

**CURSOS CRASH**

Tercera edición

# Lo esencial en Célula y genética

Evans  
Manson



Editor de la colección  
**Dan Horton-Szar**  
Asesor académico  
**Melanie Newton**

Toda la asignatura en un solo libro:   
ahorra un tiempo de revisión muy valioso

Escrito por estudiantes y para estudiantes: autores   
que comprenden la presión real de los exámenes

Revisado por profesores universitarios: asegura   
la exactitud de la información



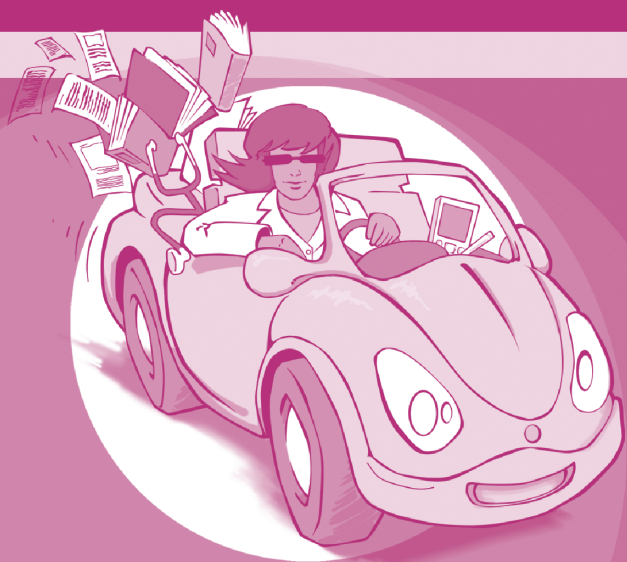
Incluye acceso  
a la autoevaluación  
[www.studentconsult.es](http://www.studentconsult.es)

***CURSOS CRASH***

***Tercera edición***

# Lo esencial en Célula y genética





Autores de las ediciones primera y segunda:

**Emma Jones**

**Anna Morris**

**Ania L. Manson**

**CURSOS CRASH**

**Tercera edición**

# Lo esencial en Célula y genética

Editor de la colección

**Daniel Horton-Szar**

BSc (Hons), MBBS (Hons),  
MRCGP

Northgate Medical  
Practice

Canterbury, Kent, UK

Asesor académico

**Melanie Newport**

FRCP PhD

Reader in Infectious  
Diseases  
and International Health,  
Brighton and Sussex  
Medical School, University  
of Sussex, Brighton, UK

**Joanne Evans**

DPhil

Medical Student, Barts and The London School of Medicine  
and Dentistry, London, UK

[booksmedicos.org](http://booksmedicos.org)



**ELSEVIER**

Ámsterdam Barcelona Beijing Boston Filadelfia Londres Madrid  
México Milán Múnich Orlando París Roma Sídney Tokio Toronto



ELSEVIER

Edición en español de la tercera edición de la obra original en inglés  
**Cell Biology and Genetics**

Copyright © MMVIII, Elsevier Limited. All rights reserved.

*Revisión científica:*

**Dr. Nuno Henriques Gil**

Jefe de Área de Genética

Universidad San Pablo CEU

Campus de Montepíncipe, Madrid

© 2011 Elsevier España, S.L.

Travessera de Gràcia, 17-21 – 08021 Barcelona, España

Fotocopiar es un delito. (Art. 270C.P.)

Para que existan libros es necesario el trabajo de un importante colectivo (autores, traductores, dibujantes, correctores, impresores, editores...). El principal beneficiario de ese esfuerzo es el lector que aprovecha su contenido.

Quien fotocopia un libro, en las circunstancias previstas por la ley, delinque y contribuye a la «no» existencia de nuevas ediciones. Además, a corto plazo, encarece el precio de las ya existentes.

Este libro está legalmente protegido por los derechos de propiedad intelectual. Cualquier uso, fuera de los límites establecidos por la legislación vigente, sin el consentimiento del editor, es ilegal. Esto se aplica en particular a la reproducción, fotocopia, traducción, grabación o cualquier otro sistema de recuperación de almacenaje de información.

ISBN edición original: 978-0-7234-3421-4

ISBN edición española: 978-84-8086-731-3

Traducción y producción editorial: Diorki Servicios Integrales de Edición

#### **Advertencia**

La medicina es un área en constante evolución. Aunque deben seguirse unas precauciones de seguridad estándar, a medida que aumenten nuestros conocimientos gracias a la investigación básica y clínica habrá que introducir cambios en los tratamientos y en los fármacos. En consecuencia, se recomienda a los lectores que analicen los últimos datos aportados por los fabricantes sobre cada fármaco para comprobar la dosis recomendada, la vía y duración de la administración y las contraindicaciones. Es responsabilidad ineludible del médico determinar la dosis y el tratamiento más indicado para cada paciente en función de su experiencia y del conocimiento de cada caso concreto. Ni los editores ni los directores asumen responsabilidad alguna por los daños que pudieran generarse a personas o propiedades como consecuencia del contenido de esta obra.

**El editor**



# Prefacio

La biología celular y la genética son temas que a menudo suscitan un gran temor en los estudiantes de medicina. Son fundamentales para todas las enfermedades y, sin embargo, debido al énfasis educativo actual en las habilidades de comunicación interpersonal en los últimos cursos académicos, cada vez reciben menos atención en los planes de estudios de pregrado. Ningún tema tiene por qué ser difícil, y este libro pretende presentar los materiales de una forma clara y concisa para facilitar la lectura y el proceso de aprendizaje basado en problemas, así como para eliminar algunas de las causas de ese miedo.

En los 5 años que han transcurrido desde la publicación de la segunda edición, se han producido cambios considerables en el mundo de la genética, la biología molecular y la biología celular. Muchos capítulos se han reorganizado y reescrito a fin de tener en cuenta los numerosos cambios que han ocurrido en este campo vertiginoso y emocionante. El proyecto del genoma humano se completó en 2003 y los genomas de muchos otros organismos también han sido desentrañados, lo que ha dado lugar a los nuevos campos de la genómica, la proteómica, la metabolómica y la bioinformática. Numerosas tecnologías muy potentes, como el ARNi, albergan un futuro muy prometedor no sólo como herramientas de investigación, sino también como posibles tratamientos para muchas enfermedades genéticas.

Este libro se basa en las dos primeras ediciones y pretende no sólo ofrecer información esencial que ayudará a los estudiantes a triunfar en los exámenes, sino también destacar las áreas de estudio adicional para los estudiantes aplicados. Por ello, tanto si se ha comprado este libro para aprobar un examen como a modo de introducción en los temas más fascinantes de la medicina, espero que se disfrute con su lectura.

**Joanne Evans**

Los progresos en las ciencias básicas, en especial la genética, siguen avanzando a un ritmo exponencial. Los nuevos avances apasionantes derivados del proyecto genoma humano, junto con los avances paralelos en la tecnología, han llevado a un incremento en la identificación de genes de susceptibilidad para las enfermedades multifactoriales comunes. Además de mejorar nuestra comprensión de los mecanismos básicos de la enfermedad, este conocimiento se traducirá en beneficios para los pacientes (p. ej., mediante el desarrollo de nuevos tratamientos) o la prevención de enfermedades a través de una mejor comprensión de los factores de riesgo y las interacciones entre genética y ambiente. La generación actual de estudiantes de medicina disfruta de una posición ventajosa para ser una de las primeras generaciones de médicos que apliquen los frutos de estos avances en la práctica clínica. Por tanto, una buena comprensión de los fundamentos de la genética y del funcionamiento de las células es fundamental, con independencia de la especialidad médica (en su sentido más amplio) que se ejerza. Hemos actualizado este libro para incluir los últimos avances, además de abarcar los aspectos básicos, con la esperanza de ofrecer un formato legible y útil. Esperamos que el intenso énfasis puesto en la relevancia clínica de estas materias inspire un entusiasmo permanente hacia este tema apasionante y fundamental.

**Melanie Newport**  
**Asesora académica**

## Prefacio

Ha pasado más de una década desde que empezamos a trabajar en las primeras ediciones de la serie Cursos Crash, y unos 4 años desde que se publicaron las segundas ediciones. La medicina nunca se detiene, y el trabajo de mantener esta serie, importante para los estudiantes de hoy en día, es un proceso constante. En estas terceras ediciones se aprovecha el éxito de los libros anteriores y se incorpora una gran cantidad de material nuevo y revisado, manteniendo la serie actualizada con las últimas investigaciones y tendencias médicas en farmacología y en la mejor práctica actual.

Como es habitual, escuchamos las opiniones de los miles de estudiantes que utilizan los Cursos Crash y también hemos mejorado el diseño y la estructura de los libros. Al principio de cada capítulo se incluyen los objetivos de aprendizaje, y las secciones de autoevaluación se han mejorado y actualizado con los formatos modernos de los exámenes. También hemos trabajado para integrar puntos de importancia clínica en el material médico básico, que además de hacer más interesante el texto refuerzan los principios que se describen.

Aunque hemos revisado completamente los libros, hemos mantenido la base sobre la que se desarrolló esta serie: los Cursos Crash siempre te aportarán toda la información que necesitas en unos volúmenes de tamaño reducido, manejables, que integran las ciencias médicas básicas y la práctica clínica. Los libros siguen manteniendo el equilibrio entre claridad y concisión, y proporcionan suficiente información para los que aspiran a la excelencia. Los autores son estudiantes de medicina y médicos noveles que han realizado hace poco los exámenes a los que tú te estás enfrentando ahora, y la exactitud del material ha sido comprobada por profesores titulares universitarios del Reino Unido.

¡Te deseo todo lo mejor en tu futura carrera profesional!

**Dr. Dan Horton-Szar**  
**Editor de la colección**

# Agradecimientos

Me gustaría agradecer a todo el personal de Elsevier su estímulo constante y los numerosos «recordatorios» remitidos por ellos. Le doy las gracias a Munira Kadhim, de la MRC Radiation and Genome Stability Unit, por algunos cariotipos e imágenes de FISH sorprendentes, de los que no se han podido utilizar todos debido a la maquetación en blanco y negro. También quiero expresar un cálido agradecimiento a Mel Newport por toda su ayuda, orientación, paciencia, vino y croissants. Por último, quiero agradecer el apoyo de The Worshipful Company of Barbers y del Sir Richard Stapley Educational Trust, sin el cual llevar a cabo los estudios habría sido una tarea muy ardua.

## Créditos de las figuras

Figura 1.1, adaptada de Medical Microbiology, 3.<sup>a</sup> ed., de C. Mims y cols., Mosby, 2004, fig. 2.1

Figura 1.17, adaptada de Medical Microbiology, 5.<sup>a</sup> ed., de P.R. Murray, M.A. Pfaller y K.S. Rosenthal, Mosby, 2005, fig. 6.9

Figuras 2.1, 4.4, 4.6, 4.13-4.16, 4.27, 5.3, 6.2, 6.37, adaptadas de Human Histology, 2.<sup>a</sup> ed., de A. Stevens y J. Lowe, Mosby, 1997

Figura 2.3, microfotografías de microscopio electrónico reproducidas por cortesía del Dr. Trevor Gray

Figuras 3.10, 3.14, 5.14, 6.11, adaptadas de Medical Biochemistry, 1.<sup>a</sup> ed., de J. Baynes y M. Dominiczak, Mosby, 1999

Figura 3.17, adaptada de Physiology, 4.<sup>a</sup> ed., de R. Berne y cols., Mosby, 1998

Figuras 4.2, 4.5, 4.9, 4.12, 6.4, adaptadas de Medical Cell Biology Made Memorable, de R. Norman y D. Lodwick, Churchill Livingstone, 1999

Figuras 6.17, 6.28, 7.18, 8.6, 8.7 de Thompson & Thompson Genetics in Medicine, de R.L. Nussbaum, R.R. McInnes y H.F. Willard, WB Saunders, 2001

Figuras 6.18A, 8.20B, adaptadas de Clinical Medicine, 6.<sup>a</sup> ed., de P. Kumar y M. Clark, WB Saunders, 2005, figs. 4.8, 6.40

Figuras 7.3A, 7.7, 7.9B, reproducidas por cortesía del Dr. Steve Howe

Figura 7.4 B, reproducida por cortesía del Dr. Ajay Mistry

Figuras 7.1, 7.11, 7.12, 7.19, 7.20, 7.25, 8.26, adaptadas de Emery's Elements of Medical Genetics, 11.<sup>a</sup> ed., de R. Mueller e I. Young, Churchill Livingstone, 2001

Figura 7.13, reproducida por cortesía de Linda E. Ritter

Figura 7.14, reproducida por cortesía del Dr. Paul Scriven, GSTT

Figura 7.21, reproducida por cortesía de la Dra. Kathy Mann

Figura 8.24, reproducida por cortesía del Dr. A. Stevens y el profesor J. Lowe

## Agradecimientos

Figuras 8.30B, 8.32, adaptadas de Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease, 7.<sup>a</sup> ed., de V. Kumar, A. Abbas y N. Fausto, WB Saunders, 2004, fig. 5.26

Figuras 8.14 y 9.6, adaptadas de Emery's Elements of Medical Genetics, 12.<sup>a</sup> ed., de P. Turnpenny y S. Ellard, Churchill Livingstone, 2005, fig. 21.4A

Figuras 6.19 y 9.10, adaptadas de Medical Genetics, 3.<sup>a</sup> ed., de L. Jorde, J. Carey y M. Bamshad, Mosby, 2003, fig. 13.9

# Dedicatoria

A mi familia (mamá, papá, Nan, Darren, Jonathan y Daniel), a mi maravilloso novio Barnaby y a todos los que me han ayudado a llegar donde estoy hoy, sobre todo al profesor Jim Parry (Swansea University) y al difunto profesor Sir Gareth Roberts (Oxford University). Estos dos últimos vieron algo en mí y mi capacidad que yo misma no podía apreciar, por lo que les estaré eternamente agradecida.





# Índice de contenidos

|                       |      |
|-----------------------|------|
| Prefacio .....        | v    |
| Agradecimientos ..... | vii  |
| Dedicatoria.....      | ix   |
| Glosario .....        | xiii |

## Parte I: Principios de biología celular y genética molecular ..... 1

|                                                                 |           |
|-----------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. Biología celular y genética de los procariontes .....</b> | <b>3</b>  |
| Célula procariota.....                                          | 3         |
| Transferencia de material genético .....                        | 6         |
| Replicación del ADN .....                                       | 7         |
| Transcripción y traducción .....                                | 10        |
| Regulación génica.....                                          | 13        |
| Antibióticos.....                                               | 14        |
| Virus .....                                                     | 18        |
| <b>2. Orgánulos eucariotas .....</b>                            | <b>23</b> |
| La célula eucariota .....                                       | 23        |
| Estructura y función de los orgánulos de los eucariotas .....   | 23        |
| Diversidad celular de los organismos pluricelulares.....        | 29        |
| <b>3. La membrana celular .....</b>                             | <b>33</b> |
| Estructura de la membrana celular.....                          | 33        |
| Transporte a través de la membrana plasmática .....             | 38        |
| Potencial de membrana.....                                      | 42        |
| Receptores.....                                                 | 45        |
| <b>4. La célula en funcionamiento.....</b>                      | <b>53</b> |
| Citoesqueleto y motilidad celular.....                          | 53        |
| Lisosomas .....                                                 | 58        |
| Interacción y adhesión celulares .....                          | 61        |
| <b>5. Macromoléculas .....</b>                                  | <b>73</b> |
| Aminoácidos .....                                               | 73        |
| Proteínas.....                                                  | 78        |
| Enzimas y energía biológica.....                                | 82        |
| Hidratos de carbono.....                                        | 86        |
| <b>6. Fundamentos de biología molecular y genética .....</b>    | <b>91</b> |
| Organización del núcleo celular.....                            | 91        |

|                                                               |     |
|---------------------------------------------------------------|-----|
| Ácidos nucleicos.....                                         | 92  |
| Empaquetado del ADN y cromosomas .....                        | 96  |
| Replicación del ADN .....                                     | 102 |
| Transcripción y síntesis de ARN en eucariotas.....            | 105 |
| Traducción y síntesis de proteínas en eucariotas.....         | 109 |
| Control de la expresión génica y de la síntesis proteica..... | 113 |
| Procesamiento postraduccional de las proteínas .....          | 113 |
| Ciclo celular .....                                           | 115 |
| Mitosis y meiosis.....                                        | 118 |
| Daño y reparación del ADN .....                               | 122 |

## Parte II: Genética médica ..... 127

|                                                                |            |
|----------------------------------------------------------------|------------|
| <b>7. Genética molecular aplicada a la medicina .....</b>      | <b>129</b> |
| Técnicas de genética molecular .....                           | 129        |
| Maapeo y caracterización de genes de enfermedades humanas..... | 142        |
| Proyecto genoma humano .....                                   | 148        |
| Terapia génica.....                                            | 149        |
| <b>8. Enfermedades genéticas .....</b>                         | <b>153</b> |
| Mutación .....                                                 | 153        |
| Enfermedades monogénicas.....                                  | 156        |
| Herencia poligénica y enfermedades multifactoriales.....       | 164        |
| Genética del cáncer.....                                       | 167        |
| Enfermedades cromosómicas .....                                | 173        |
| <b>9. Principios de genética médica .....</b>                  | <b>181</b> |
| Genética de poblaciones y cribado poblacional.....             | 181        |
| Valoración del riesgo y consejo genético ..                    | 187        |
| Consulta y elaboración de la historia genética.....            | 190        |
| Presentaciones habituales de las enfermedades genéticas .....  | 190        |
| Tratamiento de las enfermedades genéticas.....                 | 192        |
| Aspectos éticos en genética médica.....                        | 195        |

### **Parte III: Autoevaluación**

*(disponible sólo en [www.studentconsult.es](http://www.studentconsult.es))*

Preguntas de elección múltiple (PEM)

Preguntas cortas (PC)

Preguntas para relacionar

Índice alfabético..... 199

**ADN recombinante** Molécula de ADN creada *in vitro* que contiene elementos de más de una secuencia original, como un vector y un inserto.

**Alelo** Cada una de las formas alternativas de un gen o secuencia de ADN concreta en un locus determinado.

**Aneuploidía** Situación en la que el número de cromosomas de la célula no es un múltiplo exacto del número haploide. Las monosomías y trisomías son ejemplos de aneuploidía.

**Árboles genealógicos** Representaciones gráficas usadas para ilustrar la herencia.

**Autosoma** Cualquier cromosoma distinto a los cromosomas sexuales.

**Autosómico dominante** Rasgo o enfermedad que se produce cuando sólo está presente una copia de un polimorfismo o mutación en un autosoma.

**Autosómico recesivo** Rasgo o enfermedad que se produce cuando están presentes dos copias de un polimorfismo o mutación en un autosoma.

**Biblioteca** Colección de fragmentos clonados de ADN, tomados en conjunto, que representan todo el genoma de un organismo concreto. Mediante el uso de técnicas tradicionales, permiten el aislamiento y estudio de genes individuales.

**Cariotipo** Dotación cromosómica de una célula. En un cariotipo estándar, los cromosomas se disponen de forma convencional en un orden que depende del tamaño. Los cromosomas se distinguen individualmente por su tamaño, posición del centrómero y patrón de bandas. El cariotipo humano normal es 46, XY (varón) o 46, XX (mujer).

**Célula** Unidad básica de la vida. Para sobrevivir, cada célula debe mantener un ambiente interno que permita realizar sus reacciones bioquímicas esenciales a pesar de los cambios del ambiente exterior. Por tanto, la existencia de una membrana plasmática con una permeabilidad selectiva que rodea a una solución

acuosa concentrada de sustancias químicas es una característica presente en todas las células.

**Clon** Miembro de un grupo de células en el que todas portan la misma información genética y que derivan de un único ancestro por mitosis repetidas.

**Complementario** Fragmento de ácido nucleico creado en el laboratorio que tiene una secuencia exactamente contraria a una molécula de ARNm sintetizada en el organismo. El ARN complementario puede unirse estrechamente a su imagen especular de ARNm, lo que evita la síntesis de una proteína concreta.

**Consultando** Persona que solicita o que es remitida para recibir consejo genético.

**Dominante ligado al X** Rasgo (o enfermedad) que se produce cuando sólo hay una mutación de un polimorfismo o mutación en un cromosoma X. Esto significa que tanto los varones como las mujeres pueden expresar el rasgo o enfermedad, para lo que basta tener una sola copia del gen.

**Enfermedad multifactorial** Término usado para describir los trastornos en los que intervienen tanto los factores ambientales como los genéticos.

**Exón** Región de un gen que contiene ADN codificante para una proteína.

**Expresividad variable** Situación en la que una lesión genética produce un rango de fenotipos. Por ejemplo, la esclerosis tuberosa puede ser asintomática, con quistes renales inocuos, pero en la siguiente generación puede ser mortal debido al desarrollo de malformaciones cerebrales.

**Fenocopia** Alteración del fenotipo por los factores ambientales durante el desarrollo, de modo que se produce un fenotipo típico de un gen específico (p. ej., el raquitismo debido a la carencia de vitamina D sería una fenocopia del raquitismo resistente a la vitamina D).

**Fenotipo** Características bioquímicas, fisiológicas o morfológicas observadas en un individuo

que están determinadas por el genotipo y el ambiente en el que éste se expresa.

**Gameto** Célula reproductiva formada por meiosis y que contiene la mitad del número normal de cromosomas.

**Genoma** Dotación genética completa de una célula.

**Genotipo** Constitución genética de un individuo. También se usa para referirse a los alelos presentes en un locus.

**Heredabilidad** Grado en el que una característica está determinada por los genes.

**Herencia poligénica** Término utilizado para describir la herencia de los rasgos en la que influyen muchos genes situados en loci diferentes.

**Heterocigoto** Individuo o genotipo con dos alelos distintos en un locus concreto de un par de cromosomas homólogos.

**Heterocigoto compuesto** Individuo que tiene dos alelos mutantes distintos en el mismo locus.

**Holoenzima** Molécula completa de la enzima, que consta de todas las subunidades y cofactores.

**Homocigoto** Individuo o genotipo con alelos idénticos en un locus concreto de un par de cromosomas homólogos.

**Hormona** Molécula sintetizada por una célula endocrina que se libera al torrente sanguíneo y que actúa en receptores específicos para producir su efecto.

**Huésped** Organismo usado para propagar una molécula de ADN recombinante (por lo general *E. coli* o *S. cerevisiae*).

**Inserto** Fragmento de ADN ajeno que se clona en un vector concreto.

**Intrón** Sección de un gen que no contiene ninguna instrucción para la síntesis proteica.

**Ligando** Molécula, como una hormona o neurotransmisor, que se une al receptor y que se denomina primer mensajero.

**Locus** Posición de un gen en un cromosoma.

**Micromatriz** Conjunto amplio de moléculas de ácido nucleico o proteínas clonadas dispuestas en una matriz sólida (por lo general un portaobjetos de microscopio) que se usa para determinar la expresión génica y proteica en las células y tejidos.

**Monosomía** Dotación cromosómica en la que un miembro de un par cromosómico está ausente (p. ej., en el síndrome de Turner, la dotación es 45, XO).

**Mutación** Cambio hereditario permanente en la secuencia de ADN.

**Neurotransmisor** Molécula que se usa para transmitir los impulsos nerviosos a través de una sinapsis.

**Operón** Locus procariota que consta de dos o más genes que se transcriben como una unidad y que se expresan de forma coordinada.

**Organismo** Sistema capaz de autorreplicarse y autorrepararse. Puede ser uni o pluricelular. Los organismos unicelulares constan de una única célula capaz de realizar de forma independiente todas las funciones vitales. Los organismos pluricelulares contienen distintos tipos celulares, que están especializados en realizar funciones específicas.

**Penetrancia** Proporción de individuos con un genotipo específico que muestran el fenotipo previsto en unas condiciones ambientales definidas. El término suele usarse asociado a los trastornos dominantes.

**Plásmido** Molécula de ADN circular extracromosómico que se replica de forma autónoma. A menudo se utiliza en el laboratorio como vector para la clonación génica.

**Pleiotropía** La pleiotropía es un fenómeno en el que un gen es responsable de varios efectos fenotípicos distintos y aparentemente no relacionados, que pueden afectar a los sistemas implicados, así como a los signos y síntomas que aparecen.

**Ploidía** Término que se refiere al número de dotaciones completas de cromosomas de una célula. Una célula haploide contiene una única dotación de cromosomas (p. ej., los gametos); una célula diploide tiene dos copias de cada cromosoma (p. ej., células somáticas); una célula poliploide contiene más de dos dotaciones cromosómicas (en ocasiones esto es fisiológico en las plantas y en algunas células animales, como los megacariocitos).

**Polimorfismo** Aparición en una población de dos o más genotipos alternativos, cada uno con una frecuencia mayor de la que podría mantenerse sólo por mutaciones recidivantes. Un locus se considera de forma arbitraria como polimórfico si el alelo menos común tiene una frecuencia de al menos 0,01. Cualquier alelo con una frecuencia menor se considera una «variante rara».

**Probando** Primera persona de un árbol genealógico en la que se identifica clínicamente la presencia de la enfermedad en cuestión.

**Recesivo ligado al X** Rasgo o enfermedad que se produce cuando un polimorfismo o mutación de un gen situado en el cromosoma X provoca la expresión del fenotipo. Hay que recordar que las mujeres tienen dos cromosomas X, mientras que los varones tienen uno X y uno Y.

**Replicación en círculo rodante** Proceso de replicación de los ácidos nucleicos por el que se pueden sintetizar múltiples copias de moléculas circulares de ADN, como cromosomas y plásmidos bacterianos.

**Sonda** Fragmento de ADN monocatenario de secuencia definida que se marca con radiactividad o fluorescencia.

**Translocación** Transferencia de un segmento de un cromosoma a otro.

**Trisomía** Situación en la que se poseen tres representantes de un cromosoma concreto, en lugar del par habitual (p. ej., como en el síndrome de Down o trisomía 21).

**Vector** Molécula de ADN capaz de replicarse en un huésped concreto, en el que puede insertarse ADN ajeno.



# PRINCIPIOS DE BIOLOGÍA CELULAR Y GENÉTICA MOLECULAR



|                                                   |    |
|---------------------------------------------------|----|
| 1. Biología celular y genética de los procariotas | 3  |
| 2. Orgánulos eucariotas                           | 23 |
| 3. La membrana celular                            | 33 |
| 4. La célula en funcionamiento                    | 53 |
| 5. Macromoléculas                                 | 73 |
| 6. Fundamentos de biología molecular y genética   | 91 |





# Biología celular y genética de los procariotas



## Objetivos

En este capítulo aprenderás a:

- Explicar por qué las células procariotas son menores que las eucariotas.
- Describir las características fundamentales de una célula procariota.
- Comprender las diferencias entre la transformación, la transducción y la conjugación bacterianas.
- Describir los procesos de replicación, transcripción y traducción del ADN en las células procariotas.
- Explicar el modo de regulación de los genes procariotas.
- Conocer los principales sitios de actuación de los antibióticos.
- Reconocer las principales clases de virus en función de su composición de ácidos nucleicos.
- Conocer las etapas fundamentales del ciclo de vida viral.
- Conocer los objetivos clave de la quimioterapia antiviral.

## CÉLULA PROCARIOTA

Los procariotas son los organismos unicelulares más simples. Se cree que todos los organismos vivos evolucionaron a partir de un antecesor procariota común.

La maquinaria molecular básica de la vida se ha conservado en todas las especies. Las enzimas que desempeñan reacciones comunes como la glucólisis en las bacterias y en las células humanas presentan gran homología tanto en el ADN como en las proteínas.



Todos los microorganismos que carecen de membrana nuclear (p. ej., los distintos tipos de bacterias) pertenecen al superreino de los procariotas. La célula procariota típica (fig. 1.1) presenta las siguientes características:

- Un único compartimento citoplasmático que contiene todos los componentes celulares.
- La división celular se realiza por bipartición.

Para que la célula procariota sobreviva, las moléculas necesarias para la biosíntesis y los procesos energéticos deben difundirse hacia el interior de la célula y los productos de desecho deben abandonar la célula a través de la membrana plasmática. La velocidad de difusión se relaciona con la superficie de la membrana. Cuando el diámetro de una célula aumenta:

- El volumen de la célula se expande al cubo del incremento lineal.
- La superficie sólo aumenta al cuadrado del incremento lineal.

De este modo, las células pequeñas tienen un cociente superficie/volumen superior al de las células grandes. Si las células procariotas aumentan por encima de un cierto tamaño, la velocidad de difusión de nutrientes a través de la membrana plasmática no será suficiente para cubrir el aumento de las necesidades derivadas de su mayor volumen. Por este motivo, las células procariotas son pequeñas.

