

ENCUENTROS CON LA
CIENCIA
Del macrocosmos al microcosmos



Los contenidos de este libro se publican bajo la licencia
Reconocimiento-No comercial-Sin obras derivadas 3.0
de **Creative Commons**
(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>)

www.encuentrosconlaciencia.es

La evolución de la vida gracias a la muerte celular programada

Elena Baixeras, investigadora de la Fundación Imabis (Málaga)

Muerte. La sola palabra nos provoca un estremecimiento. Muerte suena a algo muy grave para lo que ya no hay remedio. Supone nuestra desintegración y la transformación de nuestra materia. Sobre ella cualquiera podría elaborar un sinfín de reflexiones profundas y filosóficas, pero no deja de ser una tragedia para el ser humano. Lo que para nosotros es motivo de aflicción, para la mayoría de los seres vivos es un proceso tan natural como necesario. En términos biológicos, la muerte es la meta de una sucesión de procesos de desintegración que pueden ocurrir a nivel celular o a nivel de todo un organismo pluricelular. A nivel celular, la muerte supone una renovación dentro de un organismo sin que ello afecte a su funcionalidad como un todo, y es un fenómeno que ocurre de forma discretamente activa ¡millones de veces al día! Cuando ocurre de forma masiva, sin tiempo o posibilidad de renovación de sus células, el organismo sufre un colapso, el proceso es irreversible y el organismo entero se muere. Este es el caso de la degeneración de nuestros tejidos, de la muerte que sobreviene tras un proceso de envejecimiento paulatino.

Pero en este capítulo no vamos a hablar de la muerte por envejecimiento, sino de un tipo de muerte distinta que se «induce» a nivel celular y de forma activa para preservar el bien de la sociedad pluricelular. Trataremos de exponer de una manera sencilla una serie de conceptos e ideas más o menos establecidas y aceptadas sobre cómo las unidades celulares que constituyen un ser vivo pluricelular se han ido adaptando unas a otras para acomodarse y alcanzar un equilibrio dinámico y armonioso donde cada cual tiene una función y un por qué de su existencia. Nuestra forma de vida celular nació y evolucionó aquí, en nuestro planeta. Pero lo mismo se puede decir de nuestra forma de muerte celular «programada».

El sentido de la muerte celular programada sobre el control social

Cuando hablamos de la evolución de la vida, hablamos también de la evolución de un tipo de muerte celular que se ha establecido en los seres formados por sociedades celulares en las que la «organización» y el «toma y daca» es la esencia y la razón de vivir, y donde la muerte del individuo celular está sometida a un «control» exquisito. Hablamos de la «muerte celular programada».

La mayor parte de los animales unicelulares, como el familiar paramecio, se dividen en dos nuevos individuos cuando envejecen, con lo que su vida se renueva sin dejar tras de sí ningún cuerpo muerto. Este proceso continuará eternamente a menos que suceda un accidente que destruya el organismo. En los complicados seres pluricelulares, por el contrario, lo que mata al organismo es un derrumbamiento de la organización interior de la sociedad celular que lo compone. El bienestar de un «todo» depende de la interrelación que se establece entre sus células, que se «hablan» mediante las señales (proteínas solubles) que se envían unas a otras; hay un reparto de funciones y de áreas de trabajo. Aunque suene terrible, cuando el individuo celular deja de ser funcional, o se sale accidentalmente del sitio donde normalmente reside, está condenado a morir. En la sociedad pluricelular el «individuo» es tan interdependiente que no podría sobrevivir fuera de su entorno. En muchos casos, se trata de un verdadero suicidio celular, pero en otros que trataremos más adelante, se trata de un «celularicidio», ya que es una muerte inducida por otra célula. En cualquier caso, la razón de la muerte celular programada no persigue más que un único fin: preservar el equilibrio social, en definitiva, el control social.

El descubrimiento de la apoptosis

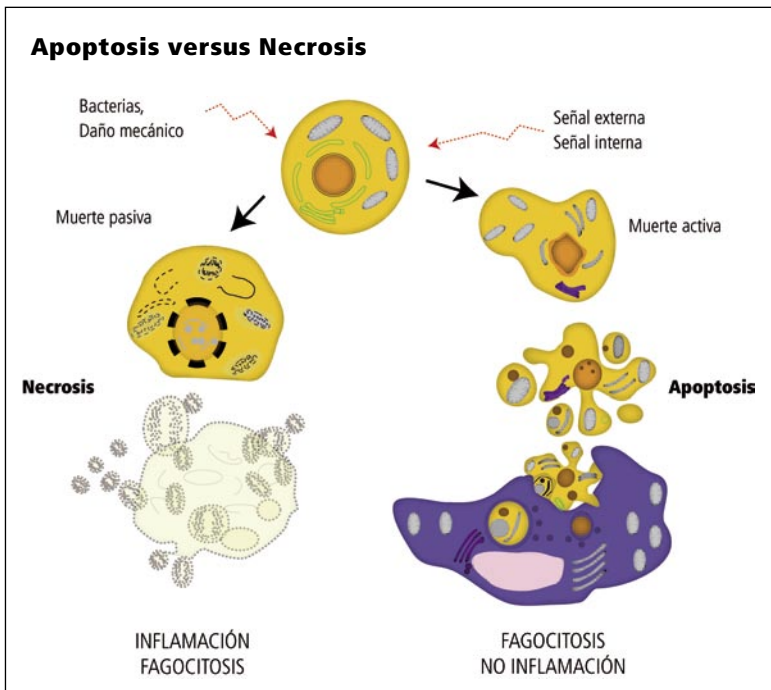
La primera descripción morfológica de que las células mueren durante el transcurso normal de la vida de un ser pluricelular fueron hechas por el alemán Carl Vogt en 1842. La idea de que la muerte celular pudiera llevarse a cabo por una serie de eventos programados para

su autodestrucción fue rechazada durante muchos años por la comunidad científica. No fue hasta 1972 cuando este programa de muerte fue redescubierto otra vez por tres médicos patólogos de la Universidad de Edimburgo: John Kerr, Andrew Wyllie, y Alistair Currie. Ellos describieron en la revista *British Journal of Cancer* un proceso de muerte desde la perspectiva morfológica para el que utilizaron el término «apoptosis», procedente de los vocablos griegos: *apo* ('comienzo'), y *ptosis* ('caída'), es decir «decadencia». En la Grecia antigua apoptosis era la palabra utilizada para describir la caída de las hojas de los árboles pero, además, el término ya era usado en un contexto médico y filosófico. Por ejemplo, fue utilizado por Hipócrates (460 - 370 A.C.), padre de la Medicina Occidental, para describir la erosión ósea debida a la muerte del tejido celular. El grupo de Kerr acuñó la palabra apoptosis para describir una serie de características morfológicas observadas en células de diferentes tejidos. Estos cambios morfológicos no eran más que la manifestación de células en proceso de muerte, las cuales solo pueden observarse en determinadas condiciones ya que su rápida desaparición por diversos y eficientes sistemas fagocíticos hace difícil su detección. Esta es la razón por la cual observar apoptosis en un organismo sano es una tarea realmente difícil a no ser que dirijamos el objetivo del microscopio a cortes de tejidos donde se produce diariamente este proceso de forma masiva, ya sea formando parte de un proceso de selección de células, como en el timo, o de renovación de un tejido, como sucede en la piel. La apoptosis se manifiesta de una forma muy patente en casos patológicos en los que la muerte celular se produce fuera de control, asociada a una perturbación fisiológica. No es de extrañar, por tanto, que la apoptosis la descubrieran médicos patólogos acostumbrados a una finura observacional muy desarrollada tras miles de horas al microscopio.

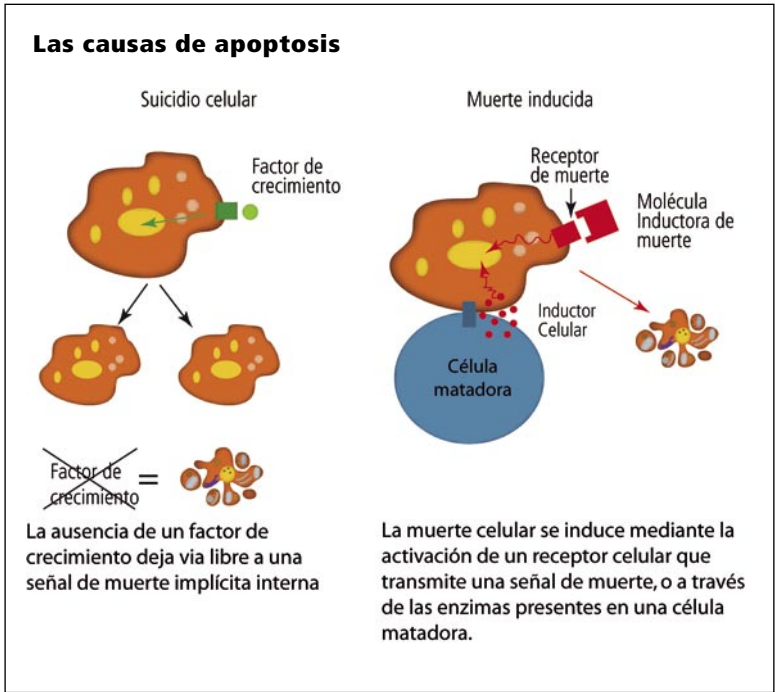
Los tres patólogos, acostumbrados al trabajo -a veces tedioso- de laboratorio, descubrieron que durante la apoptosis la célula comienza a disminuir de tamaño, se compartimenta y las estructuras membranales se mantienen, al mismo tiempo que la cromatina se condensa y se trocea poco a poco en porciones cada vez más pequeñas (Fig. 1). Mucho antes de su desintegración, la célula no estalla ni se rompe, sino que es literalmente engullida por células fagocíticas adyacentes. Esta rápida eliminación de las células apoptóticas se lleva a cabo por medio de

un eficiente mecanismo de reconocimiento por parte de las células fagocíticas, gracias a cambios importantes que ocurren a nivel de la estructura y la topología de la membrana de las células apoptóticas.

