividad y metástasis^{2,4}.

En el sistema nervioso a este factor se le adjudica un rol pro-apoptótico, promoviendo la expresión de genes que inducen muerte celular, por ejemplo, en respuesta a glutamato⁵. Muchas enfermedades neurodegenerativas involucran un aumento en la apoptosis y la participación de este factor de transcripción^{6,7}. No obstante, si bien parecería ejercer el papel del mismísimo diablo en el sistema nervioso, recientes hallazgos lo reivindican como uno de los mediadores de la adquisición de memoria⁸.

El análisis de estos conceptos nos permite vislumbrar la distancia entre estas observaciones y descubrimientos y su uso como herramientas de diagnóstico y tratamiento en pacientes, y el por qué es necesario que nos ocupemos de estudiar lo complejo hasta hacerlo simple.

Si las cascadas de señales fueran lineales, de respuesta previsible y evolutivamente conservada en todos los tejidos del organismo, bastaría con el diseño de drogas que antagonicen o potencien la acción de un factor de transcripción o de una quinasa y el efecto sería el mismo en todos los tejidos. Sin embargo, por lo antes señalado, la complejidad de las respuestas esperadas, merecen un detallado análisis antes de ser pensadas como un tratamiento clave.

Sin embargo, en la historia del tratamiento de la enfermedad el hombre ha empleado plantas, hierbas, hongos (antibióticos) y productos de origen animal, mineral y productos de la industria, aún sin conocer, en sus orígenes, los mecanismos moleculares de acción y fueron incorporados y aplicados, simplemente, porque parecían funcionar. Así, por ejemplo, se usó la aspirina para el tratamiento de numerosos síntomas y si bien se conocían algunas de sus propiedades, fue recién hace unos pocos años que se descubrió que era capaz de inhibir la acción del factor de transcripción NF- κ B^{7, 9-11}. Estos conocimientos nos deberían hacer más criteriosos en el momento de utilizar una medicación. En el caso de la aspirina, podremos considerarla como una excelente aliada para el tratamiento de síntomas específicos, pero no se nos ocurriría considerarla como algo absolutamente inocuo y recomendar su uso cotidiano, sólo porque sí.

¿Cuáles serían las enfermedades en las que los aportes de la biología molecular y el estudio de la transducción de señales podrían ejercer un papel determinante? Ninguna enfermedad escapa al estudio desde un punto de vista molecular y hasta podemos enfocar la salud y enfermedad de otro modo, que se podría simplificar así: Existen mecanismos moleculares que determinan el equilibrio o balance entre las señales que promueven la vida de una célula a cualquier costo, incluyendo la vida del organismo entero, y aquellas por las cuales se induce el sacrificio de unas pocas. Es un delicado equilibrio en el que se eliminan tipos celulares peligrosos para el organismo, como una célula cancerígena, un linfocito capaz de reconocer lo propio como extraño, una célula envejecida que ya no cumple sus funciones, etc., mientras se preservan las células necesarias para la vida del individuo.

Cuando este equilibrio se rompe, puede ocurrir la muerte celular más allá de lo necesario, y se desarrollan enfermedades neurodegenerativas⁶, inflamatorias crónicas como la artritis reumatoidea¹², hepáticas por apoptosis de hepatocitos¹³ y cardíacas con atrofia y apoptosis del músculo cardíaco¹⁴. En el otro extremo se encontrarían aquellas enfermedades en las que se preservan las células perjudiciales para la vida del individuo, tal es el caso de las enfermedades autoinmunes en las cuales sobreviven clones de linfocitos capaces de atacar lo propio y los tumores¹⁵.

¿Qué tienen en común enfermedades tan distintas como una autoinmune o una degenerativa? Más allá de sus orígenes: infecciones virales, bacterianas, condiciones genéticas o psicológicas, en todas ellas, o bien se eliminan células que deberían vivir, o bien sobreviven células que deberían ser eliminadas. Según este razonamiento simplificado, surge la importancia del estudio de las cascadas de señales que determinan el destino de la vida y la muerte celular. El descubrimiento de drogas y tratamientos que afecten específicamente estas señales podría ser la base para la cura de enfermedades autoinmunes, degenerativas y tumores¹⁶⁻¹⁸.

Para referirnos a las cascadas de señales más importantes involucradas en estos destinos tan divergentes, debemos primero esclarecer qué forma de muerte es la apoptosis y en qué se diferencia de la necrosis. En la necrosis, que podríamos definir como una forma de muerte accidental, se pierde tempranamente la integridad de la membrana plasmática y los contenidos intracelulares son liberados induciendo daño en los tejidos circundantes y una respuesta inflamatoria. A diferencia de esta forma de muerte celular, las células pueden ser eliminadas por "muerte celular programada" o apoptosis¹⁹⁻²¹. Es un proceso fisiológico controlado por hormonas, citoquinas, factores de crecimiento y neurotransmisores. Estos mediadores disparan en la célula blanco una cascada de señales que involucra una familia de proteasas como las caspasas (*Cysteine Aspartate-specific Proteases*), además de la familia de proteínas Bcl-2 constituida por moléculas pro- y anti-apoptóticas que controlan la salida de factores pro-apoptóticos desde la mitocondria hacia el citosol^{19, 22} (Fig. 1).