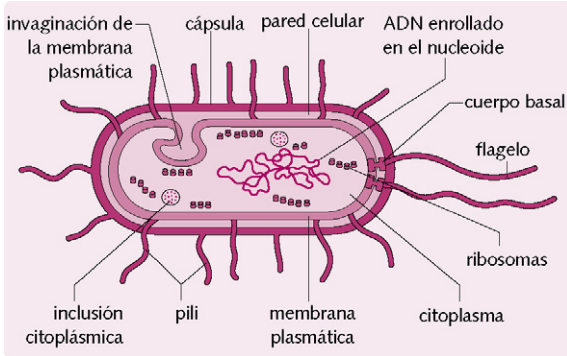
Recuerda: los **procariotas** son **primitivos**. El **ser humano** es un **eucariota**.



## Estructura y orgánulos de la célula procariota

### Membrana plasmática

La membrana plasmática de la célula procariota es una bicapa fosfolipídica fluida. A excepción de los micoplasmas, carece de esteroides y en su lugar tiene unas moléculas semejantes denominadas hopanoides. La función principal de la membrana plasmática es actuar como una membrana de permeabilidad selectiva.



**Fig. 1.1** Estructura de una célula procariota típica. La molécula de ADN está libre en el citoplasma. Las bacterias contienen algunas estructuras subcelulares, como ribosomas, pero carecen de orgánulos delimitados por membrana.

## Pared celular

Todas las bacterias (excepto los micoplasmas) poseen una pared celular compleja. En las bacterias verdaderas, suele tratarse de una estructura de peptidoglucanos (polímeros de aminoácidos y glúcidos). Dado que las bacterias concentran los nutrientes disueltos mediante transporte activo, su citoplasma suele ser hipertónico. La pared celular evita la lisis osmótica de la célula, por lo que es un objetivo preferente de muchos antibióticos (v. pág. 16) (fig. 1.2).

Los micoplasmas son bacterias simples carentes de pared celular. Son las formas de vida libres más pequeñas conocidas. Varias especies son patógenas para el ser humano, como *M. pneumoniae*, que es una causa frecuente de neumonía atípica y de otras enfermedades respiratorias.



Junto con el citoesqueleto, la pared celular mantiene la forma global de la célula bacteriana. Las formas más frecuentes que adoptan las bacterias son:

- Coco (esférica u oval).
- Bacilo (de forma cilíndrica).
- Helicoidal.

## Ribosomas

Los ribosomas son pequeños componentes celulares constituidos por ARN ribosómico (ARNr) y proteínas ribosómicas (ribonucleoproteínas). Son el lugar donde se sintetizan las proteínas (traducción). Los ribosomas bacterianos están compuestos por dos subunidades con densidades de 50S y 30S. Ambas subunidades se combinan durante la síntesis proteica para formar un

Las paredes celulares bacterianas pueden describirse en función de su respuesta a las tinciones. La principal clasificación distingue entre bacterias *grampositivas* (retienen el colorante cristal violeta durante la tinción de Gram), *gramnegativas* (se decoloran durante la tinción de Gram) y *ácido-resistentes*. Las bacterias grampositivas tienen unas paredes de peptidoglucanos gruesas (20-80nm) por fuera de la membrana celular, mientras que las especies gramnegativas tienen una fina capa (5-10 nm) de peptidoglucano sobre la que se dispone una membrana externa rica en lipopolisacáridos. Cuando se combinan con la forma celular, estas propiedades ayudan a identificar los microorganismos; por ejemplo, los diplococos gramnegativos en el líquido cefalorraquídeo son típicos de la meningitis meningocócica.

ribosoma 70S completo, de unos 25 nm de diámetro. El menor tamaño del ribosoma bacteriano, comparado con el ribosoma eucariota 80S, le convierte en un objetivo ideal para los antibióticos.

## Nucleoide

El genoma bacteriano está constituido por un único cromosoma que también se denomina nucleóide. Es una estructura que mide alrededor de 0,2  $\mu\text{m}$  de diámetro y está formado por ADN superenrollado y proteínas pseudohistónicas. No está unido a una membrana, por lo que flota libre en el citoplasma. El ADN bacteriano carece de intrones y en su lugar consiste en una secuencia codificante continua de genes, que suelen agruparse en unidades funcionales denominadas operones (v. pág. 14).

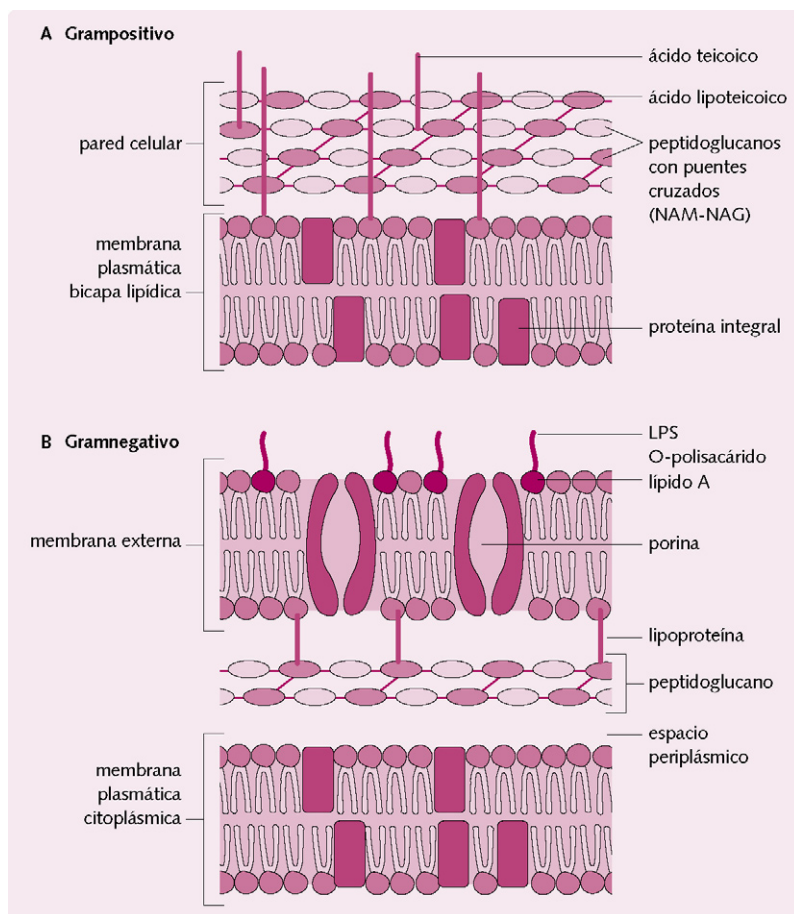
## Citoesqueleto

Durante mucho tiempo se ha asumido que las células procariotas carecían de citoesqueleto; sin embargo, recientemente se han identificado al menos dos componentes principales del citoesqueleto bacteriano: la tubulina bacteriana y los homólogos de la actina FtsZ y MreB. Se cree que la proteína FtsZ participa en la división celular, mientras que las proteínas MreB intervienen en la regulación de la forma celular y en la segregación de algunos plásmidos bacterianos.

## Especializaciones celulares

### Glucocáliz

El glucocáliz, que forma la cápsula o capa mucosa, es una lámina de mucopolisacáridos externa a la pared celular. Cuando está presente, las funciones



**Fig. 1.2** Estructura de la pared celular bacteriana. A) La pared bacteriana de una célula grampositiva está compuesta sobre todo por peptidoglucano, entremezclado con ácido teicoico, que une las distintas capas entre sí. B) La pared celular de una célula gramnegativa contiene una fina capa de peptidoglucano con un mayor número de puentes cruzados entre el peptidoglucano que en las paredes celulares grampositivas. La capa de peptidoglucano está rodeada por una membrana externa, cuya capa exterior contiene el lipopolisacárido (LPS) antigénico. En la mayoría de los casos, esta estructura de membrana está anclada de forma no covalente a moléculas lipoproteicas, que están unidas covalentemente al peptidoglucano.

principales del glucocáliz son proteger de la fagocitosis por parte de las células huésped y permitir a las bacterias adherirse a las superficies y colonizarlas.

*Streptococcus pneumoniae* es un patógeno humano esférico y grampositivo. La infección que causa puede provocar una neumonía, meningitis, artritis séptica, endocarditis y otitis media, entre otras. La virulencia de estos microorganismos se relaciona con la presencia de una cápsula de polisacáridos. Los mutantes incapaces de sintetizar la cápsula no son patógenos para el ser humano; la pérdida de la cápsula se asocia a una reducción de  $10^5$  veces de su virulencia. Dado que los pacientes asplénicos presentan un riesgo especialmente alto de infección por microorganismos capsulados, como los neumococos, con una mortalidad asociada de alrededor del 60%, deberían vacunarse frente al neumococo.

## Flagelos

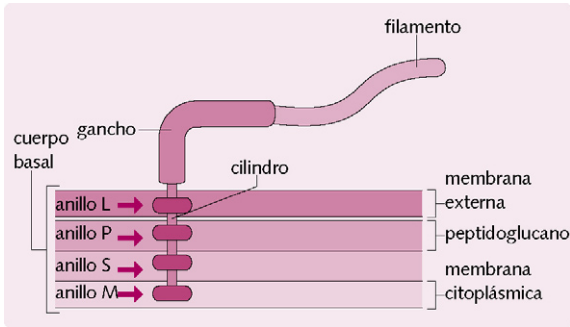
Los flagelos son estructuras alargadas que se extienden desde la superficie celular y permiten a las bacterias moverse en su entorno. El flagelo bacteriano está compuesto por la proteína flagelina y es un tubo hueco de 20 nm de diámetro. Consta de 3 partes:

- Cuerpo basal.
- Gancho.
- Filamento.

El cuerpo basal consta de un motor rotatorio reversible insertado en la pared celular. Comienza en el interior del citoplasma y finaliza en la membrana externa. El gancho es un acople flexible o articulación universal y el largo filamento helicoidal actúa como impulsor (fig. 1.3).

## Pili

Los pili son estructuras tubulares proteicas originadas en la membrana celular. Se encuentran de forma casi exclusiva en las bacterias gramnegativas. Los pili



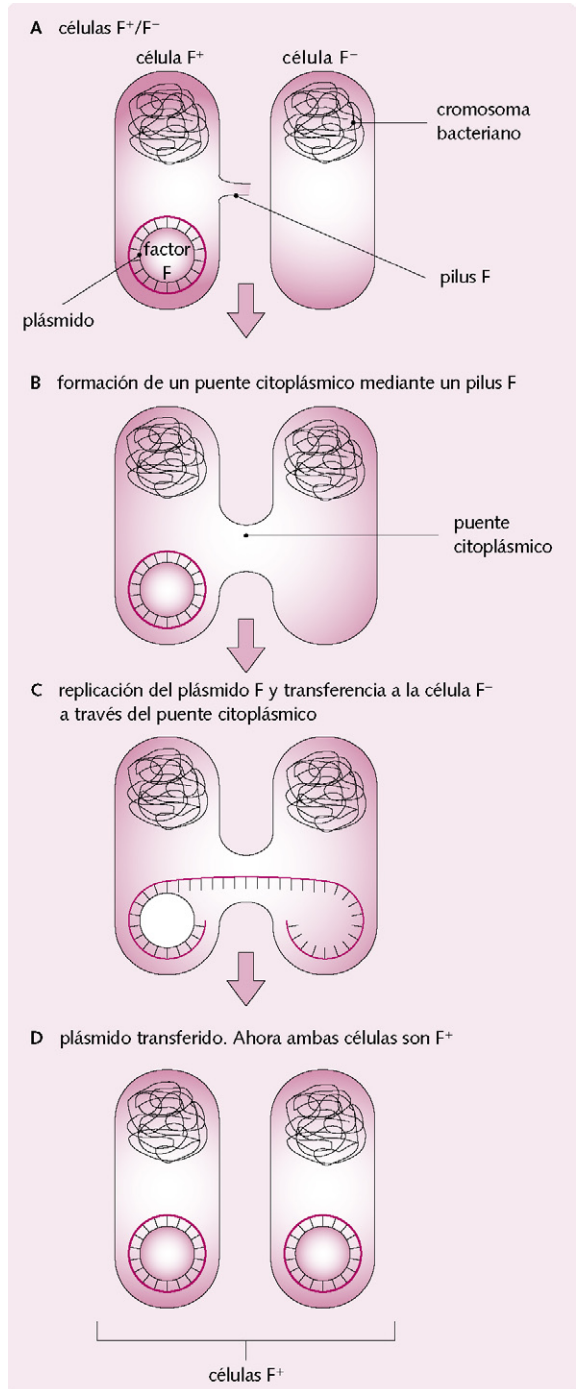
**Fig. 1.3** Esquema de un flagelo de una bacteria gramnegativa. El cuerpo basal actúa como un motor molecular y permite la rotación del flagelo. Consta de un cilindro y una serie de anillos que anclan el flagelo a la pared celular y a la membrana plasmática. Mientras que los microorganismos gramnegativos tienen cuatro anillos basales, los grampositivos sólo tienen dos: uno en la capa de peptidoglicano y uno en la membrana plasmática. El gancho proporciona un acople flexible entre el filamento y el cuerpo basal. El filamento es un tubo hueco compuesto por la proteína flagelina, que termina en una proteína de recubrimiento.

son más rígidos que los flagelos y participan en la adhesión bacteriana, ya sea a otra bacteria mediante los pili «sexuales» o a la célula huésped mediante los pili «comunes». Se cree que la presencia de muchos pili evita la fagocitosis, lo que reduce la resistencia del huésped a la infección bacteriana.

## TRANSFERENCIA DE MATERIAL GENÉTICO

Aunque las bacterias no son capaces de realizar una reproducción sexual verdadera, pueden intercambiar material genético por tres mecanismos:

- **Transformación.** Algunas bacterias liberan ADN al entorno, de modo que puede ser captado por otras bacterias mediante receptores específicos. Si el ADN es compatible, se incorpora al genoma bacteriano; de lo contrario, las exonucleasas se encargan de degradarlo.
- **Transducción.** Un fragmento de ADN bacteriano puede incorporarse a un bacteriófago (virus que infecta a las bacterias) durante su ensamblaje. Uno de cada  $10^6$  bacteriófagos contiene este ADN bacteriano, que puede introducirse en la célula huésped de la bacteria junto con los genes virales durante el proceso de infección. También en este caso, si el ADN bacteriano es compatible, puede incorporarse al genoma del huésped.
- **Conjugación.** En ocasiones, este proceso se denomina de forma imprecisa reproducción sexual bacteriana (fig. 1.4). Las bacterias pueden



**Fig. 1.4** Conjugación bacteriana. A) La capacidad de conjugarse se debe a un plásmido denominado factor F. Las bacterias que tienen el plásmido se denominan  $F^+$ . B) Las células  $F^+$  contienen proyecciones semejantes a filamentos denominadas pili F, que pueden unirse a las células  $F^-$  para formar un puente citoplásmico. C) Un plásmido F se replica y una réplica monocatenaria se transfiere a través del puente. D) En el receptor, el material transferido se replica para formar un nuevo plásmido.



clasificarse como F positivas (F<sup>+</sup>) o F negativas (F<sup>-</sup>). Las células F<sup>+</sup> poseen un plásmido denominado factor F, que contiene genes para el pilus «sexual», lo que proporciona a las células F<sup>+</sup> la capacidad de unirse a otras células bacterianas. De este modo, se forman puentes citoplásmicos a través de los que puede transferirse material genético después de que se haya replicado mediante la «replicación en círculo rodante». Otros plásmidos presentes en la bacteria, por ejemplo los que confieren resistencia frente a los antibióticos, también se pueden transferir durante este proceso.

Por lo general, los plásmidos F son extracromosómicos. En pocas ocasiones, el plásmido F puede integrarse en el genoma bacteriano, lo que da lugar a células Hfr (acrónimo inglés de alta frecuencia de recombinación). Cuando sucede esto, todo el cromosoma bacteriano puede replicarse mediante replicación en círculo rodante, comenzando en un punto de origen en el factor F. El ADN replicado, que ahora contiene el material cromosómico bacteriano, pasa a través del puente citoplásmico hacia la célula receptora. La cantidad de ADN que se transfiere es variable, porque el puente se rompe siempre antes de que se haya transmitido todo el cromosoma. El material transmitido puede recombinarse con el cromosoma de la célula hospedadora.

De forma ocasional, un plásmido F que se ha integrado en el genoma puede volver a «salir», llevándose parte del cromosoma bacteriano con él. Estos plásmidos se denominan F', y pueden servir como vehículos para transmitir genes bacterianos a otras células.

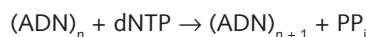
El proceso de conjugación proporciona a las bacterias un método de adquirir genes que, aunque son beneficiosos para el microorganismo, no lo son para sus huéspedes. Durante la conjugación, la célula F<sup>+</sup> también puede pasar un «plásmido R», que contiene varios genes de resistencia a los antibióticos, a la bacteria receptora F<sup>-</sup>, de modo que la bacteria receptora no sólo se convierte en resistente a los antibióticos, sino que también es capaz de producir un pilus sexual (F<sup>+</sup>) y de pasar la resistencia a los antibióticos a las células F<sup>-</sup> circundantes.

proceso se considera semiconservativo, porque sólo se sintetiza una nueva cadena en cada molécula hija.

El nucleóide bacteriano no se divide por mitosis. Gracias a su cromosoma único y a un tiempo de división de 20 minutos a 37 °C, la replicación se ha estudiado profundamente en *Escherichia coli*. Ha sido posible aislar una serie de mutantes con defectos de replicación, que se han usado para identificar y caracterizar las proteínas correspondientes implicadas en la replicación. Estos estudios sugieren que, incluso en los procariotas, la replicación es un proceso complejo que requiere alrededor de 30 proteínas.

## ADN polimerasas

Las ADN polimerasas son las enzimas responsables de la síntesis de la cadena de ADN. Acoplan los nucleósidos trifosfato a una cadena de ADN en crecimiento mediante la adición de un grupo fosfato en el grupo 3'-OH libre. Por tanto, las nuevas moléculas de ADN se sintetizan en dirección 5'-3'. La polimerización está regida termodinámicamente por la eliminación de un grupo pirofosfato (PP<sub>i</sub>) y su hidrólisis subsiguiente:



Se han caracterizado tres ADN polimerasas en *E. coli*, de las que dos tienen un papel destacado en la replicación (fig. 1.5). La ARN polimerasa puede comenzar una cadena polinucleotídica al unir dos nucleósidos trifosfato entre sí directamente (v. págs. 10-11). En cambio, la ADN polimerasa requiere unos nucleótidos perfectamente emparejados sobre los que pueda añadir a continuación nuevos nucleótidos en el extremo 3'-OH. Esto tiene consecuencias relevantes:

- La ADN polimerasa requiere un cebador con el que iniciar la extensión.
- Se interrumpe si se inserta una base incorrecta.

Los cebadores que se precisan para la actividad de la ADN polimerasa se sintetizan por la ARN polimerasa, pues esta enzima no requiere oligonucleótidos que actúen como cebador. Esta enzima sintetiza segmentos cortos (10-20 nucleótidos) de secuencias de ARN cebador.

Si la Pol III (la principal enzima de la replicación) inserta una base incorrecta en la cadena de ADN en extensión, no puede proseguir hasta que se elimine el nucleótido incorrecto, lo que realiza ella misma con su actividad 3'-5' exonucleasa (fig. 1.5). De este modo, la enzima corrige sus propios errores a medida que progresa. Esta función se denomina «corrección de pruebas» y mantiene la fidelidad de la secuencia de ADN tras la replicación. Los errores de replicación

## REPLICACIÓN DEL ADN

La replicación del ADN es el proceso por el que las moléculas de ADN bicatenario se dividen longitudinalmente, de modo que se conserva cada cadena para que sirva de plantilla en la síntesis de una nueva cadena. Este

Fig. 1.5 ADN polimerasas en *Escherichia coli* (procariotas)

|                                                                                     | ADN Pol I                                                                                                         | ADN Pol III                                                                                                                                                                                                                                                |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Notas                                                                               | Primera polimerasa descubierta por Kornberg en 1957                                                               | Descubierta cuando una cepa mutante de <i>E. coli</i> con una actividad Pol I muy baja resultó tener una velocidad de reproducción normal                                                                                                                  |
| Estructura                                                                          | Polipéptido único con 928 residuos y 109 kDa de masa; forma un fragmento grande («Klenow») y un fragmento pequeño | Tres subunidades con una masa total de 140 kDa; subunidades $\alpha$ , $\epsilon$ y $\gamma$                                                                                                                                                               |
| Funciones                                                                           |                                                                                                                   | Polimerasa (subunidad $\alpha$ ), 3'-5' exonucleasa (subunidad $\epsilon$ ) y 5'-3' exonucleasa                                                                                                                                                            |
| Proteínas asociadas                                                                 | Ninguna                                                                                                           | Al menos otras 7 proteínas se asocian para formar un complejo denominado holoenzima Pol III                                                                                                                                                                |
| Procesividad (número de reacciones consecutivas que la enzima es capaz de realizar) | Pueden producirse al menos 20 pasos de polimerización consecutivos antes de que la Pol I se disocie del ADN       | En la holoenzima, las subunidades adicionales interactúan con el ADN y con otras proteínas para fijar la polimerasa al ADN, lo que da lugar a una procesividad muy alta (>5.000 residuos); la Pol III por sí sola tiene una procesividad de 10-15 residuos |
| Función biológica principal                                                         | Detección y corrección de errores                                                                                 | Replicación del ADN, detección de errores                                                                                                                                                                                                                  |

Fig. 1.5 ADN polimerasas procariotas. *Escherichia coli* también tiene una Pol II, cuya función fisiológica principal se desconoce.

se producen con una frecuencia de alrededor de  $1/10^5$  pares de bases, que disminuye a  $1/10^8$  gracias a los mecanismos de corrección de pruebas.

## Horquilla de replicación del ADN

La replicación se inicia en el «origen de replicación» y da lugar a dos horquillas de replicación. Los complejos de replicación se unen a ambas y progresan en direcciones opuestas (fig. 1.6).

Puesto que las polimerasas dependen de ADN sólo pueden añadir nucleótidos al extremo 3', la cadena adelantada puede sintetizarse de forma continua a partir de un único cebador de ADN. Sin embargo, la cadena retrasada debe sintetizarse en segmentos (fragmentos de Okazaki), que se unen después por una ADN ligasa (fig. 1.6).

## Replicación en procariotas

### Iniciación

*E. coli* tiene un único origen de replicación (*OriC*), que es una secuencia de ADN de 245 pb. En principio, la unión de proteínas con especificidad de secuencia alrededor del origen provoca la desnaturalización y desenrollamiento del ADN (fig. 1.7). Esto produce un complejo previo al cebador, que facilita un mayor desenrollamiento y la entrada de los otros componentes del complejo de replicación (fig. 1.8):

- La ADN helicasa se une a la cadena retrasada y desenrolla la hélice de ADN.

- La primasa se une a la helicasa para formar el primosoma, que sintetiza el ARN cebador.
- Las proteínas que se unen a la cadena sencilla estabilizan el ADN monocatenario en la cadena retrasada.
- La ADN polimerasa III se une a la cadena adelantada y sintetiza ADN.

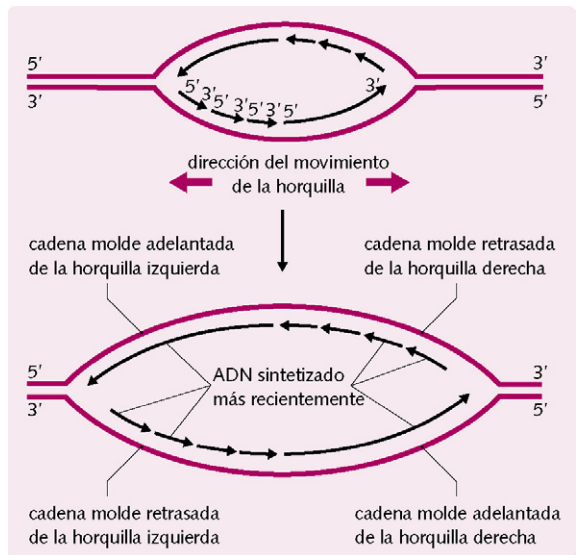
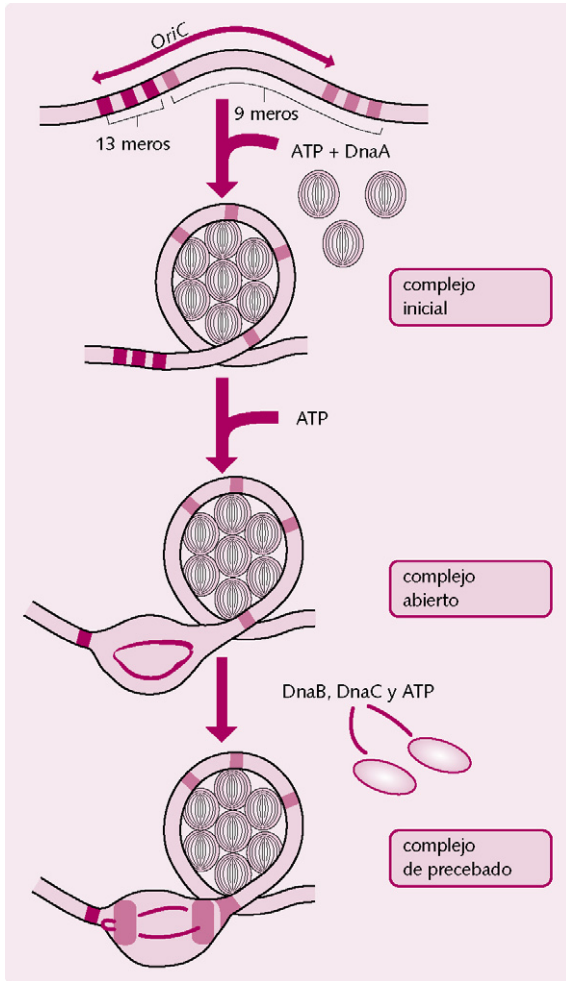


Fig. 1.6 Burbuja de replicación. En cada origen de replicación se forman dos complejos de replicación, que avanzan en direcciones opuestas. Obsérvese que la cadena que va adelantada y la que va retrasada dependen de la dirección de migración del complejo de replicación.

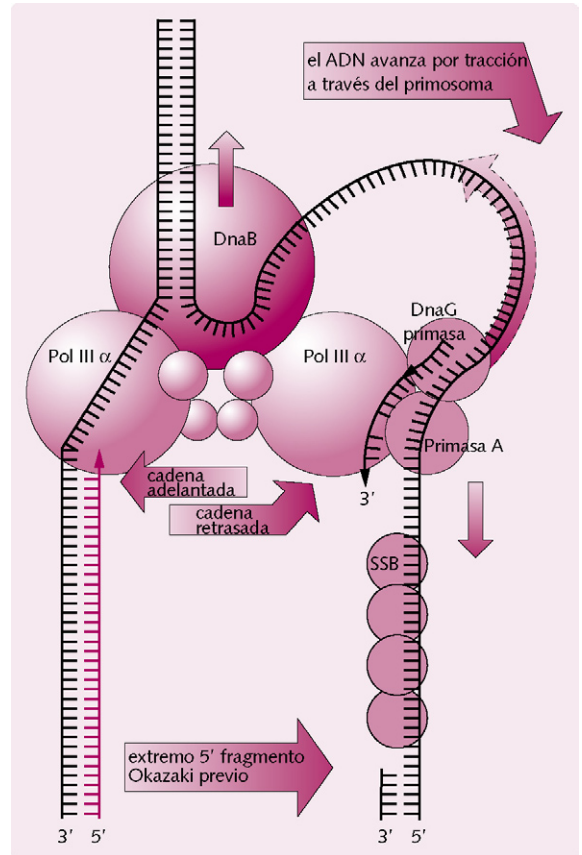


**Fig. 1.7** Formación del complejo de precebado para la replicación del ADN procariota. La DnaA es una proteína que reconoce y se une a segmentos de 9 pb de OriC. El proceso se facilita por la proteína Hu. El complejo DnaA-ADN sufre un sobre enrollamiento negativo. Dicho complejo DnaA-ADN guía la unión del complejo DnaB-DnaC a la región adyacente de OriC. La DnaB tiene actividad enzimática y desenrolla al ADN en el complejo de precebado.

- Una proteína de tipo abrazadera deslizante regulada mantiene unida la ADN polimerasa al ADN.
- La ADN topoisomerasa disminuye los problemas de giros helicoidales y enrollamiento.