Esta propiedad marca la diferencia esencial con la muerte celular vía lisis o necrosis. En esta última, la célula se comporta «pasivamente», perdiendo poco a poco sus funciones, con una temprana disfunción de las membranas celulares, entrada de agua, ruptura y desintegración de las distintas organelas y, finalmente, una desintegración celular con liberación de su material histolítico, que establece un claro cuadro inflamatorio (Fig. 1). La muerte por necrosis puede estar inducida por un accidente, un golpe fuerte con rotura de tejidos o una invasión bacteriana que induce la destrucción celular; en definitiva, es una muerte patológica. Por el contrario, la apoptosis es una muerte natural, fisiológica y limpia, que por regla general no induce una reacción inmune. Lo asombroso es que, en condiciones fisiológicas, las células puedan controlar su propia muerte.



Lo más atrevido del descubrimiento de Kerr, Wyllie y Currie no fue sólo la descripción del proceso de apoptosis, sino la sugerencia de que los cambios morfológicos que se observaban durante el proceso de muerte estaban programados. Y lo que es más importante aún: su inhibición o inducción inadecuada podría tener efectos devastadores para la salud. Para sonrojo de muchos, el artículo publicado en el *Br. J. Cancer* no estuvo exento de críticas y burlas por parte de determinados científicos de la época. Este espíritu inmovilista y conservador que se aferra a lo establecido (al parecer inherente a algunos humanos), se contrapone con el espíritu innovador, observador, audaz e imaginativo que debe reinar en el alma de cualquier científico que se precie de serlo. Cualquiera que sepa de historia de la ciencia conocerá los muchos ejemplos de descubrimientos que quedaron casi o completamente en el olvido por la falta de apertura de mente de la sociedad de la época o, más tristemente, de la comunidad científica coetánea, a veces en manos de prebostes para los que cuestionar una idea preconcebida es una herejía.

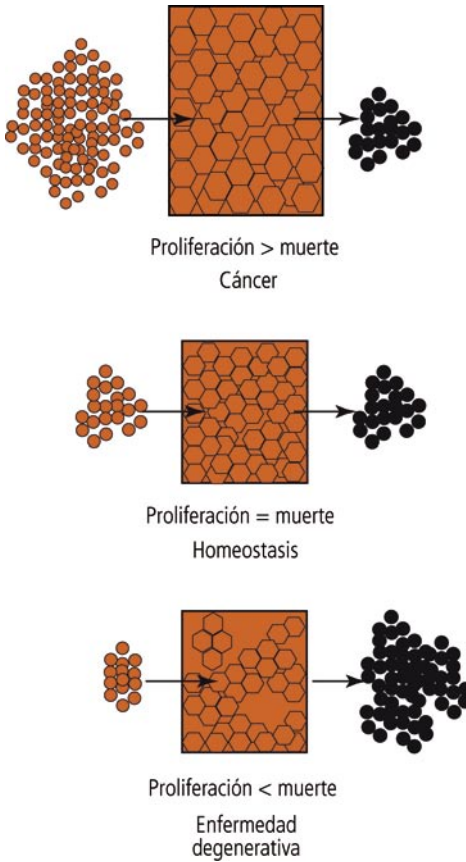


Conviene aclarar que, aunque la apoptosis es el tipo de muerte de autodestrucción programada más común, no es el único. Pero en este capítulo hablaremos indistintamente de apoptosis y muerte celular programada (MCP) con el fin de simplificar los términos y conceptos más elementales. Hoy se sabe que la MCP opera en todos los organismos multicelulares, incluidos los cnidarios, nematodos, insectos, anfibios, aves y mamíferos, pero que además tiene matices desde el punto de vista morfológico y bioquímico (autofagia, anoikis, picnosis, cariólisis, etc). Lo esencial es que, en casi todos los casos, la MCP está regulada básicamente por señales provenientes de otras células, tanto en forma de mediadores proteicos solubles como mediante el contacto directo de célula con célula. En otras ocasiones, es precisamente la ausencia de señal (factor de crecimiento) lo que induce la muerte celular (Fig. 2).

La apoptosis y el nacimiento de la biomedicina

La proliferación y la muerte celular constituyen importantes procesos fisiológicos que difícilmente podrían ser considerados independientes el uno del otro. La estrecha relación entre estos dos procesos permite el desarrollo normal y la viabilidad de un organismo. Las células de los diferentes tejidos poseen una vida media específica, lo que implica una fina coordinación entre los procesos replicativos y los procesos apoptóticos. En general, una célula muere por apoptosis cuando su función ha terminado. Mediante la apoptosis se controlan los cambios en el número de células útiles en cada momento: durante la embriogénesis, durante la menstruación, en la formación de la capa externa de la piel, durante el ataque directo de linfocitos citotóxicos (CTL, acrónimo del inglés *Citotoxic T lymphocyte*) del sistema inmune contra células peligrosas para el organismo, en la atenuación de la respuesta inmune tras una infección, etc. Este equilibrio entre proliferación y muerte puede romperse por diferentes estímulos, lo que altera la incidencia del proceso apoptótico, ya sea por incremento o bloqueo del mismo, que se vuelve entonces nocivo para la integridad de un organismo. Así, un incremento en la proliferación respecto a la muerte puede desencadenar un cáncer. Por el contrario, un aumento excesivo de muerte celular puede provocar un proceso degenerativo (Fig.3).

La pérdida de control sobre la apoptosis causa la enfermedad



Lo que no se podían imaginar los tres científicos Kerr, Wyllie y Curie de los años de las melenas, patillas largas, guitarra eléctrica y pantalón acampanado, es la revolución que supuso su descubrimiento en los conceptos de la biología de los años venideros, cuando se comprobó la enorme implicación que tenía este proceso en fenómenos patológicos. De hecho, años más tarde se confirmó experimentalmente la sugerencia formulada de que la apoptosis es un proceso activo e inducible, y así como durante la década de los años 70 el descubrimiento de la apoptosis durmió en el limbo, en los años 80 se encendió por fin

la luz en el ámbito de la medicina al examinar y reconocer su enorme implicación clínica, abriendo un camino en investigación básica aplicada sin precedentes. De hecho, el estudio de la muerte celular programada es uno de los campos de investigación que más rápidamente ha crecido en la historia de la ciencia, y en el que se pueden contar ya cientos de miles de artículos.

Al comprobar que el descontrol de la apoptosis podía jugar un papel importantísimo en la etiología de muchas patologías de diversas disciplinas (neurología, embriología y desarrollo, endocrinología, inmunología, cáncer, regeneración tisular, etc), la ciencia básica empezó a tener un grado de consideración mucho más importante a nivel social y político, implicando de lleno al científico de base directamente en la Medicina clínica y viceversa. Eran los comienzos de la biomedicina en los países más modernos, entre los cuales España tristemente no se encontraba. En los últimos 20 años se ha producido un avance colosal en este tema, dejando claro que el programa de muerte celular es esencial para el desarrollo y para la homeostasis de los tejidos del adulto de todos los animales pluricelulares.

El surgimiento de la muerte «inducida» y su sentido en la evolución

Una mente curiosa suele preguntarse cuándo comenzó la vida, pero nadie se pregunta cuándo empezó el invento de la inducción del proceso de muerte. La muerte por envejecimiento es un evento asociado a un proceso bioquímico de desintegración. Pero, la muerte «inducida» es otro cantar. Puede que suene a simplista y terrorífico a la vez, pero la muerte inducida es un remedio que surgió ante problemas de convivencia entre los seres más primitivos. Si hay algo que caracteriza a un ser arcaico es su avidez por la destrucción del vecino sin considerar la posibilidad de asociarse a él en lugar de matarlo. Por el contrario, lo que caracteriza a un ser evolucionado es su tendencia a la asociación para colaborar. No hubiese sido posible jamás la evolución de la vida sin la colaboración entre sus protagonistas. No podemos negar la importancia de la competición en la lenta evolución de los seres vivos,

pero hemos llegado a un punto en que competir hasta la muerte es sinónimo de primitivismo o simple estupidez. Si nos remontamos unos cuantos millones de años atrás, puede que más de 3.600 millones de años, las moléculas del caldo primitivo fueron «agrupándose»: algunas eran atraídas por el agua, otras eran repelidas por ésta y se unieron formando compuestos más grandes, como proteínas y los nucleótidos que son los componentes esenciales del ácido desoxiribonucleico o ADN y el ácido ribonucleico o ARN. Unas y otras comenzaron a «colaborar» para replicar el ADN donde residía un código para leer y copiar nuevas proteínas. Podríamos decir que en ese momento empezó la «vida». Las moléculas orgánicas se «asociaron» y aparecieron las primeras células, los procariontes. Y en ese momento también podemos decir que empezaron los problemas de convivencia.