En esta forma de muerte, independientemente de las diferentes rutas: "mitocondrial", o "de membrana" (Fig. 1), ocurre una pérdida de la integridad de todas las endomembranas celulares; una fragmentación de la cromatina: se generan fragmentos con un típico patrón de hasta 180-200 pares de bases que

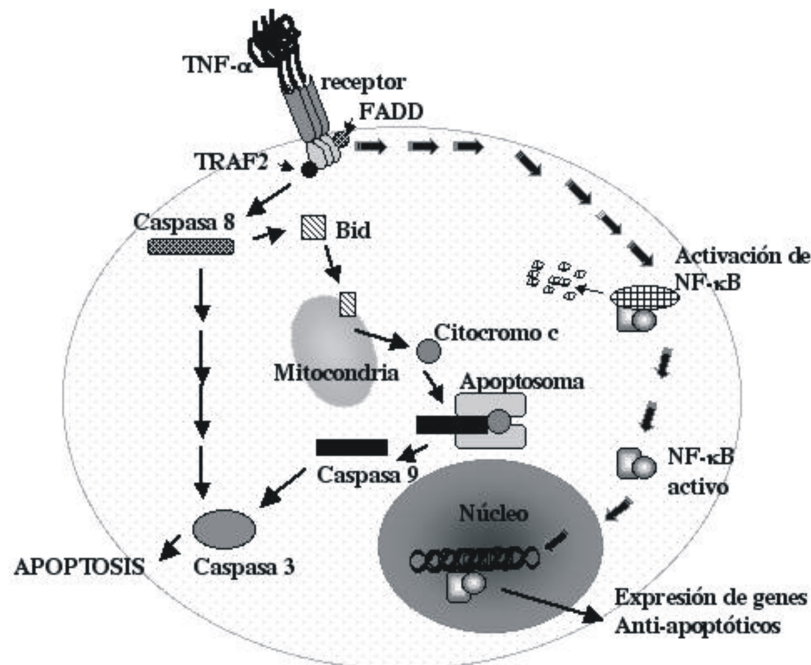


Fig. 1.— La cascada apoptótica de membrana se dispara a través de receptores de la familia de TNF tipo I (p55) que poseen dominios de muerte²³. Cuando estos receptores unen sus ligandos específicos reclutan moléculas adaptadoras como FADD (*Fas Associated Death Domain*) involucrada en la activación de la Caspasa 8. En el caso de TNF, a través de otras moléculas adaptadoras como TRAF2 (*Tumor Necrosis Factor Receptor Associated Factor 2*), se dispara simultáneamente una cascada protectora de apoptosis, con la activación de NF-κB, vía la degradación de su factor inhibidor IκB y translocación del factor activo al núcleo.

La vía mitocondrial se dispara en forma directa, independiente de un receptor de membrana, por daño al ADN (entre otras señales) o por la vía de membrana a través de Bid. En ambos casos, las proteínas de la familia Bcl-2: Bid, Bax, Bim o Bad, pueden cambiar su localización solubles en el citosol o anclándose a membranas. Cuando se localizan en la membrana mitocondrial, facilitan la salida del Citocromo c al citosol. Otros miembros de la familia Bcl-2, cuyo rol es anti-apoptótico, como Bcl-2 y Bcl-xL compiten con los pro-apoptóticos en la regulación de este proceso. Una vez en el citosol, el Citocromo c se asocia con proteínas adaptadoras y la pro-Caspasa 9, para formar el apoptosoma, que lleva a la activación de esta caspasa. Tanto la vía de membrana como la mitocondrial a través de las caspasas iniciadoras, convergen en la activación de la Caspasa 3, que es una caspasa efectora que actúa sobre otros substratos específicos para manifestar el fenotipo apoptótico.

corresponden a los segmentos de ADN protegidos de la degradación por estar unidos a las histonas para conformar los nucleosomas. Lo último que se pierde es la integridad de la membrana plasmática, pues antes que eso se generan cuerpos apoptóticos: cromatina fragmentada y restos citoplasmáticos rodeados de membrana, que ha perdido su clásica asimetría, por lo cual se exponen moléculas que habitualmente no se encuentran en células sanas, que constituyen marcadores apoptóticos. Estos marcadores pueden ser reconocidos por células del sistema inmune, que eliminan los cuerpos apoptóticos preservando al organismo del daño que podría originar la liberación de los contenidos citosólicos en el entorno¹⁹.