En cada origen de replicación se forman dos complejos de replicación (replisomas), que contienen dos polimerasas (fig. 1.8).

Al contestar las preguntas sobre replicación, transcripción o traducción, los procesos deben considerarse en tres fases: iniciación, elongación y terminación.



**Fig. 1.8** Replicación del ADN en *Escherichia coli*. El replisoma consta de dos enzimas polimerasa, una que se une a la cadena adelantada y otra que se une a la cadena retrasada. La holoenzima se desplaza continuamente a lo largo del molde en el caso de la cadena adelantada, mientras que el primosoma «tira» de la cadena retrasada, lo que crea un bucle en el ADN. La helicasa (DnaB) crea un punto de desenrollamiento cuando se transloca a lo largo del ADN. SSB, proteína de unión a ADN monocatenario.

## Elongación

La cadena de ADN se elonga por la acción de la ADN polimerasa III (v. antes). Otras enzimas necesarias para actuar sobre la cadena retrasada son:

- La ADN Pol I elimina la secuencia de ARN cebador y completa la cadena de ADN rellenando los espacios que quedan entre los fragmentos de Okazaki.
- La ADN ligasa une los fragmentos entre sí para formar una cadena continua.

## Terminación

La replicación se completa cuando los replisomas, que discurren alrededor del cromosoma celular en direcciones contrarias, se encuentran a medio camino.



## TRANSCRIPCIÓN Y TRADUCCIÓN

### ARN polimerasa de *Escherichia coli*

La ARN polimerasa (ARNP) de *E. coli* es una holoenzima de gran tamaño que contiene dos iones  $\text{Zn}^{2+}$ , necesarios para su actividad catalítica. Su núcleo tiene una composición de subunidades  $\alpha$ -2- $\beta$ - $\beta'$ - $\omega$ , en la que:

- Las dos subunidades  $\alpha$  son necesarias para ensamblar la enzima y reconocer los factores reguladores.
- La subunidad  $\beta$  tiene actividad polimerasa (cataliza la síntesis de ARN).
- La subunidad  $\beta'$  se une de forma inespecífica al ADN.
- La función de la subunidad  $\omega$  se desconoce, pero se ha demostrado que restaura la ARN polimerasa desnaturalizada a su forma funcional completa in vitro.

El núcleo de la enzima se asocia con otra subunidad ( $\sigma$ ) para formar el complejo de iniciación  $\alpha$ -2- $\beta$ - $\beta'$ - $\omega$ - $\sigma$ . El factor  $\sigma$ :

- Reduce la afinidad de la enzima por ADN inespecífico.
- Incrementa la afinidad de la enzima por los promotores.

*E. coli* tiene varios factores que reconocen las regiones promotoras de grupos específicos y coordinados de genes.

### Promotores

El promotor es una secuencia de ADN a la que la ARN polimerasa se une para iniciar la transcripción. En los procariotas, el promotor consenso presenta dos secuencias en dirección 5' del gen que controla (la transcripción comienza en la posición 0):

- Una en la posición -10, denominada también caja TATA. Suele constar de los seis nucleótidos TATAAT, y es absolutamente esencial para comenzar la transcripción en los procariotas.
- Otra en la posición -35, que suele constar de los seis nucleótidos TTGACA. Parece que la secuencia -35 es la que reconoce el factor  $\sigma$ .

En la síntesis de ARN, los promotores son un medio para controlar qué genes deberían tener una transcripción activa y, por tanto, qué proteínas sintetiza la célula.

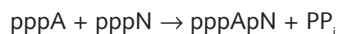
### Transcripción en procariotas

La transcripción se divide en tres fases:

1. Iniciación.
2. Elongación.
3. Terminación.

### Iniciación

La subunidad  $\sigma$  se une a la región promotora, que induce un cambio conformacional en la ARNP, de modo que permite la asociación de los nucleótidos con la subunidad  $\beta$ . A continuación, se produce la iniciación química, que implica el acoplamiento de dos nucleótidos trifosfato. El primero es casi siempre una purina (por lo general, adenina):



(pppA, adenosintrifosfato; pppN, nucleósido trifosfato;  $\text{PP}_i$ , pirofosfato).

Después de que la enzima haya sintetizado unos 8 nucleótidos, el factor  $\sigma$  se disocia y, en su lugar, se asocian con la enzima varios factores de elongación.

### Elongación

La molécula de ARN se sintetiza en dirección 5'-3'. La plantilla de ADN se desenrolla de forma gradual por la ARNP, que empuja las espirales de ADN situadas delante de ella, lo que crea una superhelicidad delante del complejo y un desenrollamiento correspondiente detrás del mismo (fig. 1.9). Sólo se exponen alrededor de 17 bases en cada momento. El ARN abandona enseguida la plantilla de ADN y el ADN recupera su doble hélice.

La ecuación global del proceso de polimerización es:



(XTP, nucleósido trifosfato;  $\text{PP}_i$ , pirofosfato;  $\text{P}_i$ , fosfato inorgánico).

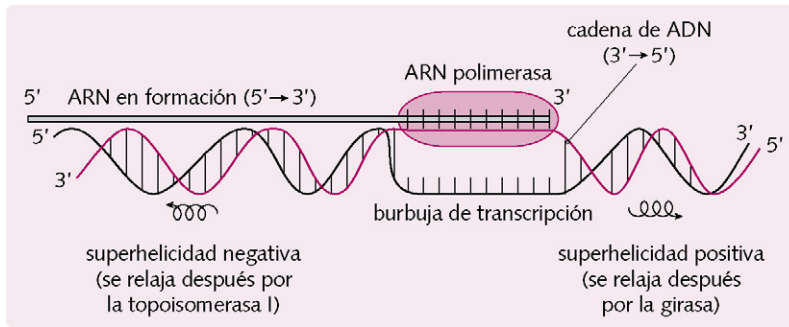
### Terminación

La reacción de elongación continúa hasta que el núcleo de la ARN polimerasa encuentra una señal de terminación de la transcripción. En ese momento, la ARN se suelta de la plantilla de ADN y de la enzima, y la ARN polimerasa se disocia de la hélice de ADN. En los procariotas hay dos mecanismos de terminación distintos:

1. Intrínseco (también denominado independiente de Ro).
2. Dependiente de Ro.

#### Terminación intrínseca

La secuencia terminadora intrínseca es una repetición invertida de una secuencia rica en GC seguida por 6 o más adeninas. El ARN transcrito forma una estructura en horquilla en la zona de repeticiones invertidas por emparejamiento de bases, cuya formación provoca la detención de la ARNP. La formación de la horquilla en el ARN en formación limita el área del híbrido ARN/ADN al segmento corto de



**Fig. 1.9** Elongación de la cadena de ARN. La molécula de ARN se sintetiza en línea recta mientras el ADN rota. (Adaptada con autorización de cell 52: 752, por Branchill y Kornberg, 1988.)

uracilos en la cadena de ARN y de adeninas en la de ADN. Los enlaces uracilo-adenina son inestables y no tienen la fuerza suficiente para mantener la asociación ARN-ADN. La ARN polimerasa se libera entonces del molde de ADN, lo que da lugar a la terminación de la transcripción (fig. 1.10).

### Terminación dependiente de Ro

La terminación dependiente de Ro requiere la acción de un factor proteico denominado Ro (un hexámero dependiente de ATP de seis unidades idénticas de 60 kDa) para interrumpir la síntesis de ARN en sitios específicos. El factor Ro se une en principio al transcrito de ARN en el sitio 5', que tiene 70-80 nucleótidos de longitud y una gran abundancia de residuos C. Después de unirse, el factor Ro sigue a la ARN polimerasa, desenrollando el híbrido ARN-ADN mediante una actividad helicasa. La formación de una horquilla en la estructura del ARN hace que la ARN polimerasa se detenga, lo que permite a la proteína Ro alcanzarla y desplazarla de la plantilla, de modo que finaliza la transcripción (fig. 1.11).

## Modificación postranscripcional procarionota

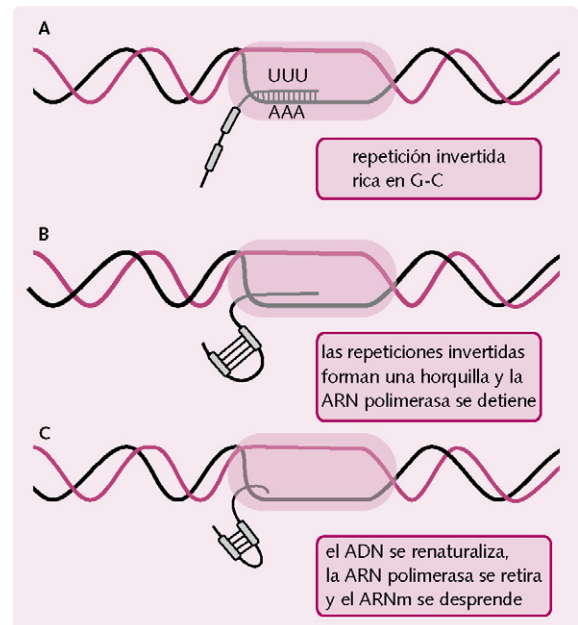
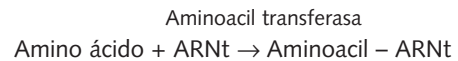
En los procariotas, la modificación postranscripcional del ARNm es muy escasa o nula y la traducción comienza mientras el transcrito de ARN aún se está sintetizando. Sin embargo, los transcritos de ARNr (ARN ribosómico) y de ARNt (ARN de transferencia) sí presentan un cierto grado de modificación postranscripcional. Se sintetizan como una cadena continua que experimenta una escisión postranscripcional por una nucleasa, tras lo que puede producirse una modificación de bases:

- Adición de CCA al extremo 3' de cada ARNt.
- Posible metilación de las bases del ARNt.
- Modificación de las bases del ARNt para producir inosina, pseudouridina y dihidrouridina.

## Traducción procariota

Los componentes necesarios para la traducción son: ARNm, ARNt, ribosoma, GTP, factores de iniciación y factores de elongación.

Los aminoácidos se combinan con sus correspondientes ARNt en una reacción catalizada por una aminoacil transferasa específica.



**Fig. 1.10** Terminación de la transcripción independiente de Ro (intrínseca). A) Las regiones con repeticiones ricas en GC invertidas se autohibridan para formar una estructura en «horquilla». B) La estructura en horquilla rica en GC interactúa con la ARN polimerasa viral haciendo que se detenga. C) La región corta UUU, cuyas bases se emparejan con la secuencia AAA de la cadena de ADN complementaria, tiene una baja estabilidad térmica y se suelta, lo que libera el transcrito de ARN en formación. El ADN se renaturaliza al retirarse la ARN polimerasa.



En las células procariotas, tanto la transcripción como la traducción se producen en el citoplasma. En las células eucariotas, la transcripción tiene lugar en el núcleo y la traducción se produce en el citoplasma.

## Iniciación

El complejo de iniciación consta de un ribosoma, ARNm y ARNt iniciador. El proceso de iniciación requiere:

- Tres factores de iniciación, IF-1, IF-2 e IF-3.
- Una molécula de GTP.

El ARNt iniciador es un f-met-ARNt. Tiene un residuo metionina formilado y reconoce a un codón AUG en el ARNm. Cada ARNm tiene muchos codones AUG en sus diversos marcos de lectura, y el AUG correspondiente al inicio de la traducción está precedido por un segmento rico en purinas de nucleótidos, denominado secuencia de Shine-Dalgarno. Ésta se une a la correspondiente secuencia rica en pirimidinas de la unidad ribosómica S (fig. 1.12).

## Elongación

La elongación de la cadena implica la adición de residuos aminoacil al polipéptido en crecimiento. Se trata de un proceso en tres pasos.

### Paso 1

El aminoacil-ARNt se une al sitio A del ribosoma, del siguiente modo:

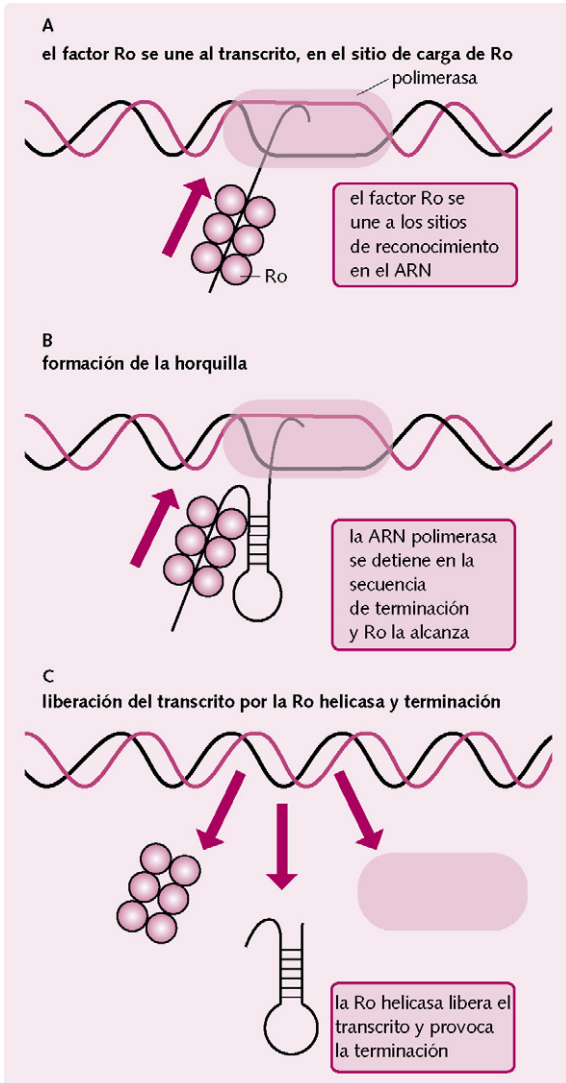
- Se forma un complejo de aminoacil-ARNt, GTP y factor de elongación (EF)-Tu.
- Se produce una unión codón-anticodón con la hidrólisis simultánea de GTP.
- El factor de elongación EF-Ts interactúa en un proceso de reciclado para liberar el GDP y un fosfato inorgánico ( $P_i$ ), así como al EF-Tu, que a continuación puede asociarse con otro aminoacil-ARNt libre.

### Paso 2

La formación del enlace peptídico se cataliza por una peptidil transferasa en la subunidad 50S. El grupo peptidil del sitio P se añade al grupo aminoacil del sitio A, en una reacción gobernada por la formación de un enlace éster de alta energía entre el grupo aminoacil y el ARNt.

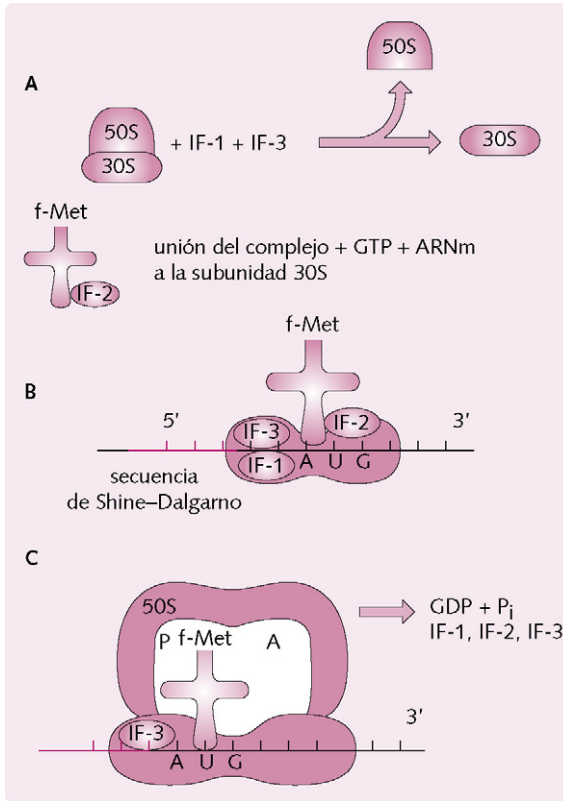
### Paso 3

El proceso de translocación (fig. 1.13) se produce del siguiente modo:



**Fig. 1.11** Terminación de la transcripción dependiente de Ro. La proteína hexamérica Ro es necesaria para terminar la transcripción en alrededor del 50% de los casos en *Escherichia coli*, pero el mecanismo preciso no está claro. Varios experimentos sugieren que: A) la proteína Ro se asocia con el transcrito de ARN en formación en un dominio de unión rico en C. La interacción de Ro con el ARN en formación activa una actividad ATPasa, que parece permitir la translocación de Ro a lo largo del ARNm en dirección 3'. B) La formación de una horquilla detiene a la ARN polimerasa, lo que permite que el hexámero Ro la alcance. C) La actividad Ro helicasa libera el transcrito y provoca la terminación de la transcripción.

Esto incorpora un enlace éster de alta energía entre el grupo aminoacil y el grupo CCA 3' del ARNt, en un proceso denominado «carga» del ARNt, y la energía liberada cuando se rompe este enlace dirige la formación del enlace peptídico en la elongación de la cadena. Al igual que la transcripción, la traducción consta de tres etapas: iniciación, elongación y terminación.



**Fig. 1.12** Factores de iniciación de la traducción procariota. A) Los factores IF-1 e IF-3 se unen a la subunidad 30S del ribosoma para favorecer la disociación de la subunidad 50S. B) El complejo f-Met-IF-2 junto con GTP y el ARNm se unen a la subunidad 30S. El factor IF-2 es necesario para la unión del complejo f-Met-IF-2 al ARNm. Por tanto, la unión f-Met-ARNt-ARNm no depende de la asociación codón-anticodón. El factor IF-3 ayuda en la unión ribosómica de la secuencia de Shine-Dalgarno al ARNm. C) El factor IF-3 se libera y el GTP se hidroliza. La subunidad 50S se asocia y los factores IF-1 e IF-2 se liberan. El complejo f-Met-ARNt se sitúa en el sitio P, por lo que el sitio A está preparado para aceptar un ARNt entrante. (Obsérvese que el f-Met-ARNt es el único ARNt que no entra en el ribosoma por el sitio A.)

- El ARNt descargado se expulsa.
- El peptidil ARNt se transfiere del sitio A al sitio P, lo que requiere EF-G y GTP.
- El ARNt aún está unido al codón del ARNm, por lo que, a medida que el peptidil-ARNt se mueve del sitio A al P, el ARNm se desplaza con él, tras lo que un nuevo codón se sitúa en el sitio A. Este mecanismo permite que se mantenga el marco de lectura.

## Terminación

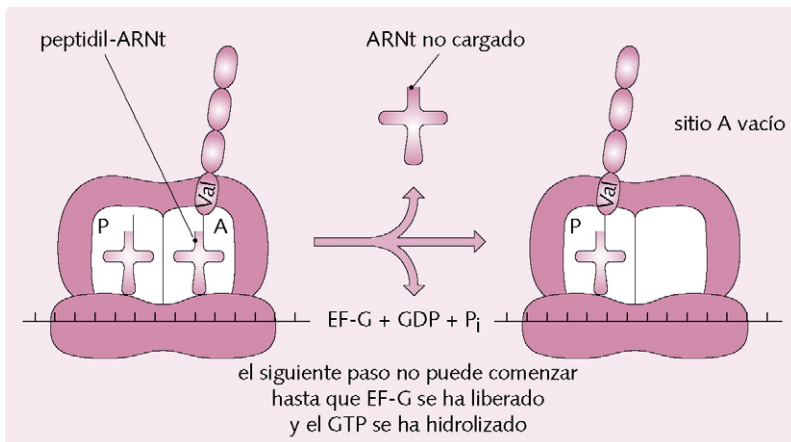
Los codones de terminación (UUA, UAG y UGA) se identifican por los factores de liberación (RF) en lugar de por los ARNt:

- RF-1 reconoce a UAA y UAG.
- RF-2 reconoce a UAA y UGA.
- RF-3, que se une al GTP, estimula la unión ribosómica de RF-1 y RF2.

La unión de un RF hace que la peptidil transferasa transfiera el grupo peptidil al agua en lugar de a un grupo aminoacil. Esto provoca la liberación de un polipéptido. El ARNt no cargado se libera del ribosoma y se expulsan los RF.

## REGULACIÓN GÉNICA

Debido a que los procariotas viven en ambientes donde existe una gran competencia por los nutrientes disponibles, la capacidad de regular la expresión génica es fundamental, pues permite a las bacterias adaptarse a su entorno. Es muy ventajoso para las bacterias contar con la capacidad de metabolizar una amplia variedad de nutrientes. La síntesis de proteínas consume energía, por lo que las bacterias regulan qué proteínas expresan en cada momento. En las bacterias,



**Fig. 1.13** Paso tres de la elongación de la cadena. El ARNt descargado se expulsa del sitio A y el peptidil-ARNt se transfiere del sitio A al sitio P.



los genes que codifican las enzimas de una vía metabólica suelen estar agrupados en el cromosoma en un complejo funcional denominado operón.

## Operones

Un operón bacteriano típico consta de:

- Genes estructurales, que codifican las propias enzimas.
- Una región promotora.
- Una región operadora, que actúa como zona de unión para la proteína denominada represora.
- Un gen regulador, que codifica la proteína represora.

Algunas enzimas, como las que se precisan para el catabolismo de la lactosa, sólo se sintetizan cuando está presente el sustrato apropiado. El control de la expresión de estos genes se realiza por un procedimiento denominado inducción (fig. 1.14).

Otras enzimas, como las necesarias para la síntesis del triptófano, están controladas por represión. El triptófano es esencial para la supervivencia celular, de modo que las enzimas que sintetizan

este aminoácido se expresan de forma continua. Sin embargo, si el triptófano se encuentra en el medio de cultivo, la expresión de estos genes se desactiva (fig. 1.15).

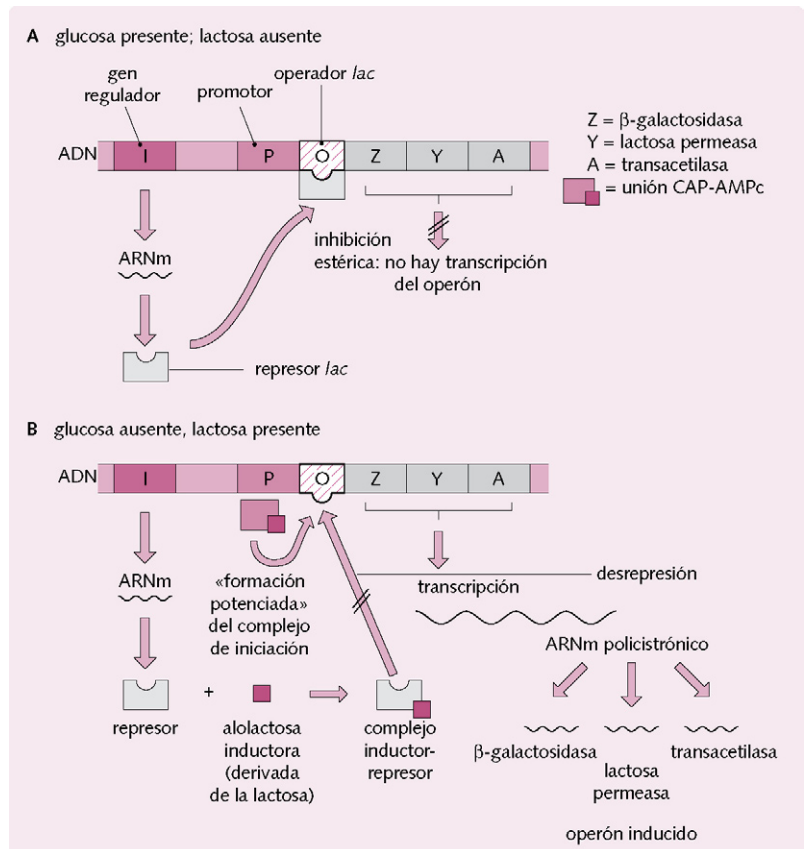
## ANTIBIÓTICOS

La maquinaria celular de las células bacterianas presenta diferencias fundamentales comparada con la de las células de los mamíferos. Éstos pueden tolerar algunas sustancias químicas que son tóxicas para las bacterias. Por tanto, generalmente los seres humanos pueden tomar antibióticos en cantidades adecuadas para tratar las infecciones bacterianas sin que les resulten perjudiciales. En la figura 1.16 se presenta un resumen de las diferencias entre las células bacterianas y humanas.

Los antibióticos se clasifican según tres criterios:

1. Por su sitio de acción, que es el más práctico.
2. Por su estructura química.
3. Por su acción bactericida (muerte) o bacteriostática (inhibición del crecimiento).

**Fig. 1.14** Operón *lac*. A) El «represor *lac*» se une al «operador *lac*» con gran afinidad. El operador *lac* está formado por un segmento de ADN que se solapa con el sitio de iniciación del operón. La unión del represor *lac* evita la formación de un complejo de iniciación de la transcripción, por lo que ésta no puede producirse. B) La lactosa se une al represor *lac* y modifica su forma, de modo que tiene una afinidad mucho menor por el operador *lac*, y se produce la desrepresión. Se forma un complejo de iniciación y comienza la transcripción. Al mismo tiempo, la baja concentración de glucosa provoca un aumento del AMPc intracelular, que se une a la proteína activadora de catabolito (CAP). El complejo CAP-AMPc se une a la región promotora del operón *lac* y estimula la formación de un complejo de iniciación del ARN. (*lacA*, *lacY* y *lacZ* son genes de la transacetilasa, lactosa permeasa y  $\beta$ -galactosidasa, respectivamente.)



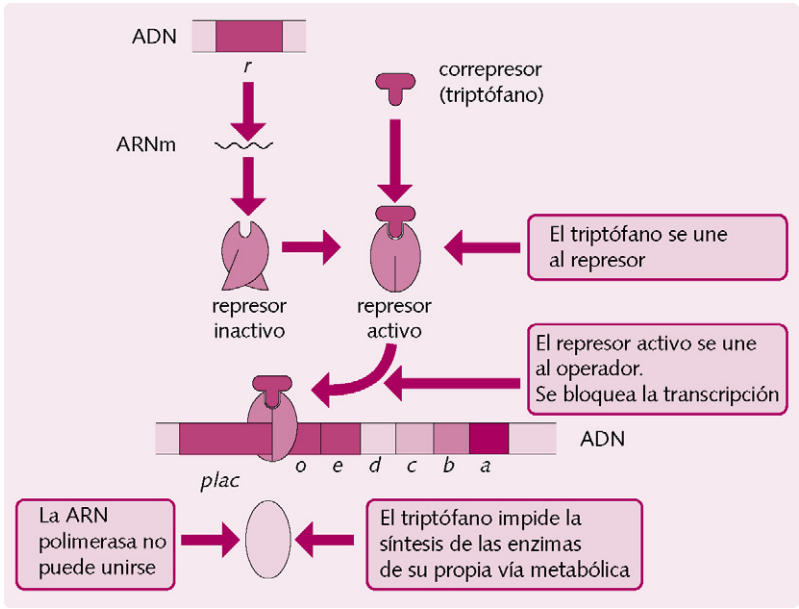


Fig. 1.15 Operón *trp*. Cuando el triptófano es abundante en el entorno, los genes para la síntesis de triptófano están inactivados. Esto se consigue por la unión del triptófano a la proteína represora, lo que la activa. Dado que el represor *trp* no se une a la secuencia operadora de ADN a menos que se active por su unión con el triptófano, éste es un correpresor. Cuando la concentración de triptófano es baja, el triptófano se disocia del represor y éste pierde su capacidad de unirse al ADN. El operador está ahora libre para la ARN polimerasa y se produce la transcripción, lo que permite la expresión de los genes para la biosíntesis de triptófano y permite el acúmulo celular de dicho aminoácido. (*trpE* y *trpD* codifican la antranilato sintetasa, *trpC* codifica la indol-3-glicerol fosfato sintasa y *trpB* y *trpA* codifican la triptófano sintasa.)

Los antibióticos que destruyen las bacterias son irreversibles; los que inhiben el crecimiento son reversibles. Algunas sustancias pueden actuar de distintas formas según el microorganismo que se está tratando, por lo que pueden ser bactericidas en uno, pero sólo bacteriostáticos en otro.

Los antibióticos tienen cinco sitios de acción principales:

- 1. Síntesis de ácidos nucleicos.
- 2. Síntesis de la pared celular.
- 3. Síntesis de proteínas.
- 4. Vías metabólicas.
- 5. Función de la membrana celular.

Los antibióticos bacteriostáticos son las sulfamidas, tetraciclinas, cloranfenicol y eritromicina. Para que sean eficaces, requieren que el sistema inmunitario sea competente. Las sustancias bacteriostáticas evitan el incremento de la población bacteriana, lo que permite que el sistema inmunitario del huésped elimine al resto de los patógenos. Por tanto, la duración del tratamiento debe ser suficiente para permitir la activación de los mecanismos de defensa celular y humoral. No resulta extraño que, en los pacientes inmunodeprimidos, los antibióticos con actividad bactericida sean la alternativa de elección.