No se sabe con certeza cuando aparecieron las primeras células sobre la Tierra, pero es posible establecer una cierta escala temporal. Los fósiles más tempranos encontrados hasta el momento que se asemejan a las bacterias actuales, datan de 3.400 a 3.600 millones de años atrás, ¡alrededor de 1.000 millones de años después de la formación de la Tierra! Muy probablemente, al mismo tiempo se crearon otro tipo de estructuras de enorme importancia para la evolución de los seres vivos: los virus y plásmidos. Estas partículas no constituyen en sí mismos seres vivos, pero son vehículos portadores de información genética de una relevancia enorme en el proceso de intercambio o aportación de genes entre las diferentes especies. Más tarde veremos la importancia singular que han tenido los virus en la evolución de los mecanismos de la muerte celular programada por las células.

Hay varias razones que apoyan el hecho de que la muerte celular programada (MCP) debió de emerger ya en los primeros seres unicelulares. La primera razón es que muchos seres unicelulares tienden a formar colonias y la aparición de un tipo de MCP debió aportar sus ventajas. En seres procariontes, como las bacterias, se ha descrito una regulación de la muerte celular en circunstancias en las que implica una competición por el nicho entre colonias como *myxobacterias*, *streptomices* y *Bacillus subtilis*. En una colonia bacteriana, la falta de nutrientes en el entorno hace que algunas bacterias se diferencien y transformen en esporas resistentes, esperando mejores momentos,

mientras que otras reciben una señal (orden) para morir. Cuando compiten por el control de los recursos del entorno algunas bacterias son capaces de matar a otras especies secretando toxinas como antibióticos (la estreptomocina), la toxina de difteria, colicinas,... que inducen la muerte de otra especie de bacteria mediante la generación de poros en su membrana, o incluso dañando el ADN a través de mecanismos directos o indirectos que implican a enzimas como las ADN girasas. La razón de que la bacteria que genera una toxina mortífera para otra bacteria no se mate a sí misma es que, al mismo tiempo, ella produce un antídoto contra la toxina. Pues bien, este antídoto y toxina parece que son originarios de un plásmido que la infectó en su momento, y que confirió a la bacteria esta propiedad tan beneficiosa para ella. Y a través de esta propiedad mata a todas las bacterias con las que compete.

De esta forma se generaron diferentes tipos de bacterias que portaban otros plásmidos con la toxina y el antídoto correspondiente de manera que se debió de iniciar un guerra bacteriana sin cuartel; probablemente ésta constituyó la auténtica «Primera Guerra Mundial», que todavía no ha concluido. Pero tal fue el éxito de la estrategia por el predominio de una especie bacteriana que incluso algunas bacterias pueden adoptar plásmidos que codifican para 3 o 4 antibióticos, confiriéndoles al mismo tiempo resistencia a los mismos. Así se han ido seleccionando bacterias resistentes a antibióticos. Un hecho que se ha convertido actualmente en un problema agravado por el uso abusivo de los antibióticos por los seres humanos. Ciertamente, la Naturaleza ya nos dio un aviso serio ante este problema cuando en el año 1968 murieron 12.500 habitantes de Guatemala tras sufrir una epidemia de la bacteria *Shigella diarrhea* que portaba un plásmido que confería resistencia nada más y nada menos que a 4 antibióticos.

La muerte «bactericida» surgió como una forma de controlar la sociedad bacteriana. Podemos imaginar unos tiempos difíciles para las bacterias, siempre atentas a la presencia de otra bacteria extraña. La competición y la lucha entre especies, y dentro de la misma especie, es un hecho muy repetitivo entre los seres vivos. Parece una ley de la Naturaleza. Sin embargo, unos 1.800 millones de años después de la aparición de vida celular, se produjo un acontecimiento evolutivo que

cambió el curso de la historia de la vida en la Tierra: la simbiosis. La cooperación entre células bacterianas y virus conformó la primera sociedad simbiote, la célula eucariota. Es increíble el tiempo que costó dar este paso tan «fortuitamente ingenioso»: ¡otros 1.800 millones de años después de la aparición de las bacterias! El ADN viral y el bacteriano contribuyeron probablemente a la creación de un núcleo protegido por una membrana. Otro tipo de bacterias, las aeróbicas, derivaron en las mitocondrias, y las fotosintéticas dieron lugar a los cloroplastos.

Esta fantástica teoría de la endosimbiosis fue promovida y defendida con el ardor y la provocación de quien se sabe con la razón del peso de la evidencia por la científica Lynn Margulis. No es fácil romper esquemas establecidos, y menos si eres mujer en la década de 1960. La teoría se basa fundamentalmente en la presencia de ADN y ribosomas propios de la mitocondria que, además, es capaz de dividirse independientemente del núcleo celular. Lo mismo ocurre con los cloroplastos. Tras más de 10 años de intentos fallidos de publicar sus trabajos sobre el origen de las células eucariotas, en el año 1967 Lynn Margulis consiguió que la revista *Journal of Theoretical Biology* le publicara su artículo «*Origin of Mitosing Cells*». Las reacciones en contra de su teoría no tardaron en aparecer dentro de la comunidad científica. A esta publicación siguieron más fracasos aparentes, pero la tenacidad, la fuerza y determinación casi testaruda de esta gran científica consiguieron que el tiempo le diera la razón, probando por fin el origen bacteriano del ADN mitocondrial, del cloroplasto, e incluso del núcleo eucariota, tan lleno de «evocaciones procariotas y virales».

Para Margulis, también defensora apasionada junto con Lovelock de la hipótesis de *Gaia*, la Tierra es un superorganismo en el que la evolución es el resultado de un proceso de «cooperación» y no de «competición». Y aquí es donde el proceso y el concepto de muerte cambian sustancialmente. No se puede matar al prójimo sin control si uno no quiere acabar completamente solo. Las sociedades celulares empezaron a tener sus ventajas al cooperar unas células con otras. Hasta donde nos puede informar el registro fósil, los primeros organismos pluricelulares hicieron su aparición hace 750 millones de años. Pero un evento tan fantástico como fue la endosimbiosis ocurrió gracias a

la simbiosis entre células eucariotas y células procariotas conservando su identidad pero colaborando entre ellas. Las células que conforman estas nuevas sociedades «multiétnicas» se encuentran organizadas según su función y especialización, actuando armónicamente. Llama la atención de nuevo el lapso de tiempo que trascurrió desde la aparición de una célula eucariota y la decisión de formar un ser pluricelular en todos los sentidos: nada más y nada menos que otros ¡1.050 millones de años! Se diría que a los seres vivos les cuesta colaborar entre ellos. Sin embargo, a partir de ese momento la evolución ya fue imparable y de una forma exponencial.

Los mamíferos constituimos un claro ejemplo de sociedades pluricelulares simbiotes. Si hacemos bien los cálculos, ¿podemos afirmar que somos realmente mamíferos? Nuestro organismo adulto contiene aproximadamente un total de 10 billones (10^{13}) de células «propias» de mamífero y un mínimo de 100 billones (10^{14}) de microorganismos, la mayoría bacterias. Es decir, podemos llegar a tener hasta 10 veces más procariotas que eucariotas. Sólo por cada centímetro cuadrado de piel poseemos del orden de 1.000 a 10.000 tipos de bacterias diferentes que no son patógenas a priori. En la boca y en la nariz conviven multitud de bacterias, levaduras, cándidas, etc. En el estómago y el intestino viven alrededor de 10.000 bacterias por gramo, *Lactobacillus*, que resultan extraordinariamente útiles para ayudar en la digestión de los alimentos que comemos. El intestino grueso posee hasta 100.000 millones (10^{11}) de bacterias anaerobias. Después de la pubertad, la vagina es colonizada por *Lactobacillus aerophilus*, que fermenta glicógeno para mantener un pH ácido y evitar las infecciones oportunistas. El tracto urogenital está poblado por bacterias difteroides, que conviven como simbiotes inocuos mientras no sobrepasen un número, en cuyo caso se tornarían patógenas. En general y aunque resulte curioso, la flora bacteriana normal que convive con nosotros, además de ayudarnos en algunos menesteres metabólicos, tiene otro objetivo: bloquear casi todos los nichos ecológicos disponibles en el cuerpo, produciendo bactriocidinas, defensinas y lactoferrinas, todas destinadas a destruir -«matar»- a otras bacterias que compiten por su nicho en nuestro cuerpo. Nuestros procariotas nos defienden de los invasores con malos propósitos. En definitiva, nos guste o no, somos simples seres simbiotes que aún tenemos más de procariotas que de

eucariotas en muchos sentidos. Quizá esto explique la mentalidad de algunos humanos que aún consideran necesarias las guerras fratricidas. Son los que podríamos llamar los humanos del tipo procarionte y, desgraciadamente, algunos llegan a ostentar puestos de poder y responsabilidad, frenando con su actitud primitiva el desarrollo de toda una sociedad.

Pero seamos más indulgentes con nuestra especie y tengamos en cuenta, no obstante, que al menos nuestras células conviven en aparente armonía dentro de nuestro cuerpo; en realidad, en nuestra sociedad celular moderna la mayoría de las células no «saben» luchar, ni mucho menos matar, y no sabrían defenderse ante un invasor. Ése es el problema de las sociedades civilizadas. Sus miembros son tan altruistas que sólo son capaces de suicidarse activando un programa para ello si consideran su presencia peligrosa para la sociedad. En realidad, los individuos de la sociedad celular «moderna» han perdido la facultad de lucha en aras de una especialización y esto conlleva un grave peligro, ya que esta «actitud civilizada» las hace fácilmente vulnerables a las posibles «invasiones bárbaras» (bacterias, protozoos, virus, etc.), que sí tienen la capacidad de matar individualmente de manera indiscriminada, sembrando el caos completo en la sociedad pluricelular.