Estos conocimientos han sido aplicados a estudios clínicos, y el manejo de las cascadas apoptóticas a través de la biología molecular promete ser una excelente herramienta para el desarrollo de agentes terapéuticos^{16,21}. Así por ejemplo, la sobreexpresión de Bcl-2 y la consecuente disminución de apoptosis

ha sido originalmente identificada en linfomas B y luego, en otros tipos tumorales. Según estudios clínicos, la terapia con oligonucleótidos anti-sentido, que complementan con el ARN mensajero de Bcl-2 y evitan su traducción, ha brindado resultados con altos grados de reversión tumoral. Asimismo, según otros estudios, tanto proteínas asociadas al receptor de TNF (*Tumor Necrosis Factor*), como las caspasas, han sido considerados como herramientas terapéuticas en el desarrollo tumoral, e inhibidores sintéticos de las caspasas en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas^{6, 16, 21}.

Por lo expuesto, es claro que la interacción entre la medicina, la investigación clínica y las ciencias básicas aproxime y facilite la comprensión de los mecanismos involucrados en el desarrollo de la salud y la enfermedad, así como el desarrollo de nuevas terapias y métodos diagnósticos.

Mónica A. Costas

Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari,
Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires
e-mail: mcostas@lanari.fmed.uba.ar

1. Biswas DK, Martin KJ, McAlister C, et al. Apoptosis caused by chemotherapeutic inhibition of nuclear factor- κ B activation. *Cancer Res* 2003; 63: 290-5
2. Ghosh S, Karin M. Missing pieces in the NF- κ B puzzle. *Cell* 2002; 109: 81-96.
3. Guttridge DC, Albanese C, Reuther JY, Pestell RG, Baldwin JR. AS. NF- κ B controls cell growth and differentiation through transcriptional regulation of cyclin D1. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 5785-99.
4. Franco DL, Nojek IM, Molinero L, Coso OA, Costas MA. Osmotic stress sensitizes naturally resistant cells to TNF- α -induced apoptosis. *Cell Death Differ* 2002; 9: 1090-8
5. Lin B, Williams-Skipp C, Tao Y, et al. NF- κ B functions as both a proapoptotic and antiapoptotic regulatory factor within a single cell type. *Cell Death Differ* 1999; 6: 570-82.
6. Yuan J, Yankner BA. Apoptosis in the nervous system. *Nature* 2000; 407: 802-9.
7. Grilli M, Pizzi M, Memo M, Spano P. Neuroprotection by aspirin and sodium salicylate through blockade of NF- κ B activation. *Science* 1996; 274: 1383-5.
8. Meffert MK, Baltimore D. Physiological functions for brain NF- κ B. *Trends Neurosci* 2005; 28: 37-43.
9. Kopp E, Ghosh S. Inhibition of NF- κ B by sodium salicylate and aspirin. *Science* 1994; 265: 956-9.
10. Wahl C, Liptay S, Adler G, Schmid R. Sulfasalazine: a potent and specific inhibitor of nuclear factor kappa B. *J Clin Invest* 1998; 101: 1163-74.
11. Frantz B, O'Neill EA. The effect of sodium salicylate and aspirin on NF- κ B. *Science* 1995; 270: 2017-9.
12. Jimi E, Ghosh S. Role of nuclear factor-kappa B in the immune system and bone. *Immunol Rev* 2005; 208: 80-7.
13. Yang WJ, Zhang QY, Yu ZP, et al. Effects of nuclear factor-kappa B on rat hepatocyte regeneration and apoptosis after 70% portal branch ligation. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6775-9.
14. Boersma HH, Kietselaer BL, Stolk LM, et al. Past, present, and future of annexin A5: from protein discovery to clinical applications. *J Nucl Med* 2005; 46: 2035-50.
15. Krammer PH. CD95's deadly mission in the immune system. *Nature* 2000; 407: 789-95.
16. Nicholson DW. From bench to clinic with apoptosis-based therapeutic agents. *Nature* 2000; 407: 810-6.
17. Pasqualini CD. Apoptosis and cancer. *Medicina (Buenos Aires)*. 1994; 54: 697-9.
18. Rubio MF, Werbajh S, Cafferata EG, et al. TNF-alpha enhances estrogen-induced cell proliferation of estrogen-dependent breast tumor cells through a complex containing nuclear factor-kappa B. *Oncogene* 2006; 25: 1367-77.
19. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000; 407: 770-6.
20. Meier P, Finch A, Evan G. Apoptosis in development. *Nature*. 2000; 407: 796-801.
21. Green DR, Kroemer G. Pharmacological manipulation of cell death: clinical applications in sight? *J Clin Invest* 2005; 115: 2610-7.
22. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: Arbiters of Cell Survival. *Science* 1998; 281: 1322-6.
23. Hehlgans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumor necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology* 2005; 115: 1-20.

Facts are the air of science. Without them you never can fly.

Los hechos son el aire de la ciencia. Sin ellos nunca se puede volar.

Ivan Pavlov (1849-1936)
Premio Nobel 1904