Fig. 1.16 Diferencias entre las células bacterianas y humanas

|                              | Bacterianas                                                                                                                                                                     | Humanas                                                                           |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Forma del material genético  | Procariótico, ausencia de núcleo y nucléolo, hebra de ADN bicatenaria única enrollada compactadamente por las topoisomerasas, elementos extracromosómicos denominados plásmidos | Eucariótico, ADN lineal, asociado a proteínas para formar cromosomas, bicatenario |
| Tamaño celular               | Diámetro promedio de 0,5–5 µm                                                                                                                                                   | Hasta 40 µm                                                                       |
| Síntesis proteica            | Subunidades ribosómicas 50S y 30S                                                                                                                                               | Subunidades 60S y 40S                                                             |
| Síntesis de ácidos nucleicos | El folato debe sintetizarse <i>de novo</i> para la síntesis de bases                                                                                                            | El folato debe obtenerse de la dieta                                              |
| Orgánulos                    | Pocos, asociados a la respiración y la fotosíntesis                                                                                                                             | Muchos y diversos                                                                 |

Fig. 1.16 Resumen de las diferencias entre las células bacterianas y humanas.

## Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos

Las diferencias significativas existentes entre la replicación eucariota y procariota permiten elegir de forma diferencial los objetivos de actuación en la replicación procariota. La síntesis de los ácidos nucleicos puede inhibirse a nivel de:

- Replicación del ADN.
- Actividad ARN polimerasa.
- Inhibición de los precursores de los ácidos nucleicos (v. págs. 92-94).

### Replicación del ADN

Las quinolonas (p. ej., ciprofloxacino) inhiben la ADN girasa y la topoisomerasa IV bacterianas, que son enzimas encargadas del desenrollamiento y enrollamiento del ADN superenrollado en ambos lados de la horquilla de replicación, lo que inhibe la replicación del ADN. Son bactericidas y selectivos para las bacterias, por lo que no afectan a las versiones de dichas enzimas propias de los mamíferos.

### Actividad ARN polimerasa

La rifampicina inhibe la síntesis de ARN al inhibir la ARN polimerasa dependiente de ADN, lo que bloquea la síntesis de ARNm. Todos los miembros de la familia de la rifampicina son bactericidas y presentan una toxicidad selectiva con una mayor afinidad por las polimerasas bacterianas que por las enzimas humanas equivalentes.

## Inhibidores de la síntesis de la pared celular

La pared celular es rígida y contiene proteoglicanos lineales que tienen enlaces cruzados formados por péptidos (v. fig. 1.2). La ausencia de estas moléculas en las membranas celulares de los mamíferos permite convertirlas en objetivos de los antibióticos. La alteración de la pared celular hace que la bacteria sea susceptible a la lisis osmótica y su destrucción.

### $\beta$ -lactámicos

Las penicilinas fueron el primer grupo de antibióticos que se descubrió y aún son relevantes en la práctica clínica. La propia penicilina es activa sobre todo (aunque no de forma exclusiva) contra microorganismos grampositivos, mientras que se han desarrollado penicilinas sintéticas por su actividad contra bacilos gramnegativos.

Benzilpenicilina:

- Se usa en el tratamiento de las infecciones por neumococos, otros estreptococos y meningococos. Sin embargo, se han descrito casos de aparición de neumococos resistentes a la benzilpenicilina.
- No es eficaz por vía oral, por lo que debe usarse inyectada.

Las cefalosporinas también son  $\beta$ -lactámicos y tienen el mismo modo de acción que la penicilina. Las cefalosporinas de primera generación eran eficaces sobre todo contra bacterias grampositivas, pero los fármacos modificados de segunda y tercera generación tienen un espectro de actividad mucho más amplio, que incluye las bacterias gramnegativas. También son resistentes a las  $\beta$ -lactamasas. Por tanto, la cefuroxima (segunda generación) es activa frente a *S. aureus* y la ceftazidima (tercera generación) tiene actividad contra las especies de *Pseudomonas* que pueden provocar infecciones en personas inmunodeprimidas.

### Glucopéptidos

Los glucopéptidos vancomicina y teicoplanina inhiben la síntesis de peptidoglucano actuando en una fase más precoz que los  $\beta$ -lactámicos. Se unen de forma covalente al grupo D-alanina-D-alanina terminal del extremo de las cadenas pentapépticas, lo que causa una inhibición estérica de la elongación del esqueleto del peptidoglucano al evitar la incorporación de nuevas subunidades a la pared celular en crecimiento. Sólo son eficaces contra microorganismos grampositivos, pues su gran tamaño implica que no pueden penetrar con facilidad en las células gramnegativas. Debido a su elevado coste y su toxicidad potencial, los glucopéptidos se reservan para las infecciones graves, para aquellas debidas a microorganismos resistentes a otros antibióticos, o para los casos de pacientes con hipersensibilidad a los  $\beta$ -lactámicos.

## Inhibidores de la síntesis proteica

Muchos antibióticos bloquean la síntesis proteica, bien mediante la interrupción de la traducción o por otros mecanismos. Las sutiles diferencias entre los procariotas y los eucariotas, por ejemplo en el tamaño de los ribosomas, significa que es posible la especificidad. Por ejemplo, los inhibidores de la síntesis proteica, como la tetraciclina, la kanamicina y la eritromicina, se dirigen contra los ribosomas procariotas, pero no afectan a los ribosomas de los mamíferos. La inhibición puede efectuarse en todas



las etapas de la traducción, desde la iniciación a la elongación y a la terminación.



Para recordar los antibióticos que interactúan con las distintas subunidades de los ribosomas bacterianos se puede utilizar la regla mnemotécnica: **A Treinta (30S) EL Cincuenta (50S)**.  
**A**=Aminoglucósidos; **T**=Tetraciclina;  
**E**=Eritromicina; **L**=Linezolid; **C**=Cloranfenicol y Clindamicina.

## Antibióticos y mitocondrias

Las células procariotas no poseen orgánulos delimitados por membrana, por lo que no tienen mitocondrias. Sin embargo, se suele aceptar que las mitocondrias eucariotas se originaron como endosimbiontes bacterianos que evolucionaron a partir de células procariotas, de modo que el proceso de traducción de las mitocondrias eucariotas es muy similar al de las células procariotas. Los antibióticos que inhiben la síntesis proteica procariota también pueden afectar a la de las mitocondrias. Sin embargo, los antibióticos no dañan a los huéspedes mamíferos porque:

- Algunos antibióticos no cruzan la membrana interna mitocondrial.
- Las mitocondrias se reemplazan en la división celular. Esto se produce relativamente despacio en la mayoría de las células, por lo que para que se produzca una depleción de mitocondrias el uso de antibióticos debe ser prolongado.
- En las células que presentan una división rápida, en ocasiones el ambiente local puede evitar la captación de antibióticos (p. ej., en el hueso, la elevada concentración de calcio produce la formación de complejos calcio-tetraciclina, de modo que el fármaco no puede captarse por las células de la médula ósea).

## Inhibidores de las vías metabólicas: antimetabolitos

Estas sustancias:

- Se dirigen contra la vía de síntesis del ácido fólico (esta vía produce tetrahidrofolato, que es esencial para la síntesis de nucleótidos).
- No afectan a las células de los mamíferos, porque éstos obtienen el ácido fólico de la dieta.
- Son bacteriostáticos.

Las sulfamidas (p. ej., sulfadiazina) son análogos del ácido  $\gamma$ -aminobenzoico. La trimetoprima inhibe

la dihidrofolato reductasa bacteriana, pero no la eucariota. Se usa en el tratamiento de las infecciones urinarias.

## Inhibidores de la función de la membrana celular

La membrana celular controla la composición interna de la célula y la alteración de dicha membrana puede causar cambios de la función celular y de su permeabilidad, lo que provoca una lesión o la muerte de la célula. Las polimixinas son activas frente a todos los microorganismos gramnegativos, salvo frente a las especies de *Proteus*. Actúan como detergentes catiónicos, alterando la estructura fosfolipídica de la membrana celular. Sólo pueden administrarse por vía sistémica y tienen pocas indicaciones debido a su toxicidad.

## Resistencia a los antibióticos

La resistencia bacteriana a los antibióticos puede ser una característica natural del microorganismo (p. ej., puede carecer de la diana contra la que se dirige la molécula de antibiótico) o puede ser adquirida. La resistencia adquirida es un problema clínico fundamental y se debe a mecanismos que pueden clasificarse de forma general en tres tipos principales:

- Alteración del antibiótico. Algunas bacterias pueden producir una enzima capaz de alterar químicamente la estructura del antibiótico. Dado que dicha estructura es esencial para la interacción con su molécula diana, la alteración química neutraliza al antibiótico antes de que pueda ejercer su efecto. Algunos ejemplos son las  $\beta$ -lactamasas, las enzimas modificadoras de los aminoglucósidos y las cloranfenicol acetiltransferasas.
- Resistencia mediada por el lugar de acción. El lugar de acción, por ejemplo un receptor, puede alterarse, de modo que tenga una afinidad menor por el antibiótico en cuestión.
- Impermeabilidad. Las bacterias pueden reducir la cantidad de fármaco que alcanza el objetivo bien por una disminución de la permeabilidad de la pared celular al antibiótico o bien bombeando el fármaco fuera de la célula (lo que se denomina mecanismo de salida).

Las bacterias también pueden adquirir la resistencia por varios mecanismos, como mutación cromosómica causante de resistencia de clase; transferencia horizontal de genes de resistencia por conjugación, transformación o transducción, o bien por la adquisición

de «genes saltarines» (elementos transponibles) o «casetes» de genes de resistencia (integrones).

## VIRUS

Los virus son partículas infecciosas consistentes en un material nuclear encerrado en una cubierta proteica denominada cápside, que puede estar rodeada por una envuelta fosfolipídica. La partícula viral completa se denomina virión. Los virus son parásitos intracelulares obligados, al ser totalmente dependientes de las células a las que infectan para proporcionar los intermediarios metabólicos, energía y muchas (o todas) las enzimas que requieren para replicarse. Por lo general infectan a sus huéspedes por endocitosis mediada por receptor o por fusión con la membrana celular. Las etapas principales de la replicación viral suelen ser las mismas para todos los virus (fig. 1.17).

La replicación de los genomas virales de ARN es propensa a sufrir errores, lo que causa una diversidad genómica. Esto es especialmente relevante para el desarrollo de resistencia antiviral en el VIH.

Una de las mayores dificultades en terapia génica es lograr introducir el fragmento de ADN a través de la membrana plasmática para llegar hasta el núcleo, evitando la degradación lisosómica. Los virus tienen mecanismos evolucionados muy eficaces para realizar esta acción, por lo que muchos protocolos de terapia génica utilizan vectores virales.

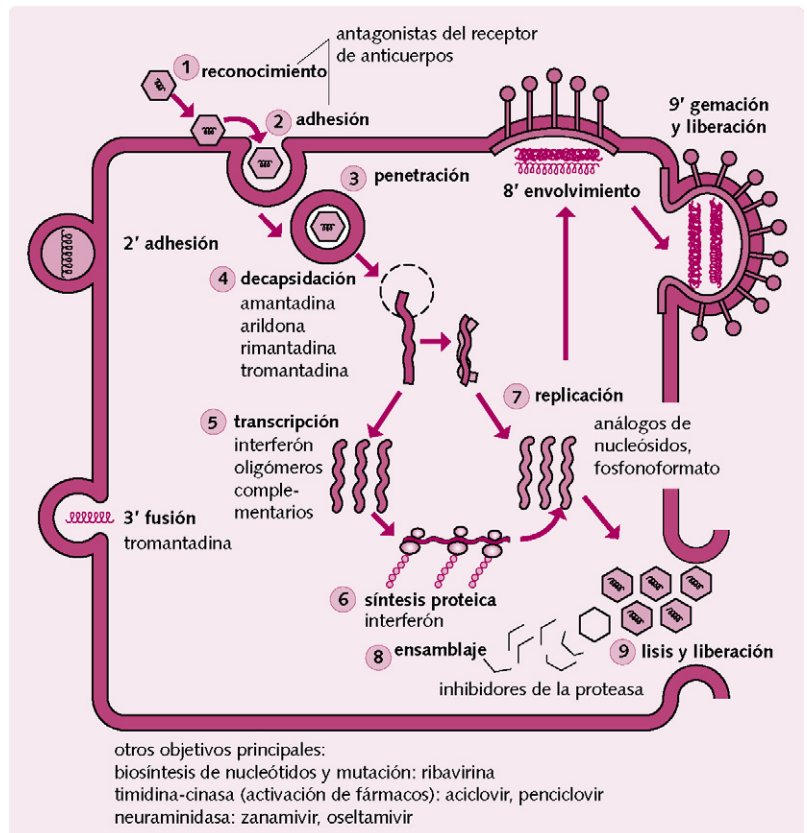


Por el contrario, la replicación de los genomas de ADN está relativamente libre de errores debido a la actividad de corrección de errores de la ADN polimerasa viral.

## Genomas virales

Los genomas virales tienen tamaños muy variables, desde alrededor de 3.200 nucleótidos (hepadnavirus) a unos 1,2 millones de pares de bases (mimivirus). Contienen ADN o ARN, pero no suelen tener ambos. La excepción a esto es el citomegalovirus

**Fig. 1.17** Ciclo vital de un virus. Para replicarse, cada virus debe infectar una célula huésped y «secuestrar» su maquinaria celular. Para que el ciclo continúe, los viriones recién ensamblados deben salir de la célula huésped original para que puedan dirigirse a infectar nuevas células huésped. La figura muestra las 10 etapas que el virus debe pasar de forma satisfactoria a través de este ciclo completo.



(CMV), que contiene tanto un núcleo de ADN como un ARNm.

## Virus de ADN

### Virus de ADN bicatenario

El genoma es una molécula de ADN bicatenario (bc) que consta de una cadena positiva y una cadena negativa. La cadena positiva de ADN se transcribe directamente a ARN viral. Algunos ejemplos destacados son los virus de la familia herpes y los adenovirus.

### Virus de ADN monocatenario

El genoma es una molécula de ADN monocatenario (mc). Una vez que el ADNmc está en el interior de la célula huésped, se convierte en ADNbc, y la cadena negativa de ADN se transcribe a ARNm viral. Algunos ejemplos de ADNmc son el virus asociado a adenovirus y el parvovirus B19.

### Virus de ADN con transcripción inversa

Aunque el genoma de estos virus es un ADN bicatenario, su replicación implica la producción de una molécula intermedia de ARNm, denominada pregenoma, a partir de la que se transcribe de forma inversa en ADN. El virus de la hepatitis B pertenece a este grupo.

## Virus de ARN

### Virus de ARN bicatenario

El genoma es una molécula de ARN bicatenario. La cadena positiva de ARN actúa como un ARNm viral. Un ejemplo es la familia de los reovirus, a la que pertenecen los rotavirus.

### Virus de ARN monocatenario de sentido positivo

El ARN viral de sentido positivo es idéntico a un ARNm viral, y como tal puede traducirse de inmediato a proteínas virales. Como ejemplos, pueden citarse los poliovirus y los virus de la rubéola y de la hepatitis A y C.

### Virus de ARN monocatenario de sentido negativo

El ARN viral de sentido negativo es una imagen especular del ARNm y debe convertirse en un ARN de sentido positivo por una polimerasa dependiente de ARN, codificada por el virus antes de que las proteínas virales puedan traducirse. Algunos ejemplos son los virus de la gripe, sarampión, parotiditis y Ébola.

### Virus de ARN con transcripción inversa

También se denominan retrovirus y son virus de ARNmc de sentido positivo que producen un intermediario de ADN con una única enzima denominada

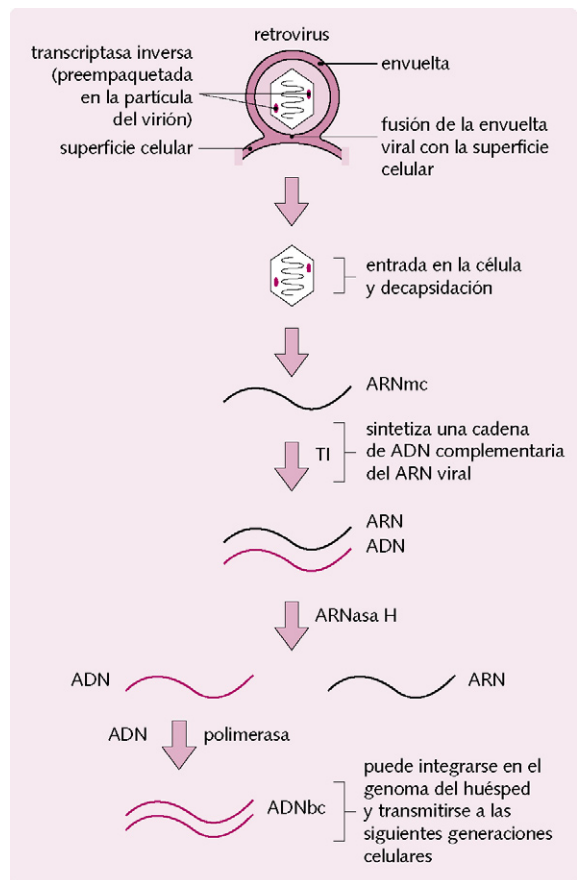


Fig. 1.18 Replicación de los retrovirus.

transcriptasa inversa (figs. 1.18 y 1.19). Pueden citarse en este grupo a los virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y a los virus linfotrópicos T humanos 1 y 2.

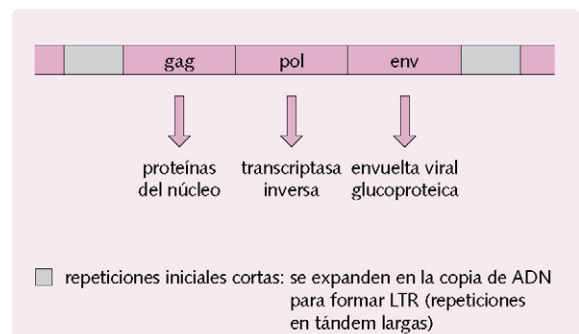


Fig. 1.19 El genoma de un retrovirus codifica tres genes, que están precedidos por una región no codificante que contiene las regiones potenciadora y promotora, que facilitan la expresión del genoma viral por la «maquinaria» del huésped.

Los virus de la inmunodeficiencia humana VIH-1 y VIH-2 son retrovirus y causan la pandemia mundial del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). El VIH se transmite:

- A través de la sangre (punción con agujas, agujas compartidas, hemoderivados contaminados).
- Por contacto sexual (heterosexual y homosexual, así como a partir de donantes de esperma no analizados).
- Por vía materna (durante el embarazo, el parto o la lactancia).

El VIH ataca al sistema inmunitario y lo destruye de forma progresiva. Se dirige de forma específica contra las células CD4 positivas (linfocitos T cooperadores, células dendríticas y macrófagos) al unirse al receptor CD4. El ADN viral se integra en el genoma del huésped y se sintetizan las nuevas partículas virales, tras lo que se liberan los viriones maduros del VIH.

las células huésped, es difícil encontrar fármacos que sean específicos de los virus. Sin embargo, hay enzimas que sólo se codifican por los virus y que ofrecen dianas potencialmente específicas. Por tanto, la mayoría de los antivirales sólo son eficaces mientras el virus se está replicando:

- Adhesión viral a la célula huésped.
- Penetración y decapsidación virales.
- Síntesis del ácido nucleico viral.
- Maduración de la partícula viral.
- Liberación del virus.

### Adhesión viral a la célula huésped

Al interferir con la unión y adsorción de las partículas virales a la célula huésped (v. fig. 1.17), ésta se ve protegida de la infección viral. Aunque, en gran medida, sigue siendo objeto experimental, ha sido aprobado en Estados Unidos un inhibidor de la fusión (T-20) para el tratamiento del VIH. El inhibidor T-20 evita la adhesión viral al linfocito T al unirse al sitio glucoproteico transmembrana del VIH, gp41.

## Patogenia de la infección viral

Después de la infección de una célula, el ensamblaje del virus, su maduración y su liberación, hay múltiples interacciones posibles entre el virus y la célula, que pueden agruparse en tres categorías principales:

1. **Lítica.** Después de la infección, la célula huésped sufre su lisis para permitir la liberación de la nueva progenie viral.
2. **Persistente.** El virus infecta la célula huésped, pero no completa el ciclo de replicación.
3. **Lisogénica.** El ADN viral se integra en el de la célula huésped y, de ese modo, puede transmitirse a las células hijas en cada división celular posterior. Esto puede dar lugar a un fenómeno de latencia o de transformación.

Aunque estas categorías son útiles para clasificar la infección, no son mutuamente excluyentes y los virus pueden ser capaces de experimentar más de un ciclo vital. Por ejemplo, las infecciones líticas por el virus del papiloma humano (VPH) provocan verrugas genitales, mientras que las infecciones latentes por algunas cepas de VPH causan cáncer de cérvix y anogenital.

## Quimioterapia antiviral

Los fármacos antivirales actúan al interferir con la replicación viral. Puesto que los virus utilizan para la replicación las propias vías metabólicas de

### Penetración y decapsidación viral

Después de la adhesión, el virus penetra en la célula huésped en el interior de una vesícula de endocitosis, tras lo que produce la «decapsidación», durante la que la vesícula endocítica y la cápside viral se degradan enzimáticamente y se libera el genoma viral (v. fig. 1.17). Al inhibir esta etapa, el genoma viral no se libera y no puede aprovechar la maquinaria de traducción de la célula. La amantadina evita la decapsidación del virión de la gripe A al interactuar con el canal iónico de membrana M2, al que bloquea de forma esteárica.

### Síntesis del ácido nucleico viral

Los virus codifican enzimas específicas propias. Por ejemplo, las polimerasas suelen estar codificadas por el virus. Entre ellas, pueden citarse.

- ADN polimerasa dependiente de ADN: virus de ADN.
- ARN polimerasa dependiente de ARN: virus de ARN.
- ADN polimerasa dependiente de ARN: retrovirus.

Otros objetivos son las enzimas necesarias para la síntesis de los ácidos nucleicos, como la timidina-cinasa del virus herpes simple.

### Inhibidores de la ADN polimerasa

El aciclovir es un análogo nucleosídico acíclico que actúa como terminador de cadena de la síntesis del ADN de los virus herpes. Es un profármaco que se

convierte a aciclovir monofosfato por la timidina-cinasa codificada por los virus herpes  $\alpha$ . La conversión posterior a aciclovir trifosfato la realizan las enzimas celulares del huésped. A continuación el aciclovir trifosfato compite con la desoxiguanosina trifosfato por la incorporación al ADN viral, lo que provoca la terminación de la síntesis del ADN.

El foscarnet es un análogo de pirofosfato que evita la unión de nucleótidos, lo que inhibe la replicación viral. Es activo frente a virus herpes y su principal aplicación es en el tratamiento de la enfermedad grave por citomegalovirus y para tratar la infección por virus herpes resistente a aciclovir.

### Inhibidores de la transcriptasa inversa

Los inhibidores de la transcriptasa inversa (ITI) han revolucionado el tratamiento del VIH. Las principales clases de ITI son:

- Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIN).
- Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleótidos (ITINt).
- Inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleosídicos (ITINN).

Los ITIN inhiben la ADN polimerasa dependiente de ARN (transcriptasa inversa) y se incorporan al ADN, lo que provoca la terminación de la cadena. Requieren la conversión a su forma «trifosfato» activa para activarse. Algunos ejemplos son la zidovudina (denominada también azidotimidina o AZT), que es un análogo de la timidina, y la didanosina (ddI), un análogo de la desoxiadenosina, que se fosforila en la célula huésped y compite con los nucleótidos trifosfatos celulares en el proceso de transcripción inversa. La  $\gamma$  ADN polimerasa mitocondrial del huésped también es susceptible a los ITIN, lo que probablemente explique algunos de los efectos secundarios habituales, como la anemia

y la neutropenia, trastornos digestivos, alteraciones de la función hepática, cefalea, fiebre y exantema cutáneo.

Los ITINt difieren de los ITIN porque sólo requieren un paso de fosforilación en la célula para activarse, por lo que son menos tóxicos. Un ejemplo es el tenofovir, el único ITINt que está autorizado en la actualidad para el tratamiento del VIH.

Los ITINN tienen un modo de acción distinto. No se incorporan al ADN viral, sino que inhiben la replicación directamente al unirse de forma no competitiva a la transcriptasa inversa. Como ejemplos, pueden citarse la nevirapina y el efavirenz.

### Maduración de la partícula viral

Los viriones recién sintetizados deben madurar para que puedan infectar una nueva célula huésped (v. fig. 1.17). La proteasa del VIH es una enzima esencial en la maduración de este virus. Los inhibidores de la proteasa, como el saquinavir, nelfinavir y ritonavir, evitan el ensamblaje viral al inhibir la actividad de la proteasa viral, la enzima necesaria para escindir las poliproteínas en proteínas con actividad funcional. Como resultado, el VIH no puede madurar y se producen virus no infecciosos.

### Liberación del virus

La etapa final del ciclo vital de un virus es la liberación de los virus completos a partir de la célula huésped (v. fig. 1.17). La neuraminidasa, una de las dos glucoproteínas de superficie del virus de la gripe, escinde los residuos de ácido siálico de la célula huésped, lo que libera los nuevos viriones. Los inhibidores de la neuraminidasa zanamivir y oseltamivir, que son activos contra los virus de la gripe A y B, son inhibidores competitivos reversibles del sitio activo de la neuraminidasa.





## Objetivos

En este capítulo aprenderás a:

- Dibujar y nombrar los componentes de una célula procariota típica y de una célula eucariota típica.
- Explicar por qué las células eucariotas son más grandes que las procariotas.
- Resumir las diferencias entre los procariotas y los eucariotas.
- Describir las especializaciones de la membrana celular epitelial.
- Comprender el modo en el que la estructura de los orgánulos membranosos se relaciona con su función.
- Enumerar los tres componentes del citoesqueleto.
- Resumir la estructura y función de los cilios.
- Describir dos tipos de células especializadas y explicar la relación entre su estructura y su función.
- Explicar la diferenciación celular y la memoria celular.

## LA CÉLULA EUCARIOTA

Todos los organismos que contienen células con membrana nuclear se incluyen en el superreino de los eucariotas. Los reinos Animalia, Plantae, Protista y Fungi pertenecen todos a este grupo. La célula eucariota típica (fig. 2.1) presenta las siguientes características:

- Una compleja red de membranas internas que dividen la célula en distintos compartimentos que desarrollan funciones específicas.
- La célula se divide por mitosis.
- Posee orgánulos especializados tales como los centríolos, husos mitóticos, mitocondrias y microtúbulos.

A diferencia de las células procariotas, las eucariotas emplean la endocitosis (v. cap. 4). Por este procedimiento, porciones de la membrana plasmática se invaginan para formar vesículas que captan nutrientes desde el espacio extracelular hacia los compartimentos internos de la célula. De este modo, la endocitosis constituye un mecanismo que supera las limitaciones de la difusión simple, al permitir a las células mantener un cociente superficie/volumen relativamente pequeño. Por tanto, las células eucariotas son, como promedio, mucho mayores que las procariotas (fig. 2.2). En una típica célula de origen animal, los distintos orgánulos especializados ocupan casi la mitad del volumen celular total.

## ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LOS ORGÁNULOS DE LOS EUCARIOTAS

Las células eucariotas poseen una compleja ultraestructura que incluye orgánulos con membrana y sin membrana. Estas estructuras desempeñan funciones específicas dentro de la célula.