Durante la evolución de los seres pluricelulares más complicados, se generó la necesidad de crear un sistema que supiera discernir cuándo, cómo y a quién hay que eliminar si es verdaderamente necesario. Es impresionante que las células modernas sean capaces de tomar la decisión de suicidarse activando un programa bioquímico latente que conduce a la muerte si su presencia supone un peligro para la sociedad celular. Pero más impresionante aún es la especialización de un tipo de células en inducir la muerte a otras células consideradas como peligrosas para preservar la «armonía social». Hablamos del sistema inmune. Es en este contexto donde la muerte celular programada o apoptosis cobra su sentido más sublime.

Premio Nobel de medicina y fisiología 2002: un reconocimiento social a una vida estudiando la muerte

Permítanme que haga un paréntesis en la historia biológica y explique un poco de historia de la ciencia contemporánea. Un ejemplo de cooperación, y no de competición, en el mundo científico fue el trabajo tan impresionante que realizaron los tres grupos de los científicos: Sidney Brenner, H. Robert Horvitz y John E. Sulston, cada uno desde su laboratorio. Por sus aportaciones en el desarrollo de órganos y muerte celular programada utilizando el nemátodo *Caenorhabditis elegans*, se les concedió el Premio Nobel en Fisiología y Medicina en el año 2002. Solamente desde 1980, a través de los estudios de Robert Horvitz, sobre la larva del *Caenorhabditis elegans* se introduce el término de Muerte Celular Programada, para definir un tipo de muerte por apoptosis para la cual es necesaria la expresión de genes capaces de regular la muerte de un número específico de células, en un momento dado, en un lugar concreto, y durante la vida de un organismo pluricelular.

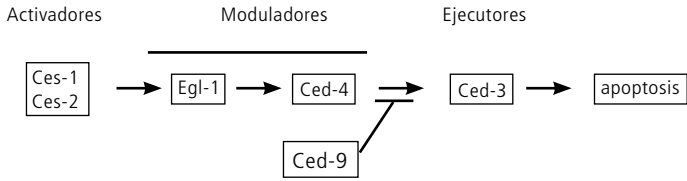
Este pequeño «gusanito» de tan solo 1 milímetro tiene la peculiaridad de ser casi transparente, fácil de cultivar y presenta un número definido de células (eutelia), lo que facilita enormemente el estudio de las diferentes etapas que caracterizan a un ser viviente: nacer, crecer, reproducirse, envejecer y morir. El trabajo de estos tres investigadores ha permitido que *C. elegans* sea el único organismo del que conocemos su número de células exacto: 1090 (de las cuales 131 entran en apoptosis), además del linaje de cada una de ellas, toda su red de conexiones nerviosas y la secuenciación completa de su genoma. Aún más trascendente es saber que los genes y redes reguladoras de *C. elegans* descritas por estos investigadores son homólogos a los de otros organismos incluyendo el ser humano, lo que ha permitido a su vez entender las bases moleculares de padecimientos como el cáncer y enfermedades neurodegenerativas.

El sudafricano Sydney Brenner y su grupo, que ya demostraron la existencia del ARN mensajero (ARNm) y los mecanismos de traducción de proteínas en los años 60, secuenció el genoma completo de *C. elegans*, el primero de un organismo multicelular. Esto hizo posible establecer las bases para el estudio de la apoptosis y propició un en-

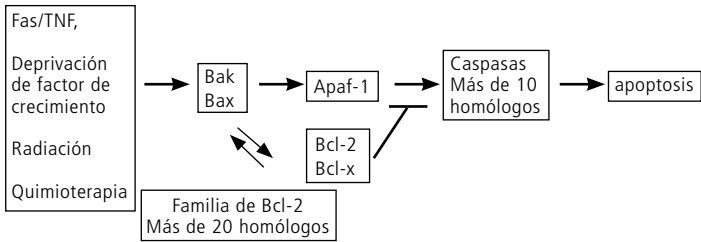
tendimiento más profundo de procesos patológico degenerativos en el ser humano. Desde luego, su trabajo también sirvió de base para la secuenciación del genoma humano.

El grupo de Robert Horvitz estableció que la muerte celular es un proceso biológico activo dependiente de la expresión de genes particulares cuyas proteínas juegan un papel central en la maquinaria de apoptosis del *C.elegans*. Las claves genéticas que controlan el linaje, señalización y apoptosis celulares son similares a las que están presentes en los procesos que ocurren en seres humanos. Al identificar dichos genes en *C. elegans*, Horvitz descubrió mecanismos de importancia trascendental en biología y medicina. Durante el desarrollo de *C. elegans*, más o menos el 15% de sus células somáticas mueren por apoptosis y son fagocitadas por células vecinas. Las investigaciones revelaron que la supervivencia o muerte de las células dependía de la expresión de cuatro genes (*ced-3*, *ced-4*, *ced-9*, *egl-1*) y genes que regulan la ingesta de las células muertas. Así, por ejemplo, la proteína *ced-3* es una ejecutora de la muerte y *ced-9* es una represora de la muerte. Estudios posteriores a estos descubrimientos demostraron que en humanos y en ratones la evolución ha hecho que estos genes se hayan diversificado de una manera conservadora (Fig.4), pero especializándose en funciones muy específicas cada uno, de forma que controlan el proceso de la muerte celular mediante tácticas matizadamente distintas en cada circunstancia. El gen *Bcl-2*, homólogo del gen *ced-9*, se consideró durante mucho tiempo como un proto-oncogen ya que se encontró sobreexpresado de forma anómala en el linfoma folicular, caracterizado por un lento crecimiento y por acumulación de linfocitos B maduros. Evolutivamente, el gen *Bcl-2* derivó en toda una familia que se compone de una serie de genes que codifican para proteínas que promueven la vida (*Bcl-2*, *Bcl-xL*, *Bag*, etc) y otras que promueven la muerte (*Bax*, *Bak*, *Bcl-xs*, *Bad*). El equilibrio entre las proteínas pro-supervivencia y las proteínas pro-apoptóticas determina el destino de la célula. Las proteínas de esta familia se encuentran expresadas en una gran diversidad de células durante el desarrollo y madurez de distintos organismos. Están asociadas a diferentes membranas celulares, como retículo endoplásmico y núcleo, pero sobretudo a la membrana de la mitocondria. Y esto tiene una importancia enorme. Todos los miembros de esta familia son capaces de formar dímeros alterando la

Regulación molecular de la apoptosis en *C.elegans*



Regulación molecular de la apoptosis en Mamíferos



funcionalidad de las membranas donde se encuentran, cambiando el potencial de membrana y facilitando la salida o entrada de iones, ya que estas proteínas son capaces de formar canales iónicos. Así, por ejemplo, los dímeros Bcl-2/Bcl-2 y Bcl-2/Bax mantienen el cierre de los poros mitocondriales, mientras que el homodímero Bax/Bax promueve la apertura de los canales, dejando «escapar» una serie de proteínas que serán las que realmente desencadenen y ejecuten la ruta bioquímica de la muerte celular.

John E. Sulston y su grupo contribuyeron al mapeo de las células de *C. elegans* y establecieron la tecnología para visualizar en tiempo real los eventos morfológicos del nematodo, incluyendo la apoptosis. De esta forma, lograron predecir el momento preciso en el que ocurren estos eventos, facilitando enormemente la selección de mutantes para comprender los mecanismos fundamentales de la apoptosis.

Los estudios de Brenner, Horvitz y Sulston, tres gigantes de la ciencia, nos alumbraron un camino que ayudó a desvelar aspectos importantísimos sobre cómo funciona el sistema inmune y el sistema nervioso,

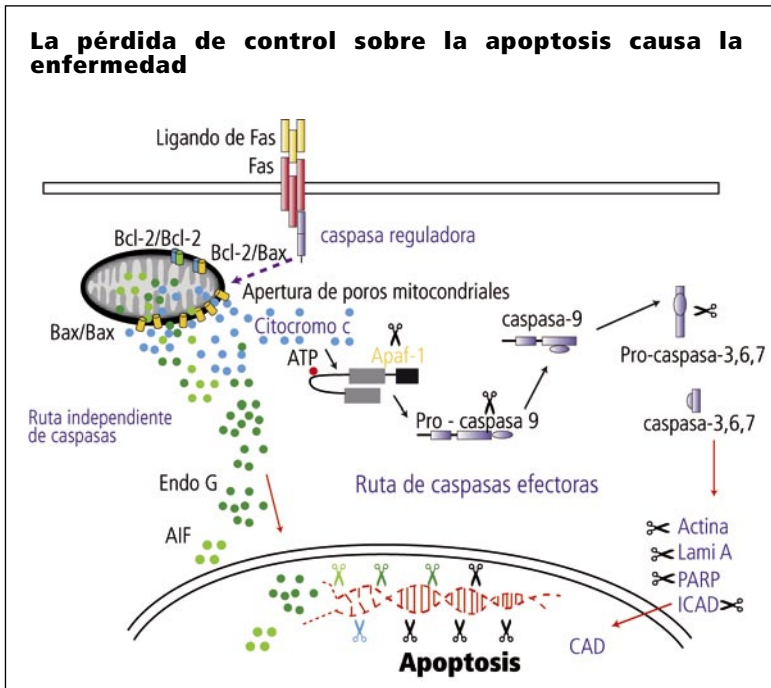
y la implicación del mecanismo de apoptosis en los diversos procesos fisiológicos y patológicos. En definitiva, gracias a sus trabajos sobre la biología de un simple nematodo se abrieron nuevas líneas de investigación que han ayudado a dilucidar las rutas moleculares que controlan la muerte celular con aplicaciones fundamentales para la salud. El Premio Nobel estaba realmente justificado.