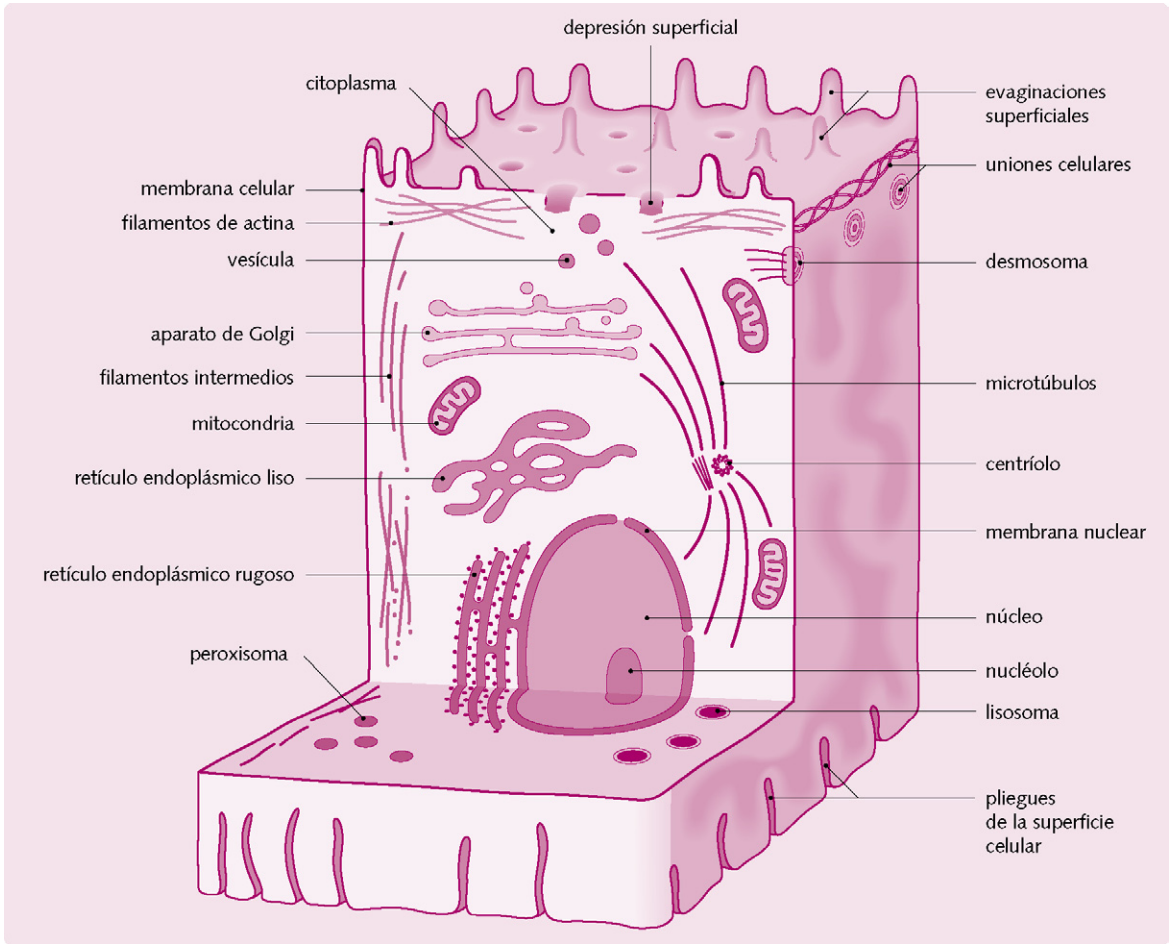
### Membrana plasmática

La membrana plasmática es una barrera con permeabilidad selectiva que rodea a la célula eucariota, formando una interfase dinámica entre el citosol y el entorno. Las moléculas apolares (liposolubles) difunden a través de la bicapa lipídica por difusión pasiva, mientras que las moléculas polares se transportan entre la célula y el líquido extracelular por proteínas inmersas en la bicapa (por difusión facilitada o transporte activo; v. cap. 3).

### Orgánulos membranosos

Los orgánulos membranosos están rodeados por una bicapa lipídica. Mantienen ambientes bioquímicos específicos que contienen grupos característicos de enzimas.





**Fig. 2.1** Estructura de una célula eucariota típica. El material genético se encuentra contenido en el interior de la membrana nuclear. Las organelas rodeadas por membranas actúan como compartimentos para las funciones celulares específicas, permitiendo una mayor diversidad y especialización celulares. Los componentes del citoesqueleto mantienen la forma celular y facilitan funciones dinámicas como la endocitosis. (Adaptada de Stevens y Lowe, 1997.)

**Fig. 2.2** Características básicas de las células procariotas y eucariotas.

**Fig. 2.2** Células procariotas comparadas con las eucariotas

| Células procariotas                         | Células eucariotas                                                                                |
|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Incluidas bacterias y algas verdes y azules | Cuatro grupos principales: protozoos, hongos, vegetales y animales                                |
| Ausencia de núcleo verdadero                | Núcleo verdadero                                                                                  |
| ADN circular y libre                        | ADN lineal y dentro del núcleo                                                                    |
| Ausencia de orgánulos de membrana           | Compartimentación interna con orgánulos y, por tanto, división de las funciones (especialización) |
| Reproducción binaria simple                 | Reproducción por mitosis (y por meiosis)                                                          |
| Sin desarrollo de tejidos                   | Frecuente formación de sistemas tisulares y orgánicos                                             |
| Tipos multicelulares raramente              | Organismo unicelular independiente o como parte de un organismo multicelular                      |
| Tamaño: 1-10 $\mu\text{m}$                  | Tamaño: 10-100 $\mu\text{m}$                                                                      |

# Núcleo

El núcleo (fig. 2.3) está rodeado por una doble membrana, con un espacio de separación entre ellas que se continúa en algunos puntos con el retículo endoplásmico. El núcleo contiene el material genético de la célula (cromosomas, v. cap. 6). También puede contener una o más áreas de tinción densa denominadas nucléolos, cuyo papel principal consiste en realizar la biosíntesis del ARN ribosómico (ARNr) y el ensamblaje de los ribosomas.

Colágeno, del gen a la matriz extracelular

Núcleo: el gen del colágeno se transcribe para producir un ARNm, que sale del núcleo por los poros nucleares.



Fig. 2.3A Orgánulos

| Estructura                                                                                                                                                                                                                                                            | Fotografía de microscopia electrónica | Elementos estructurales                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>núcleo</b></p> <p>cromatina</p> <p>nucleoplasma</p> <p>proteínas</p> <p>nucléolo</p> <p>envuelta nuclear</p> <p>los poros nucleares permiten el paso de moléculas hasta del tamaño del ARN</p>                                                                  | <p>MN</p> <p>H</p> <p>N</p> <p>E</p>  | <p>Proteínas, nucleoplasma, cromatina, nucléolo (N), envuelta nuclear, poros nucleares que permiten el paso de moléculas hasta del tamaño del ARN, doble membrana nuclear (MN), heterocromatina (H), que se tiñe densamente, y eucromatina (E), que se tiñe menos</p> |
| <p><b>mitocondria</b></p> <p>matriz interna que contiene enzimas del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (ciclo de Krebs)</p> <p>ADN circular</p> <p>membrana externa</p> <p>ribosomas y ARNm propios</p> <p>proyecciones de la membrana interna formando crestas</p> | <p>ME</p> <p>MI</p> <p>C</p>          | <p>matriz interna (MI) que contiene las enzimas del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (ciclo de Krebs), ADN circular, membrana externa (ME), proyecciones de la membrana interna que forman crestas (C), ribosomas y ARNm propios</p>                               |
| <p><b>retículo endoplásmico rugoso (RER)</b></p> <p>retículo endoplásmico rugoso</p> <p>vesícula transicional</p>                                                                                                                                                     |                                       | <p>los túbulos membranosos que constituyen el RER se encuentran tachonados por ribosomas que les confieren un aspecto rugoso; vesículas de transporte</p>                                                                                                             |

Fig. 2.3 Orgánulos. (Fotografías de microscopia electrónica por cortesía del Dr. Trevor Gray.)

Fig. 2.3B Órganulos

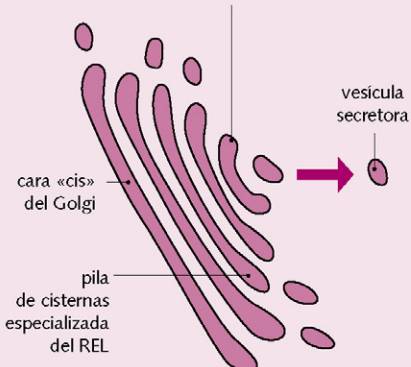
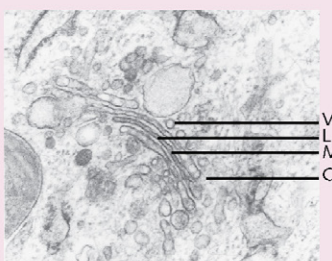
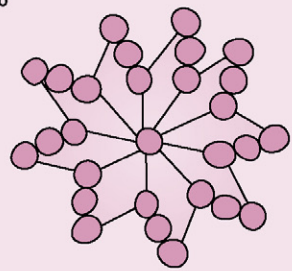
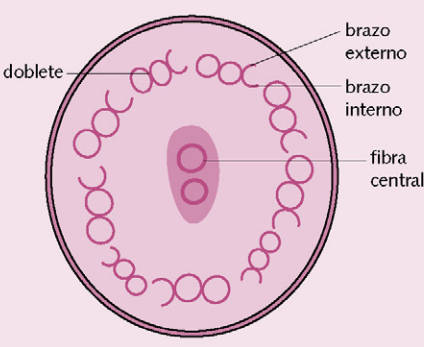
| Estructura                                                                                                                                                                                                                                                    | Fotografía de microscopía electrónica                                                                        | Elementos estructurales                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>aparato de Golgi</b><br/>la cara «trans» del Golgi es cóncava</p>  <p>vesícula secretora</p> <p>cara «cis» del Golgi</p> <p>pila de cisternas especializada del REL</p> |  <p>V<br/>L<br/>M<br/>C</p> | <p>Cara «cis» del Golgi (cis), cara trans (trans), que es cóncava, pilas paralelas de cisternas especializadas de REL en el interior de la membrana (M) que delimitan la luz del Golgi (L) del citosol (C). Las vesículas (V) de transporte pueden observarse en su trayecto desde el retículo endoplásmico; las vesículas secretoras se alejan</p> |
| <p><b>centríolo</b></p>                                                                                                                                                     |                                                                                                              | <p>Sección transversa a través de un centriolo, en la que se muestra la estructura básica del centriolo de nueve grupos de tres microtúbulos fusionados</p>                                                                                                                                                                                         |
| <p><b>cilio</b></p>  <p>brazo externo</p> <p>brazo interno</p> <p>fibra central</p> <p>doblete</p>                                                                          |                           | <p>Sección transversa a través de un cilio en la que se muestra la estructura característica 9 + 2 de los microtúbulos</p>                                                                                                                                                                                                                          |

Fig. 2.3 (cont.)

En el núcleo tienen lugar varios procesos, como:

- Se enclaustra y replica el ADN.
- Se transcribe y se modifica el ARN.
- Se produce el intercambio selectivo facilitado de moléculas con el citoplasma, como el ARN, por ejemplo el ARN de transferencia (ARNt), a través de los poros nucleares.
- Se producen los ribosomas en el interior del nucléolo.

## Mitocondrias

En la [figura 2.3](#) se ilustra la estructura de una mitocondria. Las mitocondrias son orgánulos semiautónomos y autorreplicantes, dotados de sus propios ribosomas, ARN y varias copias de una molécula de ADN, el genoma mitocondrial (v. [cap. 6](#)). El ADN mitocondrial tiene un patrón de herencia materna, y sus mutaciones pueden causar enfermedades genéticas.

La función principal de las mitocondrias en las células aerobias es la fosforilación oxidativa y la producción de energía mediante la síntesis de ATP. Además de esta tarea esencial, las mitocondrias también tienen un papel destacado en la apoptosis y en el control del  $\text{Ca}^{2+}$  celular. Asimismo, son productores potentes de radicales libres, un proceso implicado en muchos estados patológicos, como la enfermedad de Alzheimer y las enfermedades cardiovasculares.

## Retículo endoplásmico rugoso (granular)

El retículo endoplásmico rugoso (RER) es un laberinto de sacos membranosos, denominados cisternas, a los que se unen ribosomas, lo que les proporciona una apariencia «rugosa» al microscopio electrónico ([fig. 2.3](#)). Los ribosomas de las cisternas producen polipéptidos que, a su vez:

- Se insertan en la membrana.
- Se liberan a la luz de las cisternas.
- Son transportados al complejo de Golgi o a distintos lugares.

Las proteínas producidas dentro del RER se almacenan en vesículas o se secretan. Las células que producen grandes cantidades de proteínas secretoras tienen un RER muy desarrollado (p. ej., las células de los acinos pancreáticos y las células plasmáticas).



Colágeno, del gen a la matriz extracelular

Retículo endoplásmico rugoso (RER): el ARNm se traduce para producir el polipéptido del «preprocolágeno» inmaduro en la superficie del RER. El preprocolágeno es una molécula precursora consistente en procolágeno y un «péptido señal» N-terminal, necesario para que el polipéptido atraviese la membrana del RER. En la luz del RER, el péptido señal se escinde, lo que da lugar a procolágeno. A partir de aquí, el procolágeno experimenta una serie de modificaciones covalentes, como hidroxilación, para dar lugar a hidroxiprolina e hidroxilisina, y la glucosilación de la hidroxilisina. Grupos de tres cadenas  $\alpha$  de procolágeno se organizan en una molécula trimérica y después en una conformación de triple hélice. A continuación, las moléculas se empaquetan en vesículas secretoras para su viaje posterior a la cara cis del aparato de Golgi.

## Retículo endoplásmico liso (agranular)

El retículo endoplásmico liso (REL) es un laberinto de cisternas, con muchas enzimas adheridas a su superficie o localizadas dentro de sus cisternas. El REL:

- Produce hormonas esteroideas (p. ej., en el ovario).
- Depura los líquidos corporales (p. ej., en el hígado).

Los hepatocitos tienen un retículo endoplásmico liso (REL) muy desarrollado, que contiene una gran proporción de las enzimas desintoxicadoras del organismo, como los citocromos P450.

La inducción enzimática causada por algunos fármacos puede ir seguida de la proliferación del REL, acompañada por la producción de más enzimas desintoxicantes, lo que puede provocar una mayor degradación del fármaco. Esto influye en la dosis necesaria para alcanzar el umbral terapéutico y produce una pérdida del efecto terapéutico.



### Aparato de Golgi

El aparato de Golgi (fig. 2.3) es un sistema polarizado de sacos membranosos aplanados, cada uno de los cuales tiene una cara cis y otra trans. Están implicados en la modificación (p. ej., por glucosilación), clasificación y empaquetado de macromoléculas, para su secreción o transporte hacia otros orgánulos. La ordenación de las proteínas y su empaquetamiento se produce en la cara trans. Las células que sintetizan muchos productos de secreción poseen aparatos de Golgi muy desarrollados (p. ej., los hepatocitos).

Colágeno, del gen a la matriz extracelular

Aparato de Golgi: el transporte a través del aparato de Golgi se acompaña de una modificación de los grupos oligosacáridos.



Junto con el retículo endoplásmico, el aparato de Golgi constituye el sistema endomembranoso.

### Lisosomas

Los lisosomas son componentes fundamentales de la digestión intracelular (v. cap. 4) y derivan de la cara trans del aparato de Golgi. Las células especializadas en la fagocitosis (p. ej., macrófagos) poseen muchos lisosomas que:

- Contienen material amorfo, granuloso y unos 60 tipos de enzimas hidrolíticas.
- Su tamaño varía desde 50 nm hasta más de 1  $\mu\text{m}$ .
- Digieren sustancias mediante hidrolasas activas a pH ácido.

### Peroxisomas

Los peroxisomas son cuerpos vesiculares de menor tamaño que los lisosomas, y contienen enzimas específicas. Derivan del retículo endoplásmico. Algunas de las funciones de los peroxisomas son las reacciones biogénicas (es decir, colesterol, bilis y plasmalógenos), la degradación de ácidos grasos (mediante  $\beta$ -oxidación) y la degradación del exceso de purinas para producir urea. Son necesarios para la degradación de compuestos tóxicos, por lo que son muy abundantes en el hígado y el riñón. Algunas enfermedades en las que se han implicado los peroxisomas son la adrenoleucodistrofia ligada al X y el síndrome de Zellweger.

El síndrome de Zellweger es una enfermedad rara autosómica recesiva, que se caracteriza por la disminución o ausencia de peroxisomas, lo que provoca muchas alteraciones del metabolismo lipídico por una acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga. También causa una disfunción neurológica grave, lo que sugiere que los lisosomas son necesarios para la migración neuronal normal en el sistema nervioso central. Los pacientes suelen fallecer a los 6 meses de iniciado el cuadro clínico, lo que destaca la relevancia fisiológica de estos orgánulos, por lo general como resultado de dificultad respiratoria, hemorragia digestiva o insuficiencia hepática.

### Vesículas secretoras

Las vesículas secretoras son orgánulos que transportan sus contenidos, como hormonas y neurotransmisores, al exterior celular, para lo que se fusionan con la membrana plasmática. Derivan de la cara trans del aparato de Golgi y pueden producirse de forma:

- Constitutiva (p. ej., el colágeno de los fibroblastos y la producción de albúmina por los hepatocitos).
- Regulada (p. ej., insulina por las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos).

Colágeno, del gen a la matriz extracelular

Vesícula secretora: el procolágeno modificado se segrega de forma constitutiva por los fibroblastos. Tras la secreción, los extremos terminales no enrollados del procolágeno se escinden para formar tropocolágeno, que se agrega entre sí mediante los enlaces de los residuos de lisina y de hidroxilisina para formar una fibrilla de colágeno.



## Orgánulos no membranosos

### Ribosomas

Las células eucariotas poseen ribosomas «80S», que constan de una subunidad pequeña 40S y una subunidad grande 60S. Los ribosomas que sintetizan proteínas para su uso en el citosol celular se encuentran suspendidos en el interior del citosol,

mientras que las proteínas destinadas a la membrana plasmática o a las vesículas celulares se fijan a la cara citosólica de las membranas del retículo endoplásmico (v. pág. 27).

## El citoesqueleto

El citoesqueleto es el almacén interno de la célula y está formado por filamentos y túbulos. Las estructuras citoesqueléticas mantienen y modifican la forma de la célula mediante el reordenamiento de los elementos citoesqueléticos. Resultan esenciales en la endocitosis, la división celular, los movimientos ameboides y la contracción de las células musculares. Existen varias clases de estructuras citoesqueléticas:

- Microfilamentos de actina.
- Microtúbulos de tubulina.
- Filamentos intermedios formados por proteínas filamentosas intermedias, como la queratina.

Estas estructuras pueden entrecruzarse con otras proteínas para formar redes u orgánulos especializados; los más comunes son los siguientes:

- Centríolos: suelen encontrarse en parejas y, en las células que no se dividen, están alineados en perpendicular entre sí. La estructura básica del centríolo está formada por nueve grupos de tres microtúbulos unidos como un cilindro alrededor de una cavidad central (fig. 2.3). Cuando las células se preparan para dividirse, el par de centríolos se separa y cada uno se dirige al polo opuesto de la célula, donde constituyen el lugar de ensamblaje del huso mitótico en la división celular.
- Cilios: usados por algunas células para ayudar en el movimiento de la célula o de sustancias a lo largo de la superficie celular (p. ej., las células de las trompas de Falopio desplazan el óvulo hacia el útero). Los cilios se unen a unas estructuras denominadas cuerpos basales, cuya estructura es idéntica a la de los centríolos, que están anclados a la cara citoplásmica de la membrana plasmática. Los microtúbulos, originados de los cuerpos basales, se organizan en una disposición «9 + 2» con nueve dobletes de microtúbulos que rodean dos microtúbulos únicos (fig. 2.3). Los brazos laterales de dineína se extienden entre los dobletes adyacentes e hidrolizan ATP para generar una fuerza de deslizamiento entre ellos. Esta acción es la base del batido ciliar. Los cilios también pueden ser no motiles (sensitivos), como los de los bastones del ojo y las fibras terminales de las neuronas olfatorias, donde tienen una

El síndrome de Kartagener es un síndrome autosómico recesivo caracterizado por la presencia de situs inversus, sinusitis crónica y bronquiectasias. La motilidad ciliar está producida por las dineínas y otras proteínas relacionadas con los microtúbulos. La presencia de defectos ultraestructurales en dichas proteínas provoca discinesia ciliar, que es la supuesta base del síndrome de Kartagener. La alteración de la función ciliar provoca la reducción o ausencia de aclaramiento de moco en los pulmones y una susceptibilidad a las infecciones respiratorias recidivantes y crónicas. Se cree que el situs inversus (una disposición especular de los órganos) se produce porque se requiere una interacción entre los cilios motiles y sensoriales para la determinación del eje izquierda-derecha en el desarrollo precoz de los vertebrados.

disposición «9 + 0», en la que no existe el par central de microtúbulos.

- Flagelos: son cilios de gran longitud empleados en la propulsión de los espermatozoides. Los flagelos de los eucariotas tienen una estructura «9 + 2», por lo que su estructura y origen son distintos a los de los flagelos procariotas.
- Microvellosidades: son extensiones no móviles de la membrana plasmática, mantenidas por actina, que aumentan la superficie de la célula (p. ej., el borde en cepillo del intestino delgado).
- Seudópodos: aunque no son auténticas especializaciones, los pseudópodos son extensiones de la membrana plasmática formadas por la polarización de la actina. Suelen observarse en los fagocitos, como los macrófagos.
- Uniones: son puntos de adhesión intercelulares y entre la célula y su membrana basal. Se describen con más detalle en el capítulo 4.

## DIVERSIDAD CELULAR DE LOS ORGANISMOS PLURICELULARES

### Especialización celular

Se cree que los organismos pluricelulares evolucionaron debido a que células especializadas que actuaban conjuntamente pudieron combinarse y formar un único organismo, capaz de explotar nichos ecológicos no asequibles a cualquiera de las células constitutivas por separado.



**Fig. 2.4** Especialización celular en los tejidos

| Estructura tisular                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Función                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Tipos celulares especializados                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>T Tejido epitelial</b><br><br>Formado por láminas continuas de células conectadas entre sí mediante uniones estrechas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | El tejido epitelial recubre las superficies internas y externas del organismo constituyendo una barrera con permeabilidad selectiva<br><br>Las superficies epiteliales pueden estar especializadas para: <ul style="list-style-type: none"> <li>• absorción</li> <li>• transporte de sustancias</li> <li>• secreción</li> </ul>                                                                                                                                                        | Células de absorción: la membrana plasmática luminal se pliega en microvellosidades para incrementar la superficie (p. ej., vellosidades intestinales)<br><br>Células ciliadas: la membrana plasmática luminal está recubierta por cilios que baten sincronizados (p. ej., transporte mucociliar ascendente traqueal)<br><br>Células secretoras: el RER y el aparato de Golgi están muy desarrollados (p. ej., células principales del estómago)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>T Tejido muscular</b><br><br>Constituido por grupos de células que contienen proteínas fibrilares, dispuestas de forma organizada en el citoplasma y unidas por enlaces intermoleculares<br><br>El músculo esquelético y el cardíaco tienen aspecto estriado                                                                                                                                                                                                                                                      | El músculo actúa para generar movimiento. La contracción se produce por la reorganización de conexiones internas entre proteínas fibrilares<br><br>El tejido muscular está especializado para permitir: <ul style="list-style-type: none"> <li>• el movimiento voluntario del esqueleto</li> <li>• los movimientos involuntarios de sustancias a través de las vísceras</li> <li>• la contracción sincrónica continua del corazón</li> </ul>                                           | Células musculares estriadas: cada fibra muscular es una enorme célula multinucleada que se extiende a lo largo de todo el músculo (los núcleos se localizan en la periferia de la célula). De este modo, la estimulación produce una contracción simultánea a lo largo de todo el músculo, en dirección longitudinal<br><br>Células musculares lisas: las células son relativamente pequeñas con extremos afilados y un único núcleo. Las células se disponen en capas dispuestas perpendiculares entre sí para facilitar el peristaltismo<br><br>Células musculares cardíacas: las células tienen forma de Y con un núcleo en situación central. Las ramas longitudinales de las células adyacentes se unen mediante discos intercalados. Esta estructura permite la rápida transmisión del estímulo contráctil de una célula a otra                                                                                                                    |
| <b>T Tejido conjuntivo</b><br><br>Constituido por células y material extracelular. El material extracelular es secretado por las células y determina las propiedades físicas del tejido. Está compuesto por una sustancia fundamental, fibras (colágeno y elastina) y glucoproteínas estructurales                                                                                                                                                                                                                   | El tejido conjuntivo proporciona soporte metabólico y estructural a otros tejidos y órganos<br><br>El tejido conjuntivo laxo actúa como material de empaquetado biológico<br><br>El tejido conjuntivo denso proporciona un soporte físico consistente. Por ejemplo, forma el esqueleto, la dermis y las cápsulas de los órganos                                                                                                                                                        | Fibroblastos: sintetizan y mantienen el material extracelular. Desempeñan un papel activo en la cicatrización de heridas, en la que los fibroblastos contráctiles especializados (miofibroblastos) proporcionan la retracción del tejido cicatricial<br><br>Adipocitos: acumulan y mantienen la grasa. Se disponen en grupos en el tejido conjuntivo laxo y forman el principal tipo celular del tejido adiposo. La grasa almacenada forma una gran gota que ocupa casi todo el citoplasma<br><br>Condroblastos y condrocitos: producen y mantienen el cartilago<br><br>Osteoblastos, osteocitos y osteoclastos: células especializadas que producen, mantienen y reabsorben el hueso, respectivamente<br><br>Células sanguíneas: leucocitos (glóbulos blancos), plaquetas (trombocitos) y eritrocitos (glóbulos rojos). Entre sus funciones se encuentra la defensa inmunitaria, la coagulación de la sangre y el transporte de oxígeno, respectivamente |
| <b>T Tejido nervioso</b><br><br>El tejido del sistema nervioso periférico está compuesto por neuronas y células de Schwann<br><br>El tejido del sistema nervioso central está constituido por neuronas y células neurogliales (oligodendrocitos, astrocitos, microglia y células ependimarias). Desde el punto de vista macroscópico, se divide en sustancia gris y sustancia blanca. La sustancia blanca está constituida por haces de fibras mielínicas. La sustancia gris está constituida por cuerpos neuronales | El tejido nervioso detecta cambios en el ambiente interno y externo. Mediante la transmisión y el procesamiento de esta información coordina las actividades de los organismos pluricelulares para producir una respuesta apropiada<br><br>El tejido nervioso está especializado en: <ul style="list-style-type: none"> <li>• la detección de los cambios ambientales</li> <li>• la transmisión de la información</li> <li>• la integración y el análisis de la información</li> </ul> | Receptores sensitivos: existen numerosos tipos celulares especializados en la detección de cambios ambientales, por ejemplo corpúsculos de Pacini (barorreceptores que detectan presión en la piel)<br><br>Neuronas: especializadas en la recepción y transmisión de información. Por tanto, sintetizan neurotransmisores y receptores de neurotransmisores. Múltiples dendritas permiten su comunicación con diversas células vecinas y funcionan como sitios de entrada de información. El axón puede ser muy largo y facilita la transmisión de la información a sitios distantes. Botones sinápticos terminales surgen en el extremo del axón y lo comunican con otras neuronas o con el órgano efector<br><br>Células de Schwann/oligodendrocitos: células especializadas que envuelven los axones neuronales para formar la vaina de mielina y proporcionan soporte estructural y metabólico                                                        |

**Fig. 2.4** Especialización celular de los tejidos epitelial, conjuntivo, nervioso y muscular.

Tipos similares de células especializadas se combinan para formar tejidos, de los que existen cuatro tipos principales, adaptados cada uno a una función específica (fig. 2.4). Por definición, las células especializadas presentan características estructurales que les permiten desarrollar su función concreta. Para cooperar y coordinar sus actividades en los animales pluricelulares:

- Las células se unen entre sí mediante elementos de adhesión entre sus membranas plasmáticas y la matriz extracelular (v. cap. 4).
- Las células interactúan y se comunican entre sí (v. cap. 3).

## Diferenciación

En los tejidos humanos se identifican más de 200 tipos de células que se diferencian en su estructura, función y metabolismo. Todos los tipos celulares derivan de una única célula (el cigoto), tras la

concepción. El cigoto se define como totipotencial, dado que es capaz de diferenciarse, en último término, en todos los tipos celulares que constituyen el organismo adulto. Durante el desarrollo humano, las células somáticas no pierden material genético (excepto los eritrocitos), de modo que los distintos tipos celulares son el resultado de mecanismos como la impronta y la expresión génica diferencial.

Durante el desarrollo, las células se diferencian a medida que se expresan cascadas sucesivas de proteínas que regulan el ADN de cada célula, limitando la transcripción a determinados fragmentos del genoma y potenciando otros. Las señales de desarrollo que inician la diferenciación en las células humanas proceden de las células circundantes. Sin embargo, las células diferenciadas y sus descendientes, incluso cuando son retiradas de su ambiente normal, conservan muchas de sus características funcionales. Este concepto se denomina memoria celular, dado que las modificaciones del ADN que limitan la transcripción (cambios «epigenéticos») persisten y se transmiten a las células hijas.

# La membrana celular



## Objetivos

En este capítulo aprenderás a:

- Dibujar un esquema del modelo de mosaico fluido de la membrana plasmática, indicando sus partes.
- Comentar las propiedades químicas de los fosfolípidos y su relevancia en la membrana plasmática.
- Describir los tipos de movimiento que pueden realizar los fosfolípidos y las proteínas de la membrana plasmática.
- Definir difusión, ósmosis, presión osmótica, isotónico, hipotónico e hipertónico.
- Describir las concentraciones relativas de  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  y  $Ca^{2+}$  a través de la membrana de la célula en reposo.
- Comprender las diferencias entre el transporte activo facilitado, activo primario y activo secundario.
- Describir la estructura de la  $Na^+/K^+$  ATPasa, definir en qué tipo de transporte media y describir su función respecto a los gradientes iónicos.
- Definir los términos endocrino, paracrino y autocrino en relación con la transducción de señales celulares.
- Comprender el proceso de transducción de señales y las clases de moléculas que participan.
- Comprender las diferencias entre los receptores de hormonas esteroideas y los receptores de la superficie celular.

## ESTRUCTURA DE LA MEMBRANA CELULAR

### Modelo del mosaico fluido

El modelo del mosaico fluido fue sugerido por primera vez por Singer y Nicholson en 1972. Estos autores propusieron que las membranas biológicas están formadas por una bicapa de fosfolípidos con proteínas incluidas en ella (fig. 3.1). La verificación del modelo del mosaico fluido se ha puesto de manifiesto con técnicas de microscopía electrónica por criofractura y criograbado. Las moléculas de fosfolípidos, que constituyen el componente principal de la bicapa, son anfipáticas, es decir, poseen regiones hidrófobas e hidrófilas (fig. 3.2). Las moléculas de fosfolípidos forman una bicapa estable en solución acuosa debido a:

- Interacciones hidrófilas de los grupos polares con el ambiente acuoso intracelular y extracelular.
- Interacciones hidrófobas de las moléculas de los ácidos grasos del interior de la bicapa.

La membrana es una estructura dinámica y muchas proteínas pueden desplazarse libremente por ella de modo comparable a «icebergs flotando en un mar de fosfolípidos».

En condiciones celulares normales, el recambio de la membrana plasmática depende del aporte de nuevos componentes de membrana a la misma en los endosomas y lisosomas tardíos.



El modelo de mosaico fluido es un tema habitual de los exámenes; recuerda dibujar un diagrama que incluya las proteínas periféricas e integrales incluso para las preguntas cortas. Debes mencionar que la membrana es dinámica. En las preguntas de desarrollo describe el movimiento de los fosfolípidos y las proteínas en ella.

## Componentes de las membranas biológicas

### Lípidos

Un lípido es una molécula soluble en un disolvente orgánico (p. ej., el cloroformo), pero escasamente soluble en agua. Los triglicéridos, que son hidrófobos, constan de tres ácidos grasos unidos a un esqueleto de glicerol por enlaces éster.

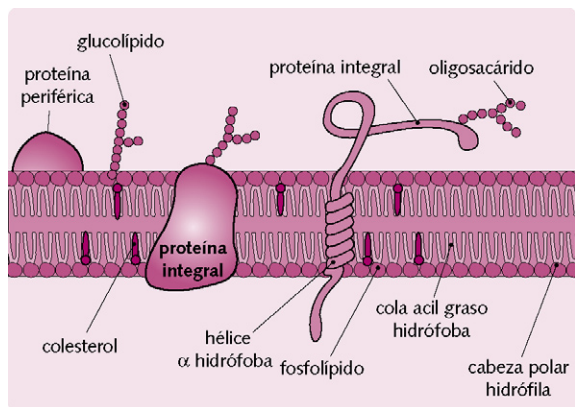


Fig. 3.1 Modelo de mosaico fluido de la membrana celular.

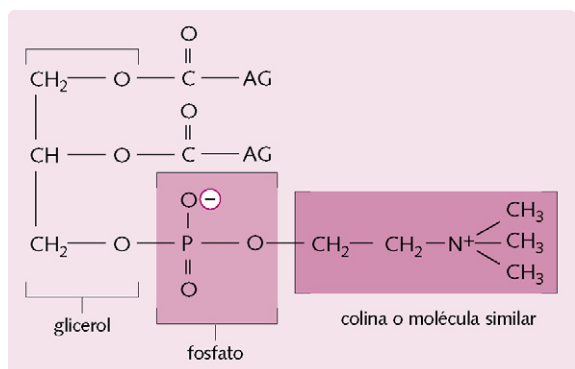


Fig. 3.2 Estructura de un fosfolípido. Las áreas sombreadas corresponden a las regiones hidrófilas de la molécula. AG, ácido graso.

### Fosfolípidos

La parte hidrófila de un fosfolípido se debe a que una de sus cadenas de ácidos grasos es reemplazada por un grupo polar, que contiene una amina unida al glicerol (en C3) mediante un enlace fosfodiéster (v. fig. 3.2). En la membrana plasmática suelen encontrarse cuatro fosfolípidos habituales (fig. 3.3):

1. Fosfatidiletanolamina.
2. Fosfatidilserina.
3. Fosfatidilcolina.
4. Esfingomielina: esta molécula no es un verdadero fosfolípido, pues posee un esqueleto de esfingosina acilado (ceramida) en lugar de un esqueleto de glicerol.

Los fosfolípidos se disponen asimétricamente, de modo que casi toda la fosfatidilcolina y la esfingomielina se sitúan en la monocapa externa, mientras que la fosfatidiletanolamina y la fosfatidilserina están de forma predominante en la monocapa interna. Dado que se agrupan en una lámina continua, impermeable a los iones, las moléculas deben estar empaquetadas muy estrechamente. La mayoría de los

lípidos se disponen como cilindros o como conos ligeramente truncados, aunque los lisofosfolípidos (intermediarios formados durante la digestión de los fosfolípidos de la dieta y biliares a los que les falta una cadena de ácido graso) tienen forma de cono (fig. 3.4). La presencia de un doble enlace en una cadena lateral de ácido graso introduce una acodadura. Esta distorsión rompe las fuerzas de van der Waals y, de este modo, disminuye la capacidad de una molécula de ajustarse estrechamente con las moléculas vecinas, lo que aumenta la fluidez de la membrana.

La membrana plasmática es una estructura dinámica, con un recambio constante de sus constituyentes. La enfermedad de Niemann-Pick (NP) es un grupo de enfermedades por almacenamiento lisosómico que tiene un patrón de herencia autosómica recesiva. Los tipos A y B se deben a una deficiencia de la esfingomielinasa ácida lisosómica necesaria para hidrolizar la esfingomielina usada de la membrana a fin de producir ceramida y fosocolina, lo que causa su acumulación en las células espumosas reticuloendoteliales del bazo, hígado, pulmones, médula ósea y cerebro.

### Colesterol

El colesterol es un lípido que consta de cuatro anillos hidrófobos y un grupo hidroxilo hidrófilo (fig. 3.5). Se orienta en la membrana de modo que los anillos se disponen paralelos a los grupos de ácidos grasos hidrófobos, y el grupo hidroxilo forma un puente de hidrógeno con un grupo carboxilo del fosfolípido adyacente. El resultado neto es que:

- A temperatura fisiológica, el colesterol limita el movimiento de las cadenas de ácidos grasos y por tanto estabiliza la membrana al disminuir su fluidez.
- A bajas temperaturas inhibe el empaquetamiento de fosfolípidos, lo que aumenta la fluidez de la membrana.

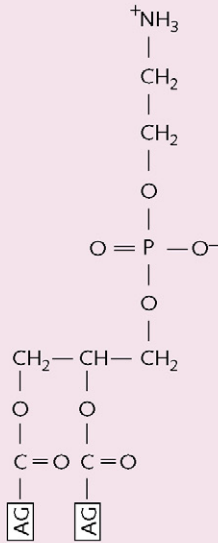
### Proteínas de membrana

#### Proteínas integrales

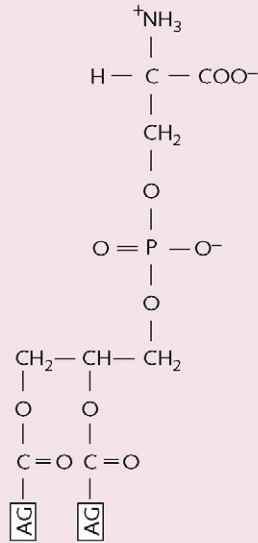
Las proteínas integrales atraviesan la membrana y poseen dominios intracelulares y extracelulares:

- Los dominios que atraviesan la membrana son ricos en residuos de aminoácidos hidrófobos y atraviesan la membrana como bucles de hélices  $\alpha$ .
- Los dominios citosólicos y extracelulares son ricos en residuos de aminoácidos polares.
- Los dominios extracelulares pueden estar glucosilados.

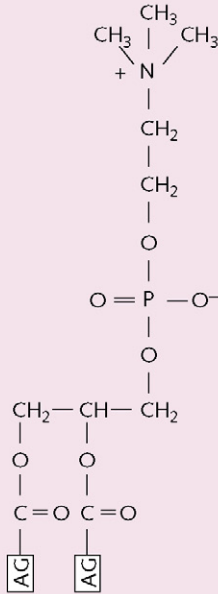
fosfatidiletanolamina



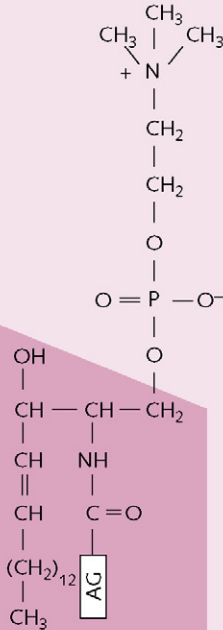
fosfatidilserina



fosfatidilcolina



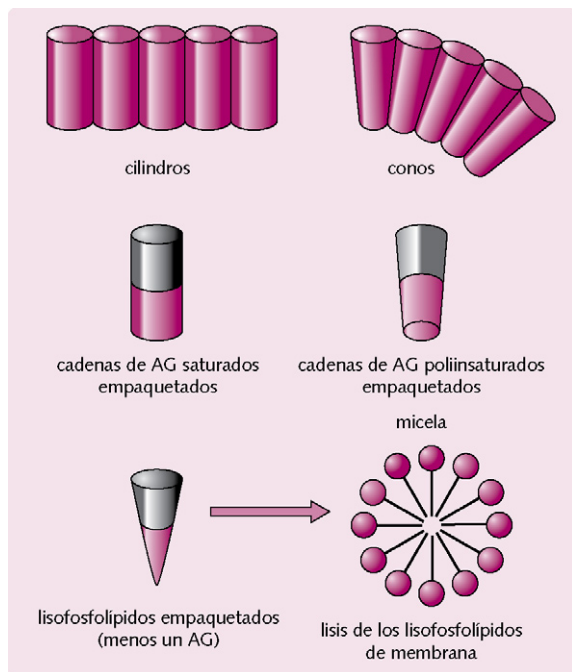
esfingomielina



ceramida

Fig. 3.3 Los tres principales fosfolípidos, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina y fosfatidilcolina, se diferencian en sus grupos polares. La esfingomielina es un esfingolípido, a diferencia de un fosfolípido, y consta de un grupo colina unido a un grupo ceramida, a través de una molécula fosfato. AG, ácido graso.





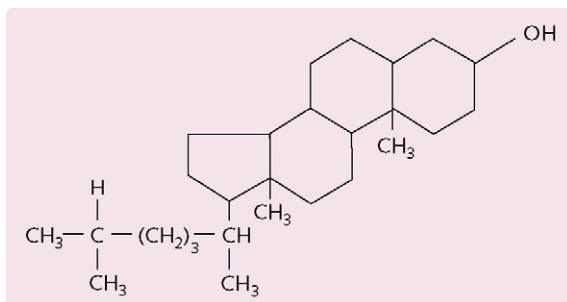
**Fig. 3.4** Empaquetado de fosfolípidos. La naturaleza de las cadenas laterales de los ácidos grasos influye en su empaquetado. Los lisofosfolípidos, que carecen de un ácido graso, forman principalmente micelas. Sin embargo, la estructura favorable de los fosfolípidos con dos cadenas de ácidos grasos en solución acuosa es una bicapa lipídica, debido a que son muy voluminosas para formar micelas. AG, ácido graso.

Las proteínas integrales monotópicas atraviesan la membrana una vez, mientras que las bitópicas y politópicas lo hacen dos o más veces, respectivamente.

La policistina 2 es una proteína integral de membrana codificada por el gen *PKD2*. Es necesaria para la tubulogénesis normal en el riñón. Está mutada en alrededor del 15% de todos los casos de poliquistosis renal autosómica dominante. En condiciones normales, la policistina 2 interactúa con la policistina 1 para funcionar como un canal catiónico permeable al calcio. Las mutaciones en cualquiera de ambas proteínas provocan presentaciones clínicas casi indistinguibles. Las policistinas defectuosas parecen afectar a la maduración de las células epiteliales, lo que deriva en el desarrollo de quistes de tamaños variables en la corteza y la médula.

### Proteínas periféricas

Las proteínas periféricas se asocian con el lado citoplásmico o con el extracelular de la bicapa lipídica. Pueden estar unidas a la membrana mediante:



**Fig. 3.5** Estructura del colesterol.

- Enlaces electrostáticos con proteínas integrales.
- Enlaces covalentes con componentes no proteicos de la cara citoplásmica.
- Enlaces covalentes con los fosfolípidos, a través de los oligosacáridos, en la cara extracelular.

### Funciones de las proteínas de membrana

Las proteínas de membrana tienen varias funciones, entre las que se pueden citar:

- Marcadores: las cadenas de carbohidratos de las glucoproteínas ayudan al autorreconocimiento.
- Enzimas: las enzimas hidrosolubles se asocian con las cabezas polares de los fosfolípidos de membrana (p. ej., fosfolipasas).
- Anclajes: las proteínas de membrana actúan como puntos de unión para el citoesqueleto y la matriz extracelular, lo que proporciona resistencia y adhesión.
- Transporte: las proteínas actúan como moléculas transportadoras, canales y porinas para transportar iones y nutrientes dentro y fuera de la célula (v. págs. 41-42).
- Receptores: las proteínas receptoras actúan como sitios de unión para los mensajeros moleculares, como las hormonas (v. págs. 46-51).

En la figura 3.6 se presentan ejemplos de proteínas de membrana, con su función y su método de unión a la membrana.

## Propiedades de las membranas biológicas

### Fluidez

La temperatura de transición es aquella a la que la membrana se transforma desde una estructura rígida, similar a un gel, a un estado fluido, relativamente desordenado (fig. 3.7). En su estado fluido, las proteínas de la membrana se encuentran libres para interaccionar. La membrana es heterogénea y se alternan regiones ordenadas con otras más fluidas. La fluidez



Fig. 3.6 Ejemplos de proteínas de membrana

| Proteína  | Tipo                | Anclaje a la membrana                                                                                        | Función                                                                                                                      |
|-----------|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cadherina | Integral monotópica | Hidrófobo con fosfolípidos                                                                                   | Media la adherencia célula-célula                                                                                            |
| RTFQ      | Integral politópica | Hidrófobo con fosfolípidos                                                                                   | Canal con control de entrada de cloruro en el tejido epitelial                                                               |
| Anquirina | Periférica          | Electrostático con la proteína de intercambio aniónico en la superficie citoplasmática de la bicapa lipídica | Mantiene la estructura del eritrocito formando un enlace entre la espectrina y la proteína de intercambio aniónico (banda 3) |
| Ras       | Periférica          | Anclaje covalente con la cara citoplasmática de la bicapa lipídica                                           | Proteína de unión a GTP que transmite la señal desde la superficie celular al núcleo                                         |

Fig. 3.6 Ejemplos de las proteínas de membrana y de sus funciones. RTFQ, regulador transmembrana de la fibrosis quística.

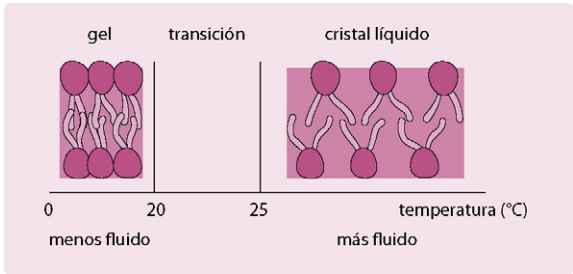


Fig. 3.7 Transición de la membrana del estado de gel a cristal líquido.

viene determinada por factores que influyen sobre las interacciones de los fosfolípidos (fig. 3.8):

- Temperatura: las membranas son más fluidas a altas temperaturas cuando las moléculas de fosfolípidos poseen mayor energía cinética.
- Saturación de las cadenas de ácidos grasos: las membranas son más fluidas si poseen una alta proporción de ácidos grasos insaturados.
- Colesterol: los efectos del colesterol dependen de la temperatura.

Movilidad de los componentes de la membrana

Fosfolípidos

Las moléculas de fosfolípidos presentan cuatro tipos de movimiento en varios grados:

1. Movimientos intracatenarios, como la flexión de las cadenas de ácidos grasos.
2. Rotación axial de las moléculas en el plano de la bicapa.
3. Difusión lateral en el plano de la bicapa.

4. Movimientos de una mitad de la bicapa hacia la otra (intercambio o *flip-flop*).

La difusión lateral de los fosfolípidos se produce fácilmente y da lugar a una membrana bidimensional fluida. El *flip-flop* es raro en ausencia de la enzima «flipasa», que proporciona asimetría de composición de fosfolípidos entre las capas de la membrana. La asimetría de membrana es relevante desde el punto de vista funcional y, por ejemplo, la fosfatidilserina se concentra en la cara citoplásmica, donde puede interactuar con la proteincinasa C.

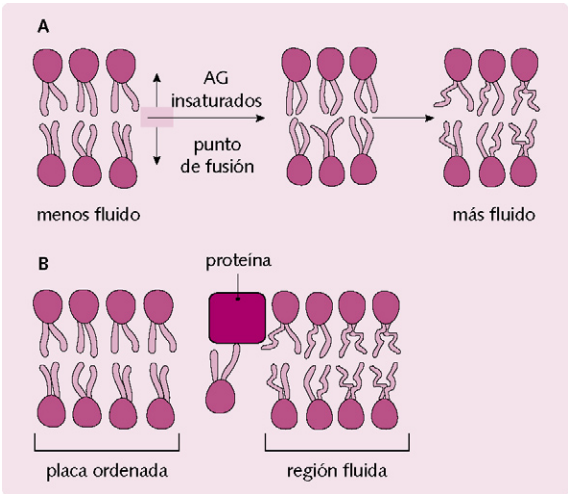


Fig. 3.8 Factores que afectan a la fluidez de la membrana. A) Al aumentar la concentración de los ácidos grasos (AG) insaturados disminuye el punto de fusión de la membrana y, por tanto, aumenta la fluidez. B) La desigual distribución de los lípidos de membrana afecta a la fluidez.

### Proteínas

Las proteínas presentan tres tipos de movimiento:

1. Movimiento lateral, aunque puede estar limitado por las interacciones con el citoesqueleto o con enlaces covalentes con las moléculas de lípidos.
2. Movimientos de rotación axial en el plano de la membrana.
3. Cambios en la conformación.

El *flip-flop* es termodinámicamente desfavorable, dado que requiere que las partes hidrófilas de las proteínas roten a través de la bicapa, por lo que es infrecuente. La direccionalidad de las proteínas es relevante para la función y asegura, por ejemplo, que los receptores hormonales estén bien orientados.

### Permeabilidad

Existen tres formas principales de transporte a través de la membrana:

1. Difusión pasiva.
2. Difusión facilitada.
3. Transporte activo.

Aunque las bicapas lipídicas son permeables a los compuestos liposolubles, son muy impermeables a sustancias iónicas y polares, que requieren canales específicos para atravesar la membrana. El agua es la excepción, pues, aunque es polar, es permeable a través de la membrana, porque es una molécula muy pequeña.

## TRANSPORTE A TRAVÉS DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA

### Conceptos

Las concentraciones se miden en moles/litro y la disociación de los iones no se tiene en cuenta.

1 mol =  $6,02 \times 10^{23}$  moléculas (de cualquier sustancia)

= número de Avogadro (el número de átomos que hay exactamente en 12 g de carbono 12)

Por ejemplo:

- Una solución molar de NaCl contiene 1 mol de átomos de Na y 1 mol de átomos de Cl en 1 litro.
- Una solución molar de sacarosa contiene 1 mol de sacarosa en 1 litro.
- Una solución molar de  $\text{CaCl}_2$  contiene 1 mol de  $\text{Ca}^{2+}$  y 2 moles de Cl en 1 litro.

La difusión es el movimiento de partículas desde una región de concentración elevada a una de baja concentración hasta que se distribuyen equitativamente. La ósmosis es el movimiento de moléculas de disolvente (generalmente agua) a través de una membrana semipermeable, desde una región de concentración elevada a una región de baja concentración. La presión osmótica es la necesaria para impedir el movimiento neto del agua pura, en una solución acuosa, a través de una membrana semipermeable. En la presión osmótica la disociación iónica sí es relevante.

1 osmol = cantidad de sustancia que se disocia en solución para formar 1 mol de partículas con actividad osmótica

Por ejemplo (suponiendo una disociación completa):

- 1 osmol/l de NaCl contiene 0,5 moles del ion  $\text{Na}^+$  y 0,5 moles del ion  $\text{Cl}^-$ .
- 1 osmol/l de sacarosa contiene 1 mol de sacarosa.
- 3 osmol/l de  $\text{CaCl}_2$  contienen 1 mol del ion  $\text{Ca}^{2+}$  y 2 moles del ion  $\text{Cl}^-$ .

La osmolaridad del plasma es crítica, ya que sus cambios afectan al volumen plasmático, al volumen celular y a la homeostasis del agua y los iones. El rango de la osmolaridad normal del plasma es de 280-295 mosmol/l. Los valores de osmolaridad plasmática suelen indicarse como osmolalidad, que es la concentración de partículas con actividad osmótica en solución por kilogramo de disolvente (osmol/kg). La disociación se ve afectada por el pH, la temperatura y la unión de iones a diversos compuestos (p. ej., la unión del  $\text{Ca}^{2+}$  a la miosina durante la contracción muscular). En los sistemas vivos, el  $\text{K}^+$ , el  $\text{Na}^+$  y el  $\text{Cl}^-$  se encuentran totalmente disociados, mientras que el  $\text{Ca}^{2+}$ , el  $\text{Mg}^{2+}$  y el  $\text{H}^+$  están sólo parcialmente disociados.

La deshidratación produce un incremento relativo de la carga sérica de solutos y, por tanto, un aumento de la osmolalidad. Cuando esto se detecta en el hipotálamo, se desencadena la liberación de hormona antidiurética (ADH) a partir de la neurohipófisis. La ADH aumenta la permeabilidad de los túbulos distales y de los tubos colectores del riñón, lo que reduce la cantidad de agua excretada y da lugar a una reducción relativa de la carga de solutos séricos, así como a una reducción de la osmolalidad sérica. Si la osmolalidad del plasma sanguíneo disminuye demasiado, aumenta la producción renal de orina mediante la secreción de péptido natriurético auricular (PNA), lo que devuelve la carga de solutos al rango normal.

El término «tonicidad» hace referencia al comportamiento de las células en solución. Es la osmolalidad efectiva y equivale a la suma de las concentraciones de los solutos que tienen la capacidad de ejercer una fuerza osmótica a través de la membrana:

- Las soluciones extracelulares isotónicas tienen la misma presión osmótica que el interior de la célula, por lo que no se produce ósmosis y no se modifica el tamaño celular.
- Las soluciones hipotónicas están menos concentradas y, por tanto, el agua pasará al interior de la célula y ésta se hinchará.
- Las soluciones hipertónicas están más concentradas, por lo que el agua saldrá de la célula y ésta se contraerá.

### Distribución de los iones a través de la membrana plasmática

Las reacciones químicas esenciales para la vida sólo pueden producirse en unos márgenes estrechos de parámetros fisiológicos; por tanto, la célula debe regular la entrada y salida de moléculas intracelulares. Algunos procesos biológicos, como la contracción muscular, dependen de un gradiente electroquímico a través de la membrana celular. En la [figura 3.9](#) se muestra la distribución de diversos iones a través de la membrana plasmática. Esta distribución depende de:

- El concepto de membrana semipermeable.
- El gradiente electroquímico.
- Las bombas.

### Concepto de membrana semipermeable

Las moléculas polares no pueden difundir a través de la bicapa lipídica y dependen de las proteínas incluidas en

la membrana para su transporte. Estas proteínas suelen ser específicas para un determinado tipo de molécula. La célula regula la actividad de las proteínas transportadoras de la membrana, de modo que sólo ciertas moléculas pueden penetrar en un momento dado.

### Gradiente electroquímico

Es termodinámicamente favorable para que los iones se desplacen desde áreas de elevada concentración a las de baja concentración y para que los iones positivos se desplacen a zonas con carga negativa.

### Bombas

Las bombas se emplean para mantener unos gradientes de concentración desfavorables desde el punto de vista energético. Por ejemplo, la célula es capaz de mantener un gradiente de sodio energéticamente desfavorable debido a que consume energía en forma de ATP para conducir el sodio fuera de la célula.

### Transporte a través de la membrana

El transporte a través de una membrana biológica se resume en la [figura 3.10](#).

### Difusión pasiva (simple)

La difusión pasiva es el movimiento libre de moléculas a través de una membrana, a favor de un gradiente de concentración. Las moléculas pequeñas, no polares (p. ej.,  $O_2$  y  $CO_2$ ) y las moléculas polares sin carga (p. ej., la urea) pueden difundir directamente a través de la bicapa lipídica, por sí solas. No se requiere energía y la difusión continuará hasta que se alcance el equilibrio. No se satura debido a que no hay sitios de unión implicados. El flujo de difusión es directamente proporcional al gradiente iónico, a la presión hidrostática y al potencial eléctrico y puede resumirse en la ley de difusión de Fick:

$$\text{Tasa de difusión} = D \times \text{Área} \times \Delta \text{conc}$$

donde  $D$  = una constante de difusión,  $A$  = área de la membrana y  $\Delta \text{conc}$  = gradiente de concentración.

### Difusión facilitada

Las moléculas con carga no pueden difundir directamente a través de la bicapa lipídica, por lo que dependen de proteínas específicas. El transporte de moléculas mediante receptores proteicos a favor del gradiente de concentración se denomina difusión facilitada, que es una forma de transporte pasivo que continúa hasta alcanzar el equilibrio. Las proteínas que median la

**Fig. 3.9** Distribución de iones a través de la membrana celular

| Componente                            | Exterior | Interior                            |
|---------------------------------------|----------|-------------------------------------|
| $K^+$ (mmol/l)                        | 4,5      | 140 (varía según el tipo de célula) |
| $Na^+$ (mmol/l)                       | 140      | 10                                  |
| $Ca^{2+}$ total (mmol/l)              | 3        | 1                                   |
| $Ca^{2+}$ libre ( $\mu\text{mol/l}$ ) | 1        | 0,1                                 |
| $Cl^-$ (mmol/l)                       | 110      | 3                                   |
| $HCO_3^-$ (mmol/l)                    | 24       | 10                                  |
| pH                                    | 7,35     | 7                                   |
| Aminoácidos, proteínas                | 10       | 120                                 |

**Fig. 3.9** Distribución de iones a través de la membrana celular.

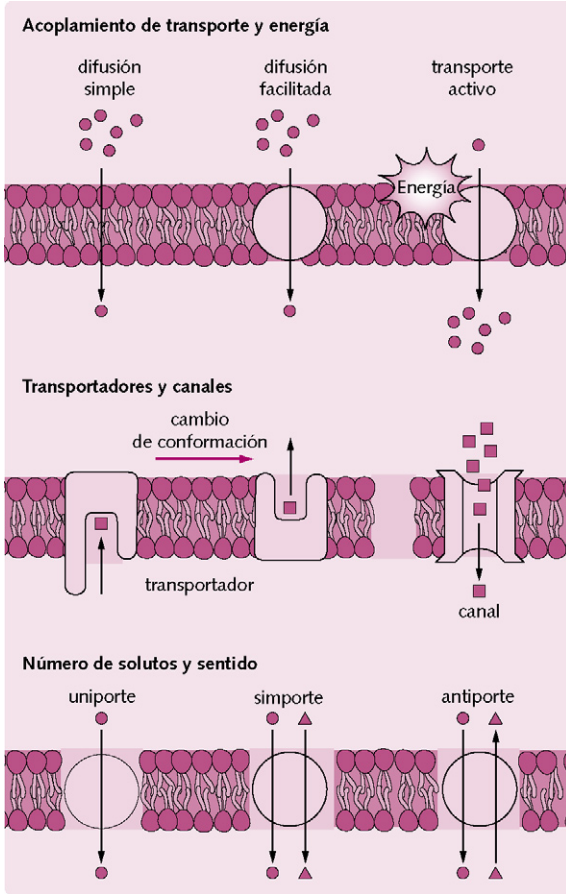


Fig. 3.10 Resumen del desplazamiento de solutos a través de membranas. (Adaptada de Baynes y Dominiczak, 1999.)

difusión facilitada pueden ser canales o proteínas transportadoras. El transporte con proteínas transportadoras muestra una cinética de Michaelis-Menten (fig. 3.11):

- Selectividad o especificidad del sustrato, afinidad por un ligando concreto (medido como  $K_L$ ).
- Saturabilidad de la unión al ligando ( $B_{\text{máx}}$ ).
- Transferibilidad ( $T_{\text{máx}}$ ), la tasa máxima de transferencia de moléculas a través de la membrana.
- Inhibición (p. ej., el transporte de la glucosa al interior de los eritrocitos).