Los caminos que conducen a la muerte celular programada: las caspasas

A principios de los años 90, poco sabíamos sobre cómo se iniciaba el proceso de muerte celular. Con las «pistas» que nos dejaron estos tres científicos, muchos grupos nos pusimos a trabajar en este tema y, como inmunóloga de base, para mí cobró una importancia enorme. Mucho antes de que aparezcan los cambios morfológicos que caracterizan el proceso apoptótico, diversas reacciones moleculares ya han iniciado vías bioquímicas de señalización como respuesta a estímulos apoptóticos específicos. Hoy se conoce que hay estructuras proteicas o receptores de membrana celular especializados para recibir su ligando y que transmiten una señal de muerte al interior de la célula. En otros casos, como veremos más adelante, la muerte se inicia por la inducción de poros en la membrana exterior de la célula diana e introduciendo enzimas que se encargarán de iniciar la ruta de apoptosis. Tanto en un caso como en otro, la ruta de muerte se activa y se transmite mediante la inducción de la proteólisis de proteínas específicas de esta vía y que se denominan caspasas, del término inglés *caspsases* (*cysteine aspartate specific proteases*).

Las caspasas -vocablo que se torna terrible en castellano- son proteasas que transmiten la señal de muerte actuando unas sobre otras en cadena y cortando, al final, las proteínas diana esenciales para la estructuración funcional de la célula. De esta manera la célula se «desintegra» literalmente en pequeños trozos. Los receptores de muerte, como el receptor Fas (CD95) o el Receptor para el Factor Necrosante de Tumores (TNFR, siglas de *tumor necrosis factor receptor*) transmiten la orden de muerte activando una caspasa «iniciadora» de la señal. De hecho, las caspasas iniciadoras se encuentran siempre cerca de la cola

intracitoplásmica de un receptor, a la que se pegan inmediatamente cuando éste es activado por su ligando. Este evento supone la activación por proteólisis de la caspasa, que trasmite la señal inicial de muerte a la mitocondria, el punto decisivo para seguir o no con el proceso (Fig.5).



Las llaves de la muerte están dentro de la caja de pandora: la mitocondria, recuerdos del pasado

Encajar la ruta de las caspasas con las proteínas de la familia de *Bcl-2* no está siendo una tarea fácil. Hoy sabemos que precisamente *Bcl-2* y *Bc-lxL* pueden ser sustratos de determinadas caspasas, de forma que al ser proteolizadas se convierten en proteínas de tipo *Bax*, cambiando su función de centinelas de la puerta del castillo a proteínas que facilitarían la apertura de los poros de la mitocondria para dejar salir al «monstruo».

En el año 1995, un jovencísimo Guido Kroemer formuló la hipótesis de que el control de la muerte por apoptosis residía en la mitocondria. Su aparente inexpresivo e inmutable carácter teutónico se confundió con una altanería que le costó no pocas críticas cuando defendió a ultranza su teoría «mientras nadie le demostrara lo contrario», como solía decir en sus charlas. Hasta ahora nadie ha podido. Era joven, inteligente, atractivo, y parecía tener argumentos, algo que según para qué sectores académicos puede resultar insoportable. En España, donde trabajó durante años en el Centro de Biología Molecular del CSIC, perdimos a un gran investigador cuando nuestro país vecino, Francia, supo ver en él a uno de los mejores «aplicadores» de la ciencia básica a la Medicina de estos últimos años, ofreciéndole una mejora en las condiciones laborales que en nuestro país, desgraciadamente para todos, parece imposible para muchos investigadores. La calidad y producción científica de Guido Kroemer hablan por sí mismas. Nuestra política científica durante muchos años, también.

Pero volvamos a la mitocondria y la MCP. Como vaticinó Kroemer, la inducción de MCP en eucariotas depende de la permeabilización de la membrana externa de la mitocondria, custodiada por proteínas de tipo Bcl-2 y asediada por las proteínas de tipo Bax. Cuando se abren los poros de la mitocondria, se permite así la salida de proteínas al citosol como el Citocromo C, una proteína que ejerce dos funciones: una para la supervivencia dentro de la mitocondria, actuando como una proteína indispensable para la fosforilación oxidativa, la producción de ATP y producción de energía; y otra en la puesta en marcha de las caspasas ejecutoras, activando Apaf-1 una vez que sale fuera de la mitocondria (Fig. 5). El efecto final de las caspasas ejecutoras es la proteólisis de las proteínas del citoesqueleto (actina), o de las enzimas que se especializan en degradar el ADN y que se activan al ser proteolizadas (CAD, *caspase activated DNAase*), o de enzimas reparadoras del ADN (PARP, *Poly ADP ribose polymerase*) que pierden su función al ser cortadas. De esta manera se transmite la señal de muerte en cadena. Al inducir la MCP, además del Citocromo C, también salen de la mitocondria otras proteínas implicadas en la transmisión de la señal de muerte como Smac/Diablo, AIF, la Omi/HtrA2 y endonucleasa G. Esta última desempeña un papel importante en la replicación del ADN mitocondrial, pero una vez fuera de la mitocondria induce muerte independientemente de las caspasas provocando cortes en el ADN. En

definitiva, la salida de todas estas proteínas de la mitocondria sería comparable a la situación de «la bestia anda suelta».

Pero no todo está perdido. Así como los receptores de tipo Fas inducen la ruta de apoptosis otros, en cambio, transmiten una señal que impide que los poros mitocondriales se abran, básicamente induciendo una sobre-expresión de proteínas como Bcl-2 o Bcl-xL. Así se puede interceptar una orden de muerte. Estos receptores son esencialmente receptores para hormonas o factores de crecimiento como los receptores para las interleuquinas (proteínas solubles del sistema inmune), hormona del crecimiento, hormona prolactina, factor de crecimiento del hepatocito, etc. En definitiva, factores de crecimiento que preparan a la célula para entrar en ciclo celular y dividirse, impidiendo que cualquier señal de muerte siga su ruta.

Aunque los genes que codifican las proteínas de muerte retenidas en la mitocondria están localizados en el genoma nuclear de la célula, si volvemos la mirada atrás nos viene el recuerdo de la forma que tienen las bacterias de matarse unas a otras formando poros en sus membranas. Es muy probable que algunos de estos genes provinieran de la «mitocondria ancestral», ya que existen homólogos en bacterias. De hecho, algunos dominios de la familia de *Bcl-2/Bcl-X/Bax* que están implicados en el control de la formación del poro en la membrana mitocondrial están muy relacionados con la toxina de difteria y colicinas. La transferencia progresiva de genes esenciales para la regulación de la MCP desde la mitocondria ancestral al núcleo de la célula eucariota pudo representar un importante paso evolutivo en la participación de la mitocondria en la autodestrucción celular.

El sistema inmune: licencia para matar y permiso para suicidarse

En la sociedad pluricelular debe existir un sistema que ejerza un «control social» de una forma objetiva, con capacidad para actuar de forma contundente, y que vele por el bien de la comunidad. El sistema inmune surge en la evolución como el garante de la integridad social

celular. Como se comentaba al principio de este capítulo, el programa de muerte es inherente a prácticamente todas las células eucariotas, y su activación depende de la ausencia de un inhibidor, normalmente una señal de crecimiento. Es decir, la muerte se activaría por inanición. Este fenómeno es extraordinariamente útil para evitar el problema que acarrearía la ubicación de una célula en un compartimento erróneo. Al no encontrar las señales de supervivencia de su entorno, moriría. Uno puede imaginarse el desastre que supondría que esto no fuera así. De hecho, cuando no ocurre estamos ante un fenómeno patológico. Cuando esto se produce, se dispara una alarma que alerta de este desequilibrio, activando un sistema que impone orden de nuevo. Sólo el sistema inmune posee células con «licencia para matar», pero de forma discriminada. Necesitaríamos todo un tratado para explicar el funcionamiento del sistema inmune, y aún así no podríamos contar todo. Pero sin pretender tal meta, permítanme que trate de plasmar varios conceptos de forma sencilla que nos ayudarán a entender la importancia del fenómeno de la MCP en la función inherente al sistema inmune y sin el cual nuestra vida como seres pluricelulares sería imposible tal y como está concebida.

Las reflexiones de la científica Polly Matzinger se deben tener en cuenta a la hora de explicar el funcionamiento normal y patológico del sistema inmune. Esta científica cuestionó que el sistema inmune realmente discriminara lo propio de lo no propio, ya que la respuesta a la pregunta de ¿por qué el sistema inmune a veces ataca a nuestras propias células?, o ¿por qué no reacciona contra nuestras bacterias?, no era del todo satisfactoria. Polly Matzinger defendió la hipótesis de que el sistema inmune periférico sólo reacciona ante la amenaza de «¡Peligro!». Si el que convive con nosotros o nos invade nos hace daño, el sistema inmune lo atacará hasta eliminarlo sin piedad. Si no «nos molesta», probablemente el sistema inmune ni lo verá. La entrada de microbios invasores como los virus o bacterias induce en muchas ocasiones necrosis en nuestras células y no apoptosis. La necrosis es un peligro, ya que se produce una salida del contenido celular, con proteínas intracelulares extrañas para los linfocitos, lo que provoca una reacción inflamatoria y por tanto una atracción de células fagocíticas y linfocitos del sistema inmune. Los linfocitos no sólo reaccionan entonces ante antígenos exógenos, sino que también lo hacen frente

a antígenos propios que nunca han estado expuestos: ADN, proteínas nucleares (histonas, enzimas, ciclinas), proteínas ribosomales, etc. Esto provocará la aparición de anticuerpos contra proteínas del microorganismo invasor, pero también de autoanticuerpos. Además del fenómeno de mimetismo molecular de proteínas virales, ésta es otra de las razones por las que se relaciona con frecuencia la infección viral con la aparición de una enfermedad autoinmune.

Pero, por otra parte, la apoptosis es el mecanismo mediante el cual actúa el sistema inmune sobre sí mismo para autocontrolarse. En este aspecto, la apoptosis actúa a dos niveles. Por un lado se desencadena en masa en el momento de seleccionar negativamente a los linfocitos autorreactivos, durante su desarrollo ontogénico dentro de la médula ósea en el caso de los linfocitos B, o dentro del Timo cuando se trata de los linfocitos T. Por otra parte se produce después de finalizar una reacción inmune, cuando el sistema comienza un proceso de auto-destrucción con el fin de atenuar una respuesta ya no necesaria. En el primer caso bien podríamos hablar de un suicidio colectivo pero, en el segundo caso, los linfocitos se matan unos a otros, literalmente, por lo que estaríamos ante un caso de auténtico «fratricidio» en masa.

Si uno lo analiza con detenimiento parece que el destino de un linfocito es morir. Bien mirado, sería hasta lógico. Un linfocito es un misil que, si es disparado de forma incontrolada puede provocar un desastre monumental como, por ejemplo, una reacción autoinmune. Aunque resulte paradójico, es en realidad el receptor para el antígeno (en inglés *T cell receptor*, TCR) el que inicia la señal de apoptosis. Así, el 99% de los linfocitos no llegan nunca a madurar porque mueren por apoptosis al reconocer su antígeno a través del TCR (en células T) en los compartimentos del timo, o a través del BCR (de B cell receptor, en células B) en la médula ósea y el bazo fundamentalmente. Las células que enseñan el antígeno a los linfocitos T (en inglés: *Antigen Presenting cells*, APC), lo hacen a través del receptor denominado Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). En definitiva, se tiene que producir un puente de unión entre célula y célula mediante el trío TCR-Antígeno-MHC. Con casi total probabilidad, los antígenos presentados en el timo o en la médula ósea serían de origen endógeno. De esta forma, se eliminarían en principio los linfocitos autorreactivos.

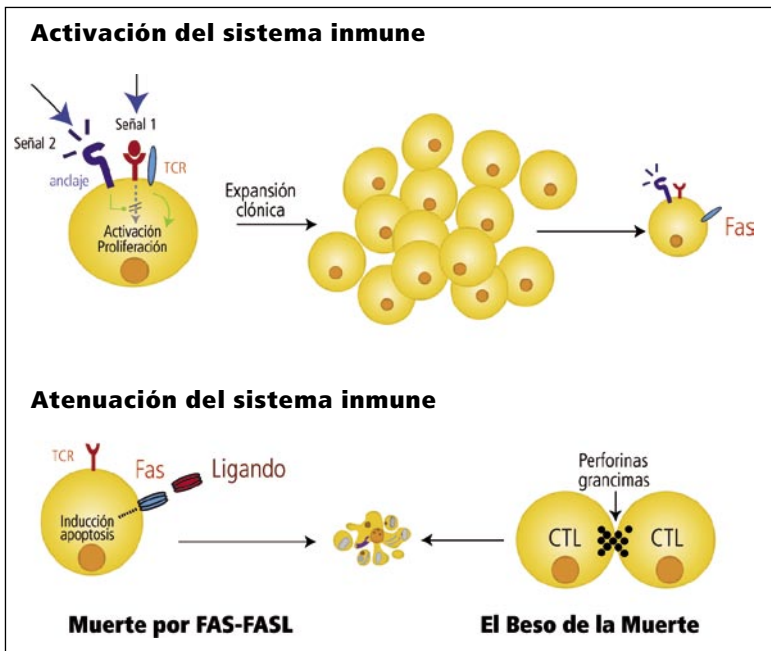
Se cree que los linfocitos que salen a la periferia, ya en su estado maduro, o no han «visto» un antígeno o, si lo han hecho, ha sido de forma «borrosa», es decir, sus TCR no son específicos del todo para ese antígeno, y por tanto la señal que puede transmitir el receptor antigénico es insuficiente para inducir su muerte. Pero una vez en los tejidos linfoides periféricos, el linfocito muere por apoptosis al cabo de unos días si no encuentra el antígeno que lo active de la «forma correcta» que veremos a continuación. En realidad, el linfocito está ya preparado para morir desde que nace y, cuando reconoce a su antígeno, simplemente se adelanta el momento de su muerte. Parece una incongruencia, pero todo tiene su explicación si uno acepta lo que ve en sus resultados experimentales y analiza por qué.

Uno de los mejores inmunólogos teóricos que ha existido en la ciencia del siglo XX, el profesor Melvin Cohn del Salk Institute, en La Jolla, dio con una de las claves que explican cómo funciona el sistema inmune. Para que el linfocito no muera en la periferia al encontrar su antígeno que dispara la señal de muerte (señal 1), debe de recibir otra señal que intercepte esta ruta de apoptosis (señal 2). Esta segunda señal procede de correceptores o coestimuladores presentes en el linfocito, que deben encontrar a su vez su ligando en la célula APC. Es decir, de la misma forma que ocurre en un submarino nuclear, para lanzar un misil se necesita una orden del capitán y la confirmación de tal orden del segundo comandante: orden y confirmación, dos llaves.

Veamos con más detalle la teoría de la señal 1 y la señal 2. Una APC puede engullir una célula defectuosa que se suicida por apoptosis bien por toxicidad de un producto ingerido (hepatocitos en apoptosis por la ingestión de alcohol), o bien por una infección viral. La célula engullida es troceada con o sin microorganismo, y todos sus «trozos» (antígenos) se presentan a los linfocitos a través del MHC. El TCR del linfocito envía una señal al reconocer su antígeno (señal 1) al mismo tiempo que sus correceptores se unirán a los ligandos presentes en la célula APC (señal 2). La señal 2 intercepta la ruta de apoptosis y deja entonces vía libre a una señal de proliferación antes enmudecida y que depende directamente del TCR. El linfocito entra en un proceso de proliferación casi imparable como si de un ejército clónico se tratara. Como mencionaba antes, un linfocito activado por un APC es un mi-

sil de largo alcance que puede llegar al lugar donde se ha producido un daño o una infección viral.

Y ahí está el «quid» de la cuestión: ¿cómo distingue el linfocito clónico enviado a una célula sana de una enferma si éstas presentan los mismos antígenos en su superficie? Una célula sana no suele exponer ligandos para los correceptores del linfocito, de manera que si presenta algún antígeno en su membrana al linfocito se inducirá inexorablemente la señal de muerte del linfocito a través de la activación de su TCR, ya que esta vez no hay señal 2 posible que la salve. Es propiamente un *barakiri*. Y ahora viene lo más interesante: la presencia de un virus en una célula induce la expresión de ligandos en su superficie que se unirán a los correceptores del linfocito «clónico». Si el linfocito activado vuelve a reconocer al antígeno (señal 1) que estimuló su proliferación clónica, con la ayuda del anclaje de los ligandos (señal 2) expresados en la célula infectada, comenzará un proceso de inducción de la apoptosis, pero esta vez de la célula infectada por un mecanismo que se ha denominado el «beso de la muerte», porque literalmente parece que el linfocito besa a la célula atacada. Esta es una verdadera



inducción de muerte a otra célula, ya no se trata de un suicidio. Los linfocitos T citotóxicos (CTL) son la barrera inmunitaria primordial contra las infecciones virales y el desarrollo tumoral. Una vez anclada a la célula diana (a través del puente TCR -Antígeno- MHC y del puente formado por los correceptores-ligandos), la CTL es capaz de matar a células infectadas o tumorales utilizando dos mecanismos: la expresión del ligando para el receptor Fas (FasL) y la secreción de gránulos que contienen proteínas citotóxicas. Es precisamente la presencia de virus la que induce además la expresión del receptor de muerte Fas en la célula infectada; es una autodefensa perfecta para que el virus no se expanda al resto de la comunidad celular. Además del ligando para Fas, la CTL, mediante enzimas específicas, genera poros en la célula diana, dentro de los cuales deposita otras enzimas activadoras de caspasas. Las primeras se conocen como perforinas y las segundas como granzimas. Se inicia así la ruta de apoptosis de la célula diana. No hay escapatoria.

Hoy en día la teoría de la señal 1 + señal 2 está bastante aceptada y demostrada por la comunidad científica, y se explica en los libros de consulta y tratados de fundamentos de inmunología modernos. Las teorías y conceptos desarrollados por el Profesor Cohn han arrojado una luz muy esclarecedora sobre los procesos que utiliza el sistema inmune para evitar la autorreactividad en la periferia y reconocer al invasor destructivo. Pocos estudiantes de biología han podido contar con profesores de intelecto tan valioso como Cohn; además de disfrutar de sus charlas científicas, personalmente he tenido la inmensa suerte de estar entre sus alumnos y de haberme empapado de sus conocimientos y de su gran humanidad. Pero el mejor legado que deja el viejo profesor a sus alumnos es su contagio de la libertad de expresión del pensamiento y de la creatividad.