La tasa del flujo de iones a través de una membrana mediante canales depende del gradiente de concentración, de la velocidad con la que se mueve el ion a través del canal (una constante) y del número de canales abiertos. Por tanto, es análoga a la difusión pasiva, siendo el número de canales abiertos equivalente a la superficie. Los canales pueden tener control de entrada, de modo que la célula regula su apertura. Con independencia del gradiente electroquímico, un ion no puede atravesar la membrana si no hay canales abiertos.

## Transporte activo

El transporte activo acopla el movimiento de moléculas contra un gradiente electroquímico desfavorable con una reacción termodinámicamente favorable:

- El transporte activo primario está directamente acoplado a la hidrólisis de ATP.
- El transporte activo secundario está indirectamente acoplado a la hidrólisis de ATP.

### Transporte activo primario

En este mecanismo se utiliza la energía de forma directa para transportar las moléculas a través de una membrana. El sodio y el potasio son ejemplos de iones que se transportan a través de la célula mediante transporte activo primario, por la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa dependiente de ATP. Este transportador bombea 3 iones  $\text{Na}^+$  hacia fuera y 2  $\text{K}^+$  hacia dentro de la célula, contra sus respectivos gradientes de concentración, por cada molécula de ATP hidrolizada (v. págs. 42-43).

### Transporte activo secundario

En este transporte no se usa directamente el ATP, sino que se emplea un gradiente de concentración distinto existente. La acción de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa estabiliza los gradientes de concentración de  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$  a través de la membrana. El movimiento de  $\text{Na}^+$  en el interior de la célula a favor de gradiente electroquímico es favorable desde el punto de vista termodinámico y en el transporte secundario se acopla al movimiento de un segundo ion contra gradiente. El gradiente electro-

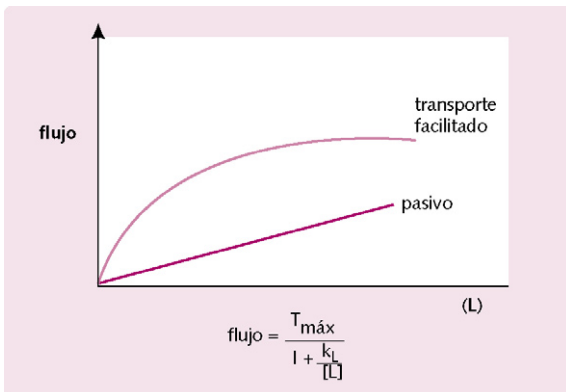
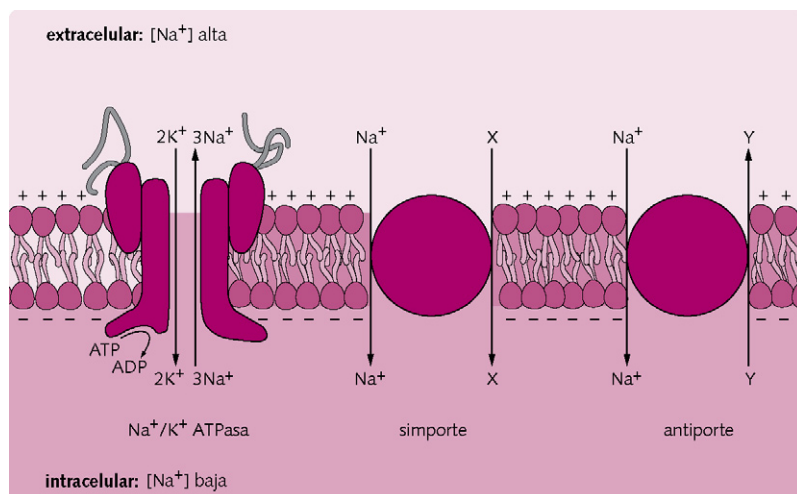


Fig. 3.11 Cinética de la difusión facilitada. La difusión pasiva es más lenta que la difusión facilitada por un transportador y su velocidad es proporcional a la concentración de sustrato. La difusión facilitada por el transportador se comporta como una enzima y se satura. ( $k_L$  afinidad por el ligando;  $[L]$ , concentración de ligando;  $T_{\text{máx}}$ , velocidad máxima de transporte.)





**Fig. 3.12** Transporte activo secundario. La acción de la  $Na^+/K^+$  ATPasa establece un gradiente de concentración de sodio a través de la membrana. Esta energía potencial puede emplearse para dirigir una molécula hacia el interior de la célula mediante un simporte o hacia el exterior mediante un antiporte.

químico de  $Na^+$  puede dirigir el transporte de iones en cualquier sentido a través de la membrana (fig. 3.12):

- Los simportes transportan ambos iones en el mismo sentido.
- Los antiportes transportan los iones en sentidos opuestos.

## Resumen de los tipos de transporte

En resumen:

- La difusión pasiva se produce a través de la membrana plasmática y no consume energía.
- La difusión facilitada precisa proteínas específicas, pero no consume energía.
- El transporte activo requiere proteínas específicas y consume energía.

## Mecanismos de transporte

Las proteínas de transporte de membrana pueden ser canales o transportadoras (v. fig. 3.10). La mayoría de las proteínas transportadoras son reversibles y, dependiendo de las condiciones que imperen, pueden transportar iones hacia el interior o el exterior de la célula.

### Canales iónicos

Los canales iónicos son proteínas transmembrana y tienen poros centrales llenos de agua. Los poros son específicos y permiten sólo el paso de cationes o sólo de aniones a través de ellos. La velocidad del transporte es superior a  $10^6$  iones/s, pero es siempre a favor de gradiente de concentración. Los canales de potasio son los más frecuentes. Uno de ellos está permanentemente abierto, y la filtración de potasio a través de estos canales es esencial para el potencial

de membrana. Los defectos o daños pueden producir disfunción muscular (p. ej., parálisis periódica). Muchos canales pueden tener un control de entrada y abrirse y cerrarse en ciertas condiciones.

La fibrosis quística es una enfermedad autosómica recesiva que se caracteriza por neumopatía crónica, insuficiencia pancreática exocrina e infertilidad masculina. Se debe a mutaciones del gen regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), cuyo producto es un canal iónico regulado por AMPc. El canal es responsable sobre todo de controlar el movimiento de entrada del cloruro en la célula. Si no hay un producto funcional del gen CFTR, se altera el transporte de los iones cloruro a través de las membranas celulares epiteliales en su polo apical, lo que causa una acumulación de cloruro fuera de la célula. Esto da lugar a la formación de unas secreciones mucosas o acuosas demasiado densas fuera de las células.

### Proteínas transportadoras

Las proteínas transportadoras se unen a ligandos específicos (la molécula transportada) y experimentan un cambio de conformación durante el transporte. Conducen moléculas polares e iónicas mediante transporte activo y difusión facilitada. El transporte mediado por estas proteínas es cientos de veces más lento que el que se produce a través de los canales iónicos y las proteínas transportadoras pueden saturarse, limitando la velocidad de transporte. Los uniportadores transportan moléculas únicas a través de la membrana (fig. 3.10). Los transporta-



dores acoplados transfieren moléculas a través de la membrana con el transporte simultáneo de otra molécula (simportes y antiportes). Las diferentes células poseen distintas poblaciones de proteínas transportadoras celulares y, por tanto, distinta permeabilidad.

### Transportador de glucosa

La mayoría de las células transportan glucosa por difusión pasiva a través de uniportadores, puesto que la concentración de glucosa es mayor en el exterior de la célula. Sin embargo, en el intestino y el riñón, algunas células tienen que captar la glucosa a partir de concentraciones extracelulares bajas, lo que se consigue por medio de un transporte activo secundario mediante simportes que cotransportan sodio.

### Transportadores activos

Los transportadores activos son proteínas transportadoras acopladas a una fuente de energía como el ATP o a un gradiente iónico.

### Bomba $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPasa

La bomba de sodio es un ejemplo de transportador activo. Es un heterodímero que consta de una subunidad  $\alpha$  y una subunidad  $\beta$  glucosilada (fig. 3.13). La subunidad glucosilada es importante para el acoplamiento y la ubicación de la bomba. La subunidad  $\alpha$  es la unidad catalítica y tiene sitios de unión para el sodio y el ATP en su superficie intracelular y para el potasio en su cara extracelular. La unión del sodio provoca la fosforilación del lado citoplasmático y un cambio en la conformación, que transfiere el sodio al exterior de la célula. La unión del potasio provoca la desfosforilación, de forma que la subunidad vuelve a su estado original, transportando el potasio al interior de la célula

simultáneamente (fig. 3.14). Las funciones de la bomba de sodio son las siguientes:

- Mantener la concentración intracelular de sodio a un nivel bajo.
- Mantener un volumen celular constante.
- Proporcionar un gradiente de sodio como fuente de energía para el cotransporte. Este gradiente es empleado por muchos procesos del organismo, como los transportadores que regulan el pH intracelular y aquellos que introducen glucosa en las células renales.
- Generar un potencial de membrana.

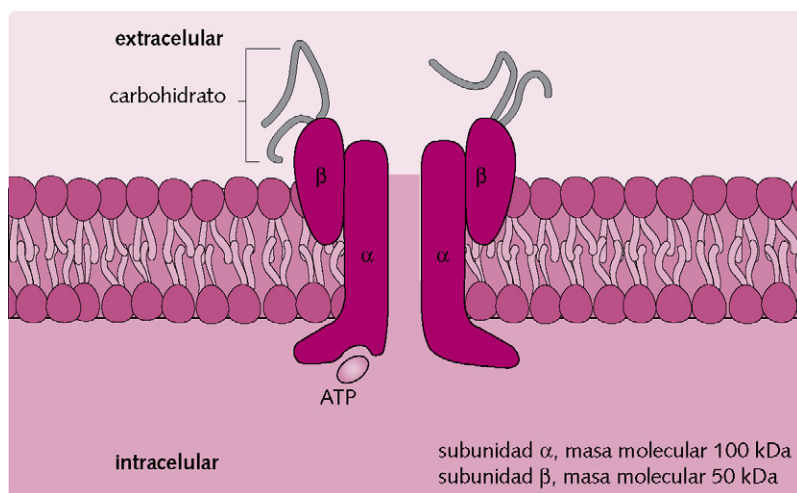
## POTENCIAL DE MEMBRANA

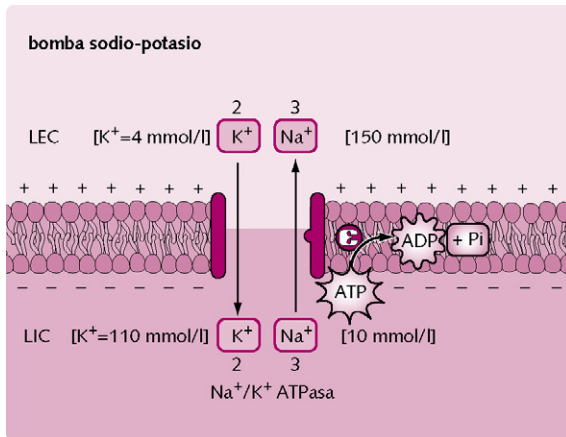
### Definición

Un potencial de membrana ( $E_m$ ) viene definido por la diferencia de carga eléctrica a cada lado de la membrana. Es fundamental para el funcionamiento de las células excitables, sobre todo de las células musculares y nerviosas. Estas células utilizan la apertura controlada de los canales iónicos con control de entrada para producir un cambio en su potencial de membrana. Existen tres tipos principales de canales con control de entrada en las células excitables:

1. Canales con control de entrada por voltaje (p. ej., los canales de sodio con control de entrada por voltaje empleados en la generación del potencial de acción).
2. Canales con control de entrada químico (p. ej., canales receptores de acetilcolina en la transmisión neuromuscular).
3. Receptores mecánicos (p. ej., los canales receptores táctiles de las neuronas sensitivas).

Fig. 3.13 Estructura de la bomba de sodio.





**Fig. 3.14**  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa. La hidrólisis de una molécula de ATP se asocia con el transporte de tres iones de sodio hacia el exterior de la célula y dos iones de potasio hacia el interior de la célula, contra sus respectivos gradientes de concentración. LEC, líquido extracelular; LIC, líquido intracelular. (Adaptada de Baynes y Dominiczak, 1999.)

## Mantenimiento del potencial de membrana

### Diferencia de potencial electroquímico de los iones

Los iones tienen carga eléctrica y concentración química. Cuando una solución no está en equilibrio, el desplazamiento de sus iones está influido tanto por el gradiente químico como por el eléctrico. Si estos factores operan en diferentes sentidos a través de la membrana plasmática, el flujo neto de iones tenderá a ser menor, con independencia del gradiente que sea más pronunciado. Puesto que la diferencia de potencial electroquímico ( $\Delta\mu$ ) de los iones se define como el potencial electroquímico del ion en el lado A menos el del ion en el lado B (fig. 3.15):

**Fig. 3.15**

La diferencia de potencial electroquímico ( $\Delta\mu$ ) de un ion  $\text{X}^+$  a través de una membrana que separa dos compartimentos A y B puede calcularse del siguiente modo:

$$\Delta\mu(\text{X}^+) = (RT \ln [\text{X}^+]_A / [\text{X}^+]_B) + zF(E_A - E_B)$$

(Donde  $\Delta\mu$  es la diferencia de potencial electroquímico entre A y B; R es la constante de los gases ideales, T es la temperatura absoluta,  $[\text{X}^+]_{A/B}$  es la concentración de  $\text{X}^+$  en A y B, z es la valencia; F es la constante de Faraday y  $E_A - E_B$  es la diferencia de potencial eléctrico a través de la membrana.)

**Fig. 3.15** Cálculo de la diferencia de potencial electroquímico. Esta ecuación tiene en cuenta las contribuciones tanto de la diferencia de concentración como de la diferencia de potencial eléctrico para determinar la tendencia del ion a fluir a través de la membrana.

- Si  $\Delta\mu$  es positiva, los iones se desplazan de A a B.
- Si  $\Delta\mu$  es negativa, los iones se desplazan de B a A.
- Si  $\Delta\mu$  es cero, no hay desplazamiento neto de iones (el sistema de la solución está en equilibrio).

Cuando existe una diferencia de potencial para un ion a través de la membrana, éste tiende a desplazarse a favor del gradiente químico o eléctrico. Esta energía potencial puede ser aprovechada, lo que constituye la base del transporte activo secundario.

### Ecuación de Nernst

Cuando una reacción está en equilibrio, no existe desplazamiento neto de iones a través de la membrana plasmática, esto es, el gradiente de concentración y el gradiente electroquímico están equilibrados. En esta situación, la ecuación de la diferencia de potencial electroquímico puede replantearse para obtener la ecuación de Nernst (fig. 3.16):

$$E_A - E_B = (60 \text{ mV}/z) (\log ([\text{X}^+]_B / [\text{X}^+]_A))$$

Cuando un ion se mueve a favor de un gradiente químico lo hace desde un área de alta concentración a otra de baja concentración. El movimiento iónico a favor de un gradiente eléctrico depende de la carga. Los iones que atraviesan una membrana a favor de un gradiente electroquímico responden tanto al gradiente químico como al eléctrico.



Cuando no existe desplazamiento neto de  $\text{X}^+$  a través de la membrana se produce un equilibrio y la diferencia de electropotencial ( $\Delta\mu$ ) para  $\text{X}^+$  es cero, entonces:

$$RT \ln \frac{[\text{X}^+]_A}{[\text{X}^+]_B} + zF(E_A - E_B) = 0$$

Despejando  $E_A - E_B$ :

$$E_A - E_B = -\frac{RT}{zF} \ln \frac{[\text{X}^+]_A}{[\text{X}^+]_B} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\text{X}^+]_B}{[\text{X}^+]_A}$$

Una forma apropiada de transformar la ecuación se obtiene convirtiéndola en  $\log_{10}$  ( $\ln y = 2.303 \log y$ ). A 29 °C  $2.303 RT/F$  es igual a 60 mV:

$$E_A - E_B = \frac{60 \text{ mV}}{z} \log \frac{[\text{X}^+]_B}{[\text{X}^+]_A}$$

**Fig. 3.16** Derivación de la ecuación de Nernst.  $E_A - E_B$ , diferencia de potencial eléctrico a través de la membrana; F, constante de Faraday R, constante de los gases ideales; T, temperatura absoluta;  $[\text{X}^+]_{A/B}$ , concentración de  $\text{X}^+$  en A y B; z, valencia.

La ecuación de Nernst puede emplearse para calcular:

- La diferencia de potencial eléctrico que debe existir entre dos compartimentos para que un ion esté en equilibrio a través de la membrana.
- El sentido en el que fluirá el ion cuando la reacción no esté en equilibrio, dada una diferencia de potencial eléctrico creada experimentalmente.

Cuando un ion está en equilibrio, la diferencia de potencial electroquímico se denomina potencial de equilibrio, por ejemplo  $E_{Cl} = -70 \text{ mV}$ .

### Equilibrio de Gibbs-Donnan

El equilibrio de Gibbs-Donnan es el equilibrio electroquímico que se produce cuando dos soluciones se encuentran separadas por una membrana impermeable al menos a uno de los iones de la solución.

En un sistema experimental compuesto por dos compartimentos que contengan soluciones equimolares de KCl (compartimento B) y KY (compartimento A) separados por una membrana permeable al  $K^+$  y al  $Cl^-$ , pero impermeable a los aniones  $Y^-$ , el ion permeable se distribuirá del siguiente modo (fig. 3.17A):

- El  $Cl^-$  se desplaza a favor de su gradiente de concentración de B hacia A.
- Se conserva la electroneutralidad, de modo que el  $K^+$  se desplaza de B hacia A.
- El  $Y^-$  no puede difundir a través de la membrana y queda atrapado en el compartimento A.

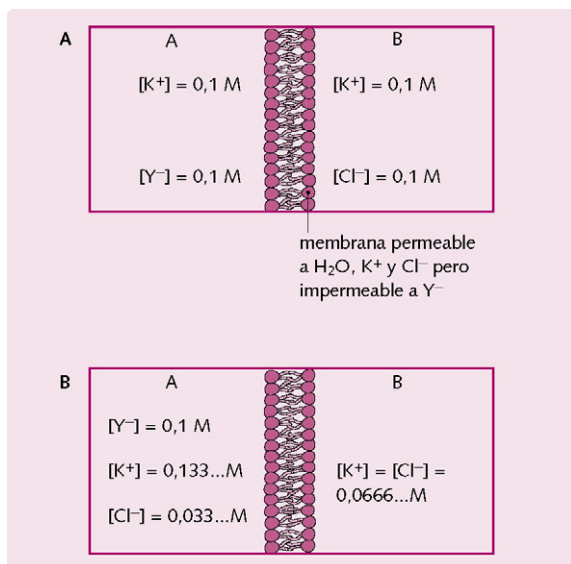


Fig. 3.17 Equilibrio de Gibbs-Donnan. A) Concentración de iones al inicio del experimento. B) Concentración de iones cuando se alcanza el equilibrio de Gibbs-Donnan. (Adaptada de Berne y cols., 1998.)

- Por tanto, el  $K^+$  continúa atrapado en el compartimento A y se conserva la electroneutralidad.

La electroneutralidad se conserva cuando los iones atraviesan la membrana, debido a que el desplazamiento del  $Cl^-$  establece un potencial local que saca  $K^+$  a través de la membrana. El desplazamiento de iones continúa hasta que la reacción alcanza el equilibrio (fig. 3.17B) en el punto en el que:

- La tendencia del  $Cl^-$  a desplazarse a favor del gradiente de concentración desde B hacia A se compensa por su tendencia a desplazarse a favor del gradiente eléctrico desde A hacia B.
- La tendencia del  $K^+$  a desplazarse a favor del gradiente de concentración desde A hacia B se compensa por su tendencia a desplazarse a favor del gradiente eléctrico desde B hacia A.

En equilibrio,  $\Delta\mu K^+$  y  $\Delta\mu Cl^-$  son ambos iguales a 0. Ésta es la base de la derivación de la ecuación de Gibbs-Donnan, que establece que el producto de las concentraciones de dos iones permeables es el mismo en cada compartimento:

$$[K^+]_A [Cl^-]_A = [K^+]_B [Cl^-]_B$$

La ecuación de Gibbs-Donnan se cumple para cualquier par catión-anión monovalente en equilibrio entre dos compartimentos. Un sistema en equilibrio de Gibbs-Donnan posee ciertas características destacadas en equilibrio:

- El compartimento que contiene el ion impermeable tiene más iones activos osmóticamente (fig. 3.17B).
- El compartimento que contiene el anión impermeable posee un potencial eléctrico negativo. (Nota: un compartimento que contuviese un catión impermeable tendría un potencial eléctrico positivo.)

Las células vivas se asemejan al equilibrio de Gibbs-Donnan experimental, antes mencionado, en ciertos aspectos:

- Contienen iones impermeables en forma de proteínas y ácidos nucleicos.
- La membrana es permeable al  $K^+$  y al  $Cl^-$ , y estos iones son abundantes.

Sin embargo, poseen diferencias significativas:

- La célula es sensible a los gradientes osmóticos.
- La membrana plasmática no es completamente impermeable a los iones con carga positiva como el  $Na^+$  y el  $Ca^{2+}$ , y éstos se filtran en la célula a favor de un gradiente electroquímico.
- Si se permitiese su acumulación, ejercerían una presión osmótica y la célula se hincharía.

- Los efectos osmóticos se impiden mediante el transporte activo de dichos iones al exterior de la célula.

Se impide que la célula se hinche porque la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa bombea tres iones  $\text{Na}^+$  fuera de la célula, mientras que sólo se reintroducen dos iones  $\text{K}^+$ .

## Potencial de membrana en reposo

El potencial de membrana ( $E_m$ ) de una célula es proporcional al gradiente de concentración de los iones predominantes ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$ ) y a la permeabilidad de la membrana para cada uno de ellos. Si un ion es libremente permeable a través de la membrana plasmática, tenderá a forzar al  $E_m$  hacia su propio potencial de equilibrio. Las células excitables en reposo son principalmente permeables al  $\text{K}^+$ , de modo que el  $E_m$  refleja el balance entre el  $\text{K}^+$  que se filtra hacia fuera de la célula a favor de su gradiente de concentración y el que penetra a favor del gradiente eléctrico (es decir,  $E_k$ ). Este desplazamiento no se acompaña de la extrusión de un anión porque la membrana sólo es permeable al  $\text{Cl}^-$ , que tiene un gradiente de concentración desfavorable. De este modo,  $E_m$  es proporcional a la concentración de  $\text{K}^+$  a cada lado de la membrana (fig. 3.18).

El valor de  $E_m$  en reposo ( $-70\text{ mV}$ ) no es exactamente igual a  $E_k$  ( $-90\text{ mV}$ ) debido a que la membrana es ligeramente permeable a otros iones, como el  $\text{Na}^+$ . La entrada del sodio hace que el potencial de membrana sea ligeramente más positivo, ya que el  $E_{\text{Na}}$  es positivo ( $+60\text{ mV}$ ), lo que refleja su tendencia a desplazarse hacia el interior de la célula a favor de su gradiente electroquímico. Sin embargo, obsérvese que el  $\text{Na}^+$  no está en equilibrio a través de la

membrana plasmática en reposo, debido a que ésta no es libremente permeable a este ion.

La acción de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa, al ser electrogénica, contribuye en escasa medida al potencial de membrana directamente. Sin embargo, la mayor parte del potencial de membrana proviene de la acción indirecta de la bomba y refleja el desplazamiento del  $\text{K}^+$  y del  $\text{Na}^+$  a favor de los gradientes de concentración que ha establecido.

La célula excitable puede modificar el potencial de reposo para controlar su actividad:

- La despolarización significa que el  $E_m$  se hace menos negativo, de modo que se produce una disminución de la diferencia de potencial. Es más probable que una célula nerviosa despolarizada genere descargas.
- La hiperpolarización implica un incremento de la magnitud de la diferencia de potencial mediante el aumento de la carga negativa relativa del interior de la célula. Es menos probable que una célula nerviosa hiperpolarizada genere descargas.



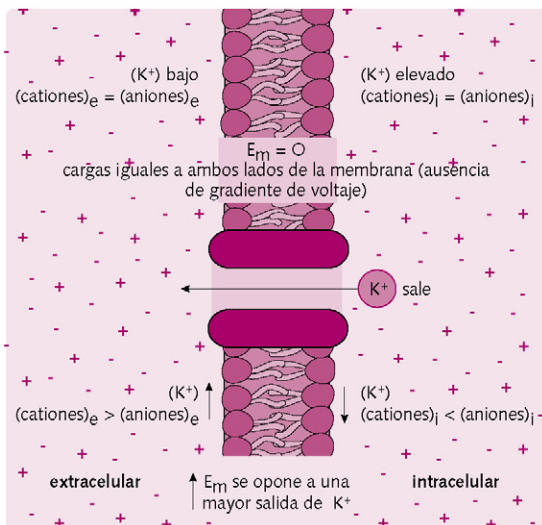
El potencial de membrana es muy sensible a la concentración de  $\text{K}^+$ . Un incremento de la concentración extracelular de  $\text{K}^+$  (hiperpotasemia) despolarizará de forma parcial las células excitables, lo que acercará el potencial de reposo al potencial umbral. Además, dado que la salida de  $\text{K}^+$  después de un potencial de acción se inhibe, se dificulta la repolarización. La hipopotasemia (disminución de la concentración extracelular de  $\text{K}^+$ ) tenderá a hiperpolarizar las células, lo que las hace menos excitables. Ambas situaciones afectan a las células cardíacas y provocan arritmias.

(Los potenciales de acción se describen en detalle en el *Curso Crash, Sistema nervioso*.)

## RECEPTORES

### Conceptos de transmisión de señales a través de las membranas

Es esencial que las células de los organismos pluricelulares sean capaces de comunicarse para coordinar sus acciones. Las vías de transducción de señales regulan múltiples actividades celulares, como la división, la diferenciación, la migración y la desgranulación. Estos procesos permiten establecer respuestas a los factores externos que controlan la



**Fig. 3.18** Papel del potasio en la generación del potencial de membrana celular. (e, extracelular;  $E_m$ , potencial de membrana; i, intracelular.)



actividad celular. La vía comienza en los receptores de la superficie celular y termina en el núcleo, con proteínas que regulan la expresión génica. Dado que diferentes células pueden responder de distinta forma a una misma señal a nivel de la transcripción, estos procesos facilitan la coordinación de la respuesta de todo el organismo a un estímulo.

Sólo ciertas moléculas liposolubles pueden atravesar la membrana celular directamente (p. ej., las hormonas esteroideas); otras moléculas transmiten sus señales mediante la unión a los receptores de superficie celular. Las vías de transmisión de señales se forman mediante interacción de proteínas, que pueden amplificar, atenuar o procesar señales, antes de transmitir las hacia delante. Cada célula puede enfrentarse a muchas señales provenientes de células vecinas, del ambiente, del sustrato adyacente y de la presencia de factores de crecimiento y de hormonas. Las vías de transmisión de señales resultantes se integran de modo que la respuesta celular sea la apropiada. Cuando las vías de transmisión de señales no funcionan adecuadamente, la célula puede multiplicarse de modo incontrolado y esto puede dar lugar a la formación de un tumor maligno.