Atenuando la respuesta inmune

Pero ¿qué hacer con todos esos linfocitos activados de forma frenética cuando el peligro ha terminado? Al finalizar una respuesta inmune la mayor parte de los linfocitos T activados ya no son requeridos.

Solamente unos pocos se transforman en «células memoria» capaces de responder cuando se estimulan con el mismo antígeno en otra ocasión. La gran mayoría se suprime a través de procesos de eliminación periférica, con el fin de mantener una homeostasis en el sistema inmune (Fig. 6). Los linfocitos poseen en su superficie tanto el Fas como el FasL anclados en la membrana, y de esta forma pueden eliminarse unos a otros, e incluso autoeliminarse cuando «sueltan» el ligando de Fas. Pero lo más interesante es que el receptor Fas no tiene vía libre par inducir la muerte del linfocito mientras el TCR esté enviando una señal de proliferación y respuesta matadora. Es precisamente cuando la función del linfocito ha terminado que éste se deja matar por un congénere a través de Fas-FasL. Pero el sistema del «beso de la muerte» también es muy común entre los linfocitos a la hora de eliminarse en cadena secretando granzimas y perforinas. En realidad, en este caso se debería hablar del «beso de judas».

El interferón: la bestia negra de los virus

Uno de los sistemas más evolucionados e interesantes para matar a las células infectadas por virus en una sociedad pluricelular es el sistema del interferón. Que los virus, bacterias y células eucariotas están todavía a la greasca es un hecho. Los intentos de asociación o competición entre ellos a veces tienen resultados dramáticos. El sistema del interferón es una de las estrategias más astutas desarrolladas por la naturaleza para evitar la expansión de un virus invasor en un organismo pluricelular. Cuando el sistema inmune se percata de la presencia de virus en el organismo, los macrófagos, linfocitos, y en general muchas células del organismo pueden secretar interferón. Esta proteína induce una señal a través de su receptor, presente en la superficie de la mayoría de las células, que conduce a la traducción de dos proteínas cruciales en la defensa antiviral. Una es la PKR (acronismo del inglés *protein kinase R*) y la otra es la OAS (2', 5'-*Oligoadenylate synthetase*). La inducción de estas dos proteínas se produce siempre en su forma inactiva, ya que son auténticas bombas de relojería en su estado activo. La activación de la PKR tiene como consecuencia la inhibición de la síntesis de proteínas, y la activación de la OAS provoca la degradación del ARN celular. Como consecuencia, la célula sufre un colapso bioquímico y muere.

Pero ahora viene lo más extraordinario. Las células «tocadas» por el interferón están de esta manera en estado de alerta. Sólo la presencia de ARN de tamaño pequeño es capaz de activar la PKR y la OAS, es decir, ¡la presencia de ARN viral! De este modo sólo se suicidan las células infectadas antes de que el virus se replique. Las demás se mantienen en estado de alerta máxima.

La apoptosis en la salud y en la enfermedad

Hemos visto para qué sirve la apoptosis en condiciones normales. Pero, tras lo expuesto, uno puede imaginarse lo que ocurriría si el programa de muerte celular tuviera un fallo en la transmisión de su señal. Los virus tienen mucho que ver en estos aparentes fallos. Ellos tienen su manera de evadir, sortear la apoptosis, para su beneficio, porque precisamente usan armas extremadamente parecidas a las de nuestras células para engañarlas y cambiar una ruta de apoptosis por una de proliferación y viceversa. Cuando esto ocurre sobreviene la

Enfermedades asociadas a la pérdida de control sobre la apoptosis	
Inhibición de la apoptosis	Inducción de la apoptosis
<p>1. Cáncer linfomas foliculares, Burkitt carcinomas asociados a la mutación p53 cáncer de piel: UV tumores dependientes de hormonas cancer de mama cancer de próstata cancer de ovario</p> <p>2. Autoinmunidad: fallo en eliminación de linfocitos autorreactivos lupus eritematoso sistémico glomerulonefritis mediada por el S.I. Síndrome proliferativo autoinmune (ALPS). Síndrome de FHL infantil</p> <p>3. Infecciones virales Herpexvirus Posvirus Adenovirus Hepatitis C</p>	<p>1. Enfermedades neurodegenerativas Alzheimer Parkinson esclerosis amiotrófica lateral retinitis pigmentosa degeneración cerebelear</p> <p>2. Síndromes mielodisplásico anemia displásica</p> <p>3. Daño isquémico infarto de miocardio apoplejía daño por reperfusión</p> <p>4. Daño tóxico inducido en el hígado alcohol, drogas, virus</p> <p>5. Infecciones virales SIDA hepatitis</p>

enfermedad. No en todas las enfermedades donde fallan los procesos de apoptosis están implicados los virus, pero hay que reconocer que en muchas de ellas la sospecha de la presencia vírica está presente en la mente de muchos oncólogos y virólogos.

Cuando el proceso de apoptosis está inhibido

Los posibles fallos en los sistemas de autoeliminación de linfocitos para atenuar la respuesta inmune desencadenan graves enfermedades autoinmunes. Tal es el caso del Síndrome de FHL infantil (linfocitosis hemofagocítica familiar), en el que se produce una expansión incontrolada de CTLs, que no son capaces ni de acabar con una infección ni tampoco de autoeliminarse a través del «beso de Judas». La causa de esta enfermedad tan grave, que acaba con la vida del niño que la padece, es una mutación en el gen de la perforina.

El cáncer es la consecuencia del aumento de la proliferación celular incontrolada, acompañado de una incapacidad para activar el programa de muerte celular. Por tanto, el principal objetivo de la quimioterapia consiste, por un lado, en frenar el crecimiento de estas células y, por otro, en inducir su muerte. Para lograr este objetivo es imperativo conocer con exactitud los mecanismos moleculares involucrados en esta patología de múltiple etiología. Para hacernos una idea de la complejidad del origen del cáncer, basta decir que las rutas bioquímicas que conducen a la proliferación pueden ser compartidas muchas veces por varios receptores que reciben a factores de crecimiento distintos. Lo mismo ocurre con las vías bioquímicas que conducen a la apoptosis. Basta que una de las moléculas de señalización de la vía de apoptosis o proliferación esté mutada para que se pueda inhibir la muerte celular inducida por varias vías. Como resultado, provoca una acumulación de un tipo de célula, o mantiene a la célula en estado de entrada en ciclo celular continuo en ausencia de factor de crecimiento. En el primer caso, la inhibición de muerte no implica necesariamente un cáncer, pero éste podría desarrollarse si la inhibición de la apoptosis deja paso libre a la vía de proliferación activada desde un receptor de crecimiento estimulado a destiempo. Tal es el caso de las mutacio-

nes del gen *Bcl-2* que inducen una expresión anormalmente alta de su proteína. Estas mutaciones tienen una relevancia importantísima en el desarrollo de linfomas. La expresión alta de *Bcl-2* en células B prolonga su vida, provocando además que produzcan cantidades enormes de anticuerpos, y como consecuencia se produce daño en el riñón (glomerulonefritis) por el acumulo de inmunoglobulinas. Pero la peor consecuencia se produce al interferir en la selección negativa de los linfocitos, ya que impidiendo su muerte durante su desarrollo ontogénico en la médula ósea o en el timo se puede facilitar la salida de linfocitos autorreactivos a la periferia. Otro ejemplo lo constituyen los niños que sufren una mutación, bien en el gen del receptor *Fas* o bien en el gen de su ligando. Tras una respuesta inmune, los linfocitos de estos niños no son suficientemente eliminados. Esto trae como consecuencia la acumulación de linfocitos, el ensanchamiento del bazo y la presencia de adenopatías, generando finalmente un complejo desorden inmunológico como, por ejemplo, el Síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS). Otro caso es la sobreexpresión incontrolada de la molécula FLIP debido a una mutación en su gen. FLIP interviene en los procesos que controlan la señal de muerte inhibiendo las caspasas iniciadoras de la señal de muerte. Su expresión incontrolada provoca la acumulación y proliferación de melanocitos, y está relacionado con la aparición de melanoma.

Otra proteína de gran relevancia en el cáncer es p53. La proteína nuclear p53 es un factor de transcripción netamente supresor de tumores por excelencia porque, ante cualquier daño detectado en el ADN por sustancias cancerígenas o radiación, la célula ordena la expresión de su gen. Funciona para prevenir el crecimiento celular descontrolado y provoca la parada del ciclo celular en la fase G₁, induce la reparación del ADN y, si no es posible, es capaz de inducir a la célula a entrar en apoptosis mediante la orden de transcripción de genes específicos para la muerte. Sin embargo, el gen p53 es el más frecuentemente mutado en el cáncer. La proteína p53 mutante anómala puede adquirir capacidad de transformación celular por sí misma. En varios cánceres humanos se han descrito cambios anormales en el patrón de metilación del ADN de la región promotora de varios genes importantes que controlan el funcionamiento celular normal. Uno de los genes afectados por este cambio de metilación del ADN es precisamente

el p53, y ésta anomalía supone el silenciamiento de su expresión y el peligro de la generación de un cáncer se hace inminente.

La mayor parte de las drogas utilizadas en terapias contra el cáncer causan la muerte de la célula tumoral vía apoptosis. Algunas drogas utilizadas en quimioterapia inducen la expresión tanto de Fas como de su ligando en las células tumorales. Otros mecanismos mediados por drogas inducen la alteración de la función mitocondrial induciendo la activación del proceso apoptótico. Otras están dirigidas a reparar el proceso de hipermetilación o hipometilación del ADN que silencia o activa la expresión de determinados genes. Sin embargo, desgraciadamente solo unos pocos tumores son sensibles a quimioterapia. Por consiguiente, la presencia o desarrollo de resistencia a la quimioterapia por parte de un tumor constituye un importante problema clínico y un reto para la investigación básica aplicada.

Como se mencionaba anteriormente, los virus han desarrollado también sistemas, no sólo para burlar el proceso de suicidio celular, sino para manipularlo en su beneficio. Algunos retrovirus y virus de ADN están implicados en la etiología de diversos tipos de cáncer. Así, por ejemplo, el virus de la hepatitis B está asociado al cáncer de hígado, el virus de Epstein-Barr se asocia al linfoma de Burkitt y carcinoma nasofaríngeo; el virus HTLV-I se asocia a una forma de leucemia, el virus del papiloma humano se asocia al cáncer cervical, el citomegalovirus es el causante del sarcoma de Kaposi y los virus de las verrugas de la piel parecen ser responsables de algún tipo de cáncer de piel. ¿Cómo lo consiguen? Para controlar la maquinaria apoptótica de la célula, los virus pueden inducir la expresión de proteínas propias en la célula huésped que, curiosamente, se parecen mucho a las que intervienen en la inhibición de la señal de muerte. Una de estas proteínas es CrmA, un inhibidor de las caspasas, presente en el virus bovino pox. Otros virus codifican en sus genes proteínas que presentan homología con los miembros de la familia Bcl-2 (virus EBV, KHSV, H saimiri) o FLIP (virus del Herpes), interfiriendo en la vía de apoptosis según su conveniencia. El virus de la hepatitis C tiene la propiedad maquiavélica de interceptar la señal inducida por el interferón desde su receptor, de tal manera que las células se hacen refractarias a este tratamiento. Esta es la razón de que muchos pacientes de hepatitis C no respondan al tratamiento con interferón.

Hasta tal punto son parecidas algunas proteínas virales a nuestras proteínas controladoras del programa de apoptosis que no sabemos con certeza si en realidad la célula eucariota incorporó en su día estos genes de origen viral, si fue al revés, o si ambas posibilidades son ciertas. En cualquier caso, es muy probable que los virus hayan desempeñado un papel fundamental en la incorporación de estos genes de una especie a otra, adaptándolos a las rutas que controlan la muerte celular y participando activamente en la evolución de los sistemas bioquímicos del control de apoptosis. El estudio de las estrategias virales constituye, por tanto, una importante herramienta para la comprensión de los mecanismos moleculares que modulan el proceso de apoptosis en mamíferos.

Cuando el proceso de apoptosis está activado de forma permanente.

La activación incontrolada del programa de muerte puede tener consecuencias catastróficas al inducir procesos degenerativos tisulares que conducen a la muerte del organismo completo. En muchas ocasiones, las patologías asociadas al descontrol del proceso de muerte están relacionadas de forma clara a una infección viral. En otras, la intervención de un virus de origen desconocido está bajo sospecha. Tal es el caso de algunas enfermedades degenerativas de etiología aún desconocida como la neuritis óptica o la esclerosis múltiple. Resulta curioso que en ésta última la administración de IFN atenúe en algunos sujetos el curso de la enfermedad. La sospecha de la implicación de una infección viral desconocida en esta enfermedad está en la mente de muchos neurólogos.

En el caso de la infección por el virus del SIDA (HIV), la enfermedad trae consigo la pérdida de linfocitos T que expresan la molécula CD4. El hecho de que el número de células productivamente infectadas por el virus sea relativamente bajo implica que la depleción de células T puede también afectar a las células no infectadas. El virus HIV expresa moléculas capaces de inducir mecanismos apoptóticos en estas células T. Una de estas moléculas es la proteína viral TAT, la cual es secreta-

da por las células infectadas con HIV y puede penetrar en las células no infectadas incrementando así la estimulación de la expresión del ligando para Fas en las células afectadas facilitando la apoptosis vía receptor Fas. Otra molécula del HIV es la proteína Vpr, que se une a una de las proteínas mitocondriales que controlan la apertura de poros, facilitando la señal de muerte. La molécula gp120 del virus del HIV es una proteína que se une directamente al receptor CD4 de células T, que es precisamente una de las «amarras» de las que se sirve el linfocito para abrazarse al receptor MHC de la célula diana. Esta unión resulta fatídica para el linfocito, pues induce la ruta de apoptosis. No debemos pensar que el HIV mata porque sí. En realidad estamos ante un mecanismo de defensa del huésped que ha tardado millones de años en desarrollarse y que a veces tiene sus fallos. La intención de la célula es suicidarse ante la presencia de un virus en su interior. La intención de un virus no puede ser matar sin antes haberse aprovechado de la maquinaria celular para la replicación de sus partículas. Los virus utilizan receptores celulares de forma advenediza para entrar en la célula huésped. La molécula gp120 del virus se une fortuitamente a un receptor celular que precisamente tiene que ver con la presentación de Antígeno al TCR y por tanto con la señal 1. Al unirse al CD4, tan próximo físicamente al TCR, el linfocito emite una señal incongruente que se confunde con la señal 1 y conlleva irremediablemente a la célula T a entrar en apoptosis. No hay señal 2 que la salve, y por consiguiente la célula se suicida. Esta es la razón de que se produzca una depleción importante de linfocitos T CD4+ en los pacientes con SIDA. La fatalidad del caso del virus HIV consiste, precisamente, en que las células a las que induce el suicidio son aquellas que nos tendrían que defender de otros agentes patógenos, de manera que deja al organismo sin defensa posible y termina destruyéndolo.

Conclusiones

¿Pueden imaginarse ahora una vida pluricelular sin la muerte celular programada? ¿Y sin nada que la controle? La muerte programada es un proceso exquisitamente controlado en los organismos pluricelulares, fundamental para mantener un equilibrio social entre sus componen-

tes. Cualquier alteración en este proceso podría suponer la muerte de la sociedad y, a veces, el aborto de un ser incipiente. Todavía hoy nuestros organismos sufren los intentos de ser colonizados por «hordas bárbaras», con las que, o bien se llega a un acuerdo, o se eliminan de forma fulminante, o acaban con nosotros. Este proceso ha tardado millones de años en establecerse y es el resultado de muchas luchas e intentos de asociación entre nuestras células procariotas, eucariotas, virus y plásmidos con los que compartimos multitud de genes. No debemos olvidar, después de todo, que los seres pluricelulares debemos mucho a los virus y bacterias cuando, de forma fortuita, nos dieron lo mejor de su sociedad primitiva: la endosimbiosis. Nuestro organismo sigue evolucionando de acuerdo con las leyes del control social impuesto por un sistema inmune que sigue perfeccionándose. De igual manera, los humanos debemos aprender a cooperar y vivir en simbiosis con nuestro entorno y nuestros congéneres. No podría ser de otra forma, porque si nos comportamos cual bacterias primitivas preocupadas por competir por el nicho no sólo no habremos evolucionado un ápice desde hace millones de años, sino que posiblemente estemos abocados al autoexterminio más estrepitoso, lanzándonos toxinas a diestro y siniestro.

En el campo de la biomedicina queda mucho por hacer, y en estos difíciles días para la sociedad humana el trabajo de los laureados Nobel nos invita a reflexionar sobre nuestro futuro y costumbres como investigadores y como seres humanos. Brenner, Horvitz y Sulston compartieron singular y generosamente una gran cantidad de datos, información y materiales útiles para sus investigaciones sobre *C. elegans* desde el Instituto Salk, el Instituto de Tecnología de Massachusetts (M.I.T.) y el Consejo de Investigación Médica (MRC), lo que permitió un rápido y profundo avance en su campo y llevar a alturas insospechadas el conocimiento sobre la biología de un simple nematodo terrestre. Hay que considerar que ellos permanecieron con apoyos substanciales dentro de una investigación eminentemente básica que apenas ahora rinde frutos con aplicaciones fundamentales para la salud, con los grandes beneficios económicos correspondientes a las instituciones que los hospedan. Así, estos premios Nobel no sólo reflejan sus importantes contribuciones a la ciencia, también inciden sobre la gran importancia de la investigación básica, la continuidad

del apoyo a la investigación y, más que nada, exaltan el espíritu de colaboración que debe primar en cada científico.

Después de todo, la cooperación parece una tendencia en la evolución de los seres vivos, pero no olvidemos que el control selectivo y contundente sobre la eliminación de un elemento nocivo para la sociedad es crucial para conseguir el equilibrio social. La clave para mantener una sociedad celular en armonía está en la nobleza de suicidarse si es menester para preservar el «bien social», y en la vigilancia que ejerce el brazo ejecutor de la ley celular, el sistema inmune, el único con «licencia para matar» de forma programada.

PARA SABER MÁS



Ameisen, J.C. "On the origin, evolution, and nature of programmed cell death: a timeline of four billion years. *Cell Death and Differentiation*, 2002, 9(4): 367-393.

Gallucci S, Matzinger, P. Danger signals: SOS to the immune system. *Curr Opin Immunol*. 2001 Feb, 13(1):114-9.

Green, Douglas R. and Kroemer, Guido. Pharmacological manipulation of cell death: clinical applications in sight. *J. Clin. Invest.*, 2005, 115: 2610-2617.

Koonin, E.V. and Aravind, L. Origin and evolution of eukaryotic apoptosis: the bacterial connection. *Cell Death and Differentiation*, 2002, 9(4): 394-404.

Margulis, Lynn. *The Symbiotic Planet. A New Look at Evolution*. 1st ed. New York: Basic Books, 1998. ISBN: 0465072712.