Las siguientes definiciones son esenciales:

- Los receptores de la superficie celular son proteínas específicas que se unen a moléculas transmisoras de señales y transforman esta unión en señales intracelulares, que modifican el comportamiento celular.
- Los receptores intracelulares son sobre todo factores de transcripción activados por ligando que, cuando se activan, migran al núcleo y se unen al ADN, de modo que estimulan o suprimen la transcripción génica.
- El sistema del segundo mensajero es un conjunto de moléculas intracelulares que se activan mediante receptores de superficie celular y afectan a la función celular, lo que produce una respuesta fisiológica. Los sistemas de segundo mensajero producen una cascada de señales que amplifica la señal inicial y facilita una variedad de respuestas celulares, cuyos detalles varían entre los distintos tipos celulares.

Los tres mecanismos de transmisión de señales hacia los receptores de las superficies celulares son (fig. 3.19):

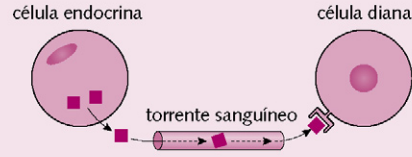
1. Endocrino.
2. Paracrino.
3. Autocrino.

## Tipos de receptor

La presencia o ausencia de un receptor específico en una célula controla la respuesta de la célula a las

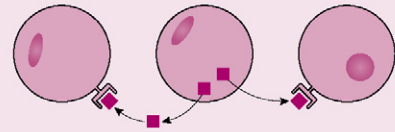
### Transmisión de señales endocrina

los receptores hormonales están a distancia de las células endocrinas



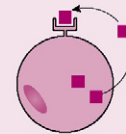
### Transmisión de señales paracrina

los mediadores químicos locales, que son metabolizados más rápidamente que las hormonas, actúan sobre las células locales



### Transmisión de señales autocrina

los mediadores locales se producen y actúan en la misma célula



**Fig. 3.19** Tres mecanismos de transmisión de señales. Una misma molécula de transmisión de señales puede pertenecer a más de una de estas categorías, según el lugar donde sea sintetizada y liberada.

moléculas transmisoras de señales. La mayoría de los receptores de la superficie celular pertenecen a una de las siguientes familias principales:

1. Receptores ionotrópicos.
2. Receptores metabotrópicos acoplados a proteínas G.
3. Receptores unidos a enzimas.

## Receptores ionotrópicos

Estos receptores, denominados también canales iónicos controlados por ligando, son similares a otros canales iónicos, pero contienen un sitio receptor de unión a ligando en su estructura. Están compuestos por varias subunidades que al activarse por la unión al ligando afectan de forma directa a la actividad de la célula mediante la apertura del canal iónico. Se encuentran sobre todo en el sistema nervioso y típicamente median la neurotransmisión excitadora o inhibitoria rápida (p. ej., el receptor nicotínico de acetilcolina; fig. 3.20).

## Receptores metabotrópicos (acoplados a proteínas G)

Son receptores de membrana que influyen de forma indirecta en la actividad de las células, con la transducción de una señal extracelular (unión a ligando) a una



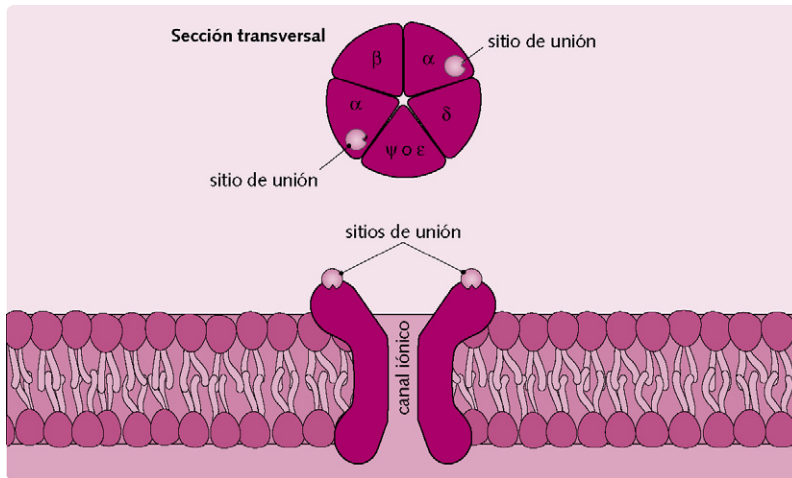


Fig. 3.20 Estructura del receptor nicotínico de la acetilcolina.

intracelular y la activación de moléculas que actúan como segundo mensajero. Esta clase de receptor se define por una característica estructural común: constan de una cadena polipeptídica única que atraviesa la membrana siete veces (fig. 3.21). Los receptores metabotrópicos activan las proteínas unidas al GTP (proteínas G), que son heterotriméricas y están compuestas por las subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , y se encuentran unidas a la cara interior de la membrana plasmática. La unión del receptor provoca un cambio conformacional de la proteína G, de modo que la subunidad  $\alpha$  se disocia de las subunidades  $\beta$  y  $\gamma$ , lo que al final provoca la hidrólisis del GTP. Por tanto, funcionan como un interruptor binario (fig. 3.22). Después, las proteínas G activadas activan a su vez las vías intracelulares de segundos mensajeros, por ejemplo:

- AMP cíclico (AMPC) (fig. 3.23).
- Calcio (directamente, mediante la apertura de canales de calcio en la membrana plasmática o, indirectamente, mediante las vías lipídicas del inositol).
- Vías lipídicas del inositol ( $IP_3$ ) (fig. 3.24).

Las distintas proteínas G activan diferentes vías, por ejemplo:

- $G_s$  aumenta el AMPC.
- $G_i$  disminuye el AMPC.
- $G_q$  activa la vía lipídica del inositol.

Cuando el GTP de la subunidad  $\alpha$  se hidroliza a GDP y  $P_i$ , se reasocia con las subunidades  $\beta$  y  $\gamma$  y el interruptor binario se inactiva. Un ejemplo de receptor metabotrópico es el receptor  $\beta$ -adrenérgico.

El receptor TK se confunde con frecuencia con un receptor metabotrópico, al tener un mecanismo de transducción ligado a proteínas G. Sin embargo, no es un receptor metabotrópico, dado que no posee una estructura de siete dominios transmembrana.

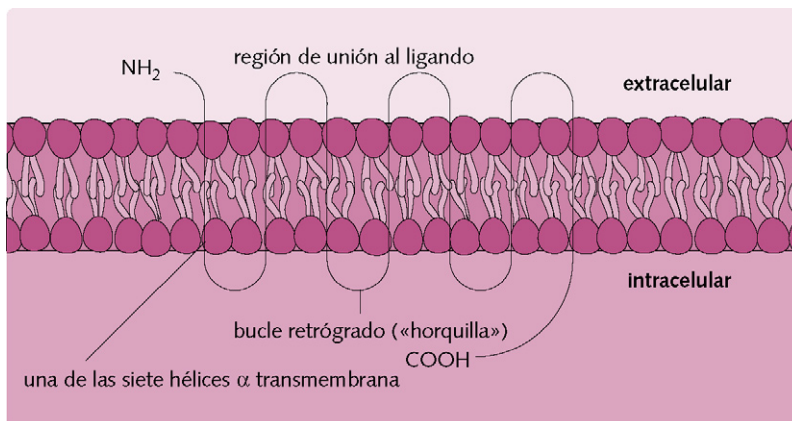
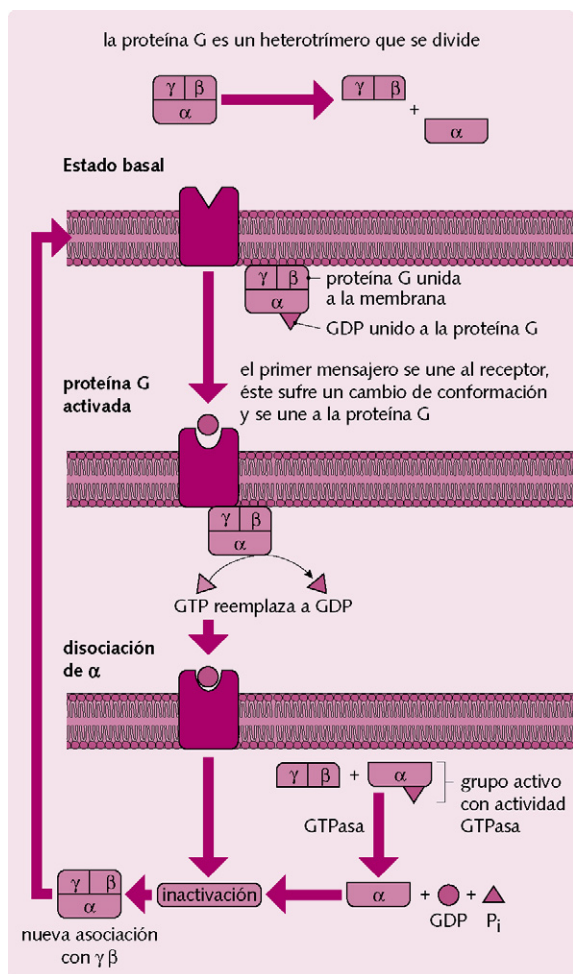


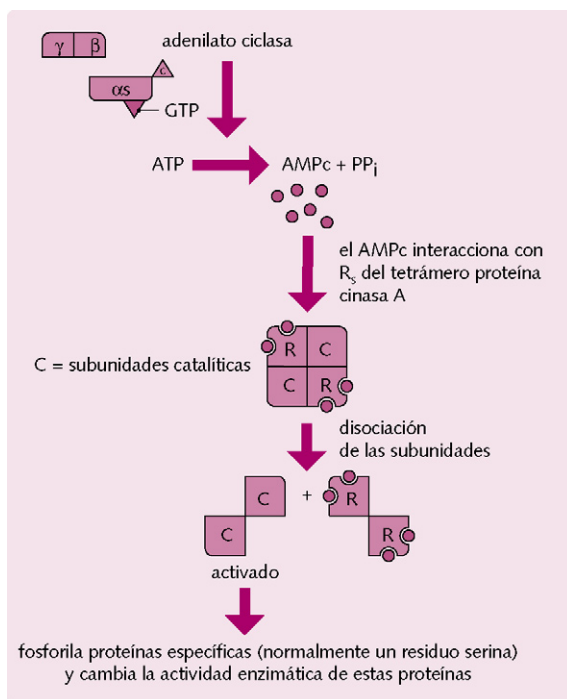
Fig. 3.21 Estructura de un receptor metabotrópico, por ejemplo un receptor adrenérgico  $\beta$ .



**Fig. 3.22** Activación de proteínas G. La proteína G en su estado inactivo es un heterotrímero que se une a GDP a través de la subunidad  $\alpha$ . La unión del receptor con su ligando produce intercambio de GDP por GTP. Esto induce un cambio en la conformación de la subunidad  $\alpha$ , lo que produce la disociación tanto del receptor como de las subunidades  $\beta$ - $\gamma$ . Las subunidades disociadas están libres para interactuar con los efectores que generan segundos mensajeros. La hidrólisis final de GTP por la subunidad  $\alpha$  permite la regeneración del heterotrímero inactivo. GDP, guanosindifosfato; GTP, guanositriphosfato; P, fósforo inorgánico.

## Receptores ligados a enzimas

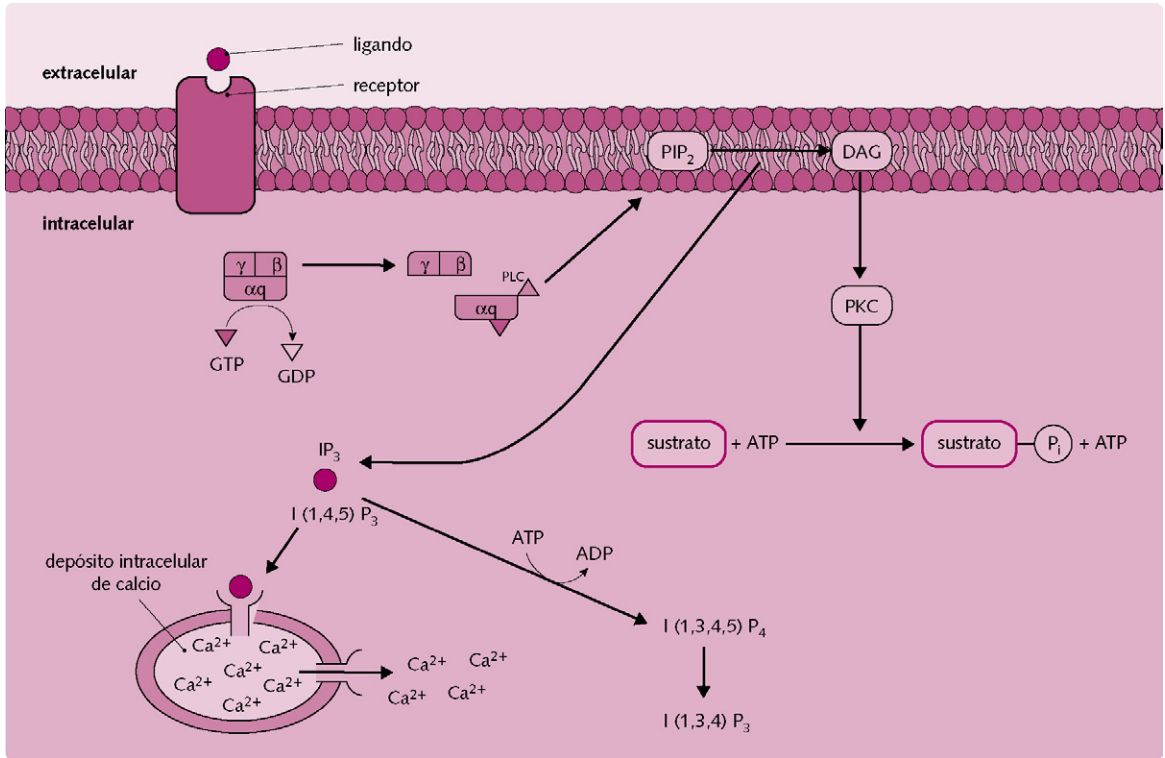
Los receptores ligados a enzimas son proteínas que sólo atraviesan una vez la membrana y tienen un dominio extracelular y otro intracelular (fig. 3.25). El dominio intracelular posee actividad enzimática intrínseca o está asociado directamente a una enzima y se activa cuando el ligando adecuado se une a la porción externa del receptor. Hay seis clases de receptores ligados a enzimas que median las acciones de un gran número de ligandos, como hormonas peptídicas, factores de crecimiento y citocinas (fig. 3.26):



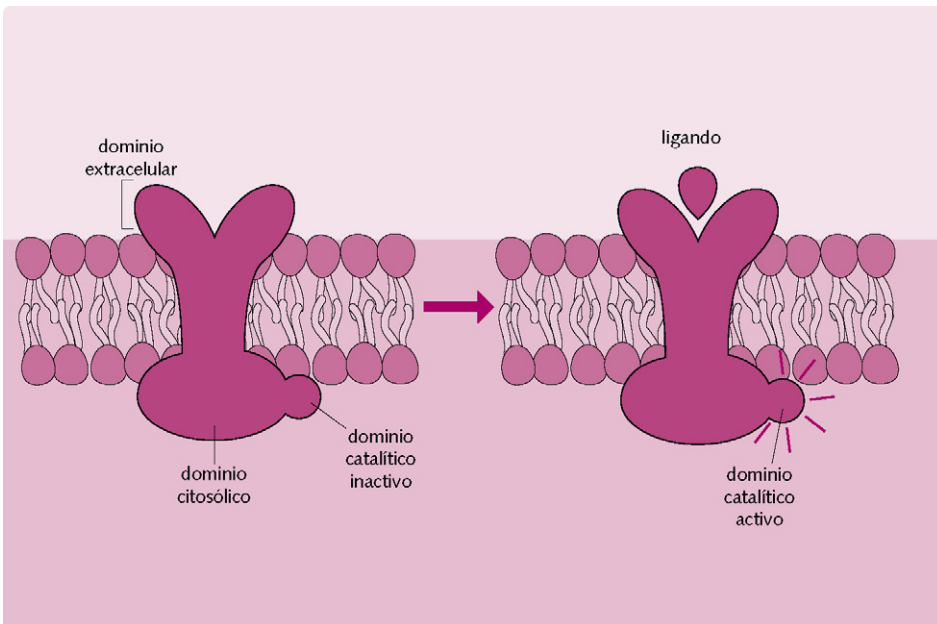
**Fig. 3.23** Vía de la adenilato ciclasa. AMPc, adenosinmonofosfato cíclico; ATP, adenosintrifosfato; C, subunidades catalíticas; GTP, guanosintrifosfato; PP, pirofosfato; R, subunidades reguladoras.

El síndrome de Laron es un trastorno autosómico recesivo que se caracteriza por una talla baja marcada. Se debe a defectos moleculares del gen del receptor de la hormona del crecimiento (tipo 1), o a defectos posreceptor de la transducción de señales requeridas para producir el factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF1) (tipo 2). Por lo general, la interacción de la hormona del crecimiento con su receptor produce la activación de tirosincinasas citoplásmicas. Dado que las mutaciones que producen el síndrome de Laron implican al receptor de la hormona del crecimiento, o están en un paso posterior de la vía de transducción de señales, el tratamiento con dicha hormona no aumenta la tasa de crecimiento y es preciso aplicar un tratamiento con IGF-1.

- Receptores tirosincinasas.
- Receptores asociados a tirosincinasas.
- Tirosinfosfatasas similares a receptor.
- Receptores serin/treonincinasas.
- Receptores guaniliciclasas.
- Receptores asociados a histidincinasa.



**Fig. 3.24** Vía de transmisión de señales del fosfolípido inositol. ADP, guanosinmonofosfato; Ca<sup>2+</sup>, iones de calcio; DAG, diacilglicerol; GTP, guanosintrifosfato; IP<sub>3</sub>, inositol trifosfato; P<sub>i</sub>, fósforo inorgánico; PIP<sub>2</sub>, fosfoinositol difosfato; PKC, fosfocinasa C; PLC, fosfolipasa c.



**Fig. 3.25** Estructura de un tipo genérico de receptor unido a enzima.

**Fig. 3.26** Receptores unidos a enzimas

| Clase                                 | Mecanismo de activación                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Ejemplos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Receptores tirosincinasas             | La activación del receptor por el ligando produce la oligomerización del receptor y la activación enzimática de una cinasa intrínseca, lo que culmina en la fosforilación de residuos tirosina en las proteínas de señalización intracelular.                                                                                                                                                                    | La unión del factor de crecimiento epidérmico (EGF) a su receptor produce la proliferación de varios tipos celulares. La unión de la insulina a su receptor estimula la utilización de los carbohidratos y la síntesis de proteínas.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Receptores asociados a tirosincinasas | Estos receptores no poseen actividad catalítica propia y se asocian con tirosincinasas citoplásmicas. Las cinasas asociadas con estos receptores pertenecen a la familia Src o a la JAK.                                                                                                                                                                                                                         | La unión de un ligando, como el interferón- $\alpha$ , induce la asociación no covalente de las dos subunidades distintas del receptor de citocinas y la activación de la cinasa citoplásmica asociada. Algunos receptores de este tipo son los de citocinas (p. ej., TNF), receptores de antígenos (p. ej., CD4 y CD8), el receptor de la hormona del crecimiento y el de la prolactina.                                                                                                                                                                     |
| Tirosinfosfatasa similares a receptor | La activación del receptor provoca la defosforilación de residuos tirosina en las proteínas de señalización citoplásmicas.                                                                                                                                                                                                                                                                                       | El antígeno leucocítico común (CD45), cuando establece uniones cruzadas con los anticuerpos extracelulares, se activa mediante la eliminación de residuos de fosfotirosina de las proteínas diana específicas.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Receptores serin/treonincinasas       | La activación provoca la fosforilación de residuos serina/treonina en proteínas de señalización intracelulares.                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Después de la unión al ligando, los receptores de TGF $\beta$ de tipo I y II forman un complejo heterotetramérico que activa los segundos mensajeros intracelulares de la familia Smad. A continuación, éstos se translocan al núcleo e inician la transcripción génica. Los miembros de la superfamilia del TGF $\beta$ tienen papeles destacados en una amplia gama de procesos del desarrollo, como la diferenciación tisular, la morfogénesis, la proliferación y la migración. La pérdida de la actividad TGF $\beta$ se ha implicado en la oncogénesis. |
| Receptores guaniliclasas              | La activación cataliza la producción citosólica de GMPc, que activa la cinasa dependiente de GMPc (PKG), la que a su vez fosforila residuos serina/treonina específicos en las proteínas diana.                                                                                                                                                                                                                  | La unión del péptido natriurético auricular (PNA) a su receptor permite la regulación transcripcional de genes clave y contrarrestar los efectos hipertensivos del sistema renina-angiotensina.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Receptores asociados a histidincinasa | Una reacción en dos fases en la que la autofosforilación de un residuo histidina produce Pi, que a continuación se transfiere a un residuo asp en una proteína de señalización citosólica. También se denomina activación de dos componentes. Tales sistemas se utilizan en el quimiotactismo bacteriano y también están presentes en las levaduras y las plantas, pero no se han identificado en el ser humano. | Vía Hog 1 de osmorregulación de <i>S. cerevisiae</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |

**Fig. 3.26** Características y ejemplos de receptores unidos a enzimas.

## Receptores intracelulares (esteroideos)

No son receptores unidos a la membrana, sino proteínas citoplasmáticas solubles (fig. 3.27). Hay dos clases, en función de su localización celular. Los receptores esteroideos de clase I (clásica) se sitúan en el citoplasma y se encuentran formando complejos con otras proteínas, como las proteínas de golpe de calor. Entre

ellos, pueden citarse los receptores de las hormonas sexuales y de las hormonas esteroideas de la corteza suprarrenal. Los receptores esteroideos de clase II se sitúan en el núcleo celular y se unen a los retinoides, a las hormonas tiroideas y a la vitamina D.

Cuando las hormonas esteroideas interactúan con su receptor, se produce una serie característica de fenómenos:



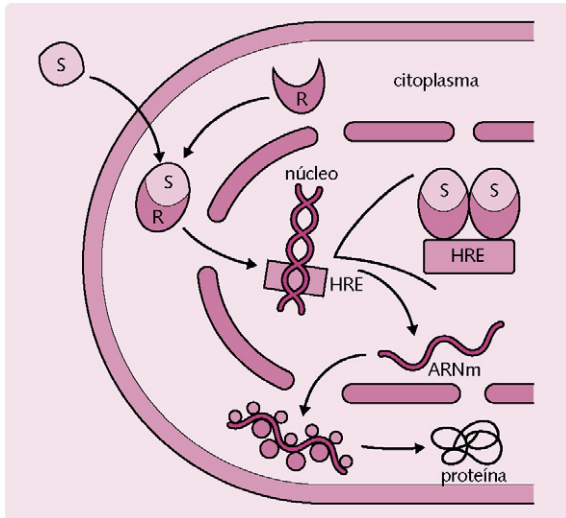


Fig. 3.27 Activaciones del receptor esteroideo y respuesta celular. HRE, elemento sensible a hormonas; R, receptor; S, esteroide.

- El receptor sufre cambios conformacionales y se vuelve competente para unirse al ADN.
- Los receptores activados se unen a los elementos de respuesta hormonal, localizados en los promotores de los genes sensibles a hormonas.
- El complejo hormona-receptor actúa como factor de transcripción, activando o reprimiendo la transcripción del gen asociado.
- El producto del gen puede, a su vez, regular la transcripción de otros genes (respuesta secundaria).

Los miembros de la familia de los receptores de hormonas esteroideas tienen tres dominios distintos (fig. 3.28):

1. Un dominio de unión a ligando.
2. Un dominio de unión a ADN.
3. Un dominio de regulación de la transcripción.

## Receptores y fármacos

Muchos fármacos producen su efecto actuando sobre receptores de la superficie celular. El efecto producido depende de si el fármaco actúa como agonista o como antagonista:

- Los agonistas son moléculas que activan a los receptores y pueden ser agentes farmacológicos o fisiológicos.

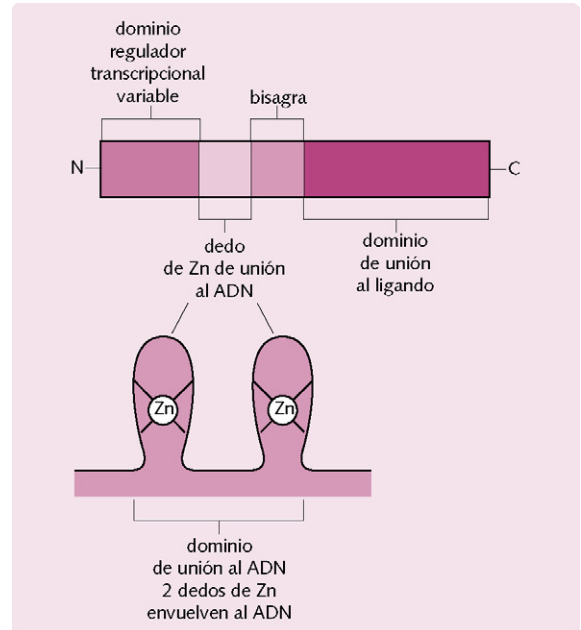


Fig. 3.28 Estructura de un receptor esteroideo. Zn, zinc.

- Los antagonistas son moléculas que se unen a los receptores, pero no los activan. Bloquean la unión del ligando al receptor, por lo que evitan su acción.

Los antagonistas reversibles, denominados también antagonistas competitivos, compiten con el ligando por el receptor. Este antagonismo puede disminuirse aumentando la concentración del agonista. Los antagonistas irreversibles no pueden eliminarse del receptor; por tanto, reducen el número efectivo de receptores y la unión no puede ser revertida, aunque se aumente la concentración del agonista.

La especificidad de un fármaco refleja su capacidad para combinarse con un determinado tipo de receptor. Lo ideal en la acción de un fármaco es que se combine con un receptor específico en el tejido correspondiente. Los efectos adversos pueden ser producidos por una unión inespecífica a otros tipos de receptores, o por unión con el receptor deseado pero en un tejido diferente.



# La célula en funcionamiento



## Objetivos

En este capítulo aprenderás a:

- Describir la estructura básica de la actina, los microtúbulos y los filamentos intermedios.
- Comprender el papel del citoesqueleto en la estructura y función de las células y sus especializaciones.
- Comprender la estructura y funciones de los lisosomas.
- Describir los aspectos básicos de la endocitosis, pinocitosis y fagocitosis.
- Comprender la función del lisosoma y conocer los distintos mecanismos que provocan las enfermedades de almacenamiento lisosómico.
- Conocer la función de los distintos tipos de unión intercelular y entre la célula y la matriz.
- Comprender la estructura y función de las moléculas de adhesión.
- Identificar los componentes de la matriz extracelular y resumir sus funciones.

## CITOESQUELETO Y MOTILIDAD CELULAR

### Conceptos

El citoesqueleto es un sistema dinámico de proteínas estructurales que mantiene la configuración de la membrana plasmática y organiza la disposición de los componentes del citoplasma en áreas definidas. Sus principales funciones son:

- Determinación de la forma de la célula.
- Proporcionar resistencia mecánica.
- Anclaje de los orgánulos y determinación de la polaridad.
- Motilidad (y migración).
- Anclaje de la célula a las estructuras externas.
- Funciones metabólicas.
- Separación de las cromátidas duplicadas y de los cromosomas homólogos en las células separadas en la mitosis y meiosis, respectivamente.

Los principales componentes del citoesqueleto son:

- Microfilamentos: son polímeros de actina globular (G-actina).
- Microtúbulos: son polímeros de dímeros  $\alpha$  y  $\beta$  de tubulina.
- Filamentos intermedios: son polímeros de miembros de la familia de las proteínas fibrosas a la que pertenecen las lamininas y las queratinas.

- En general, los microfilamentos desempeñan un papel estructural o están asociados con el movimiento de la célula; los microtúbulos parecen ser relevantes en la organización de los orgánulos y el transporte intracelular, y los filamentos intermedios proporcionan a la célula fuerza mecánica.

Las subunidades de actina y tubulina poseen un par de sitios de unión, complementarios y orientados de forma apropiada, que permiten a cada subunidad unirse con otros monómeros. De este modo, se forman largas estructuras helicoidales. Cada subunidad es asimétrica y, por tanto, el filamento resultante está polarizado. Los filamentos son dinámicos porque mientras un extremo (el polo positivo) es capaz de crecer rápidamente, el otro (el polo negativo) tiende a perder subunidades si no se estabiliza. La actina y la tubulina están muy conservadas a lo largo de la evolución y se encuentran en todas las células eucariotas. Sin embargo, mediante la interacción con una gran cantidad de proteínas accesorias, los microfilamentos y los microtúbulos son capaces de desempeñar distintas funciones.

A diferencia de la actina y la tubulina, las subunidades de los filamentos intermedios son simétricas, con un dominio globular en cada extremo. Estos monómeros fibrosos se enrollan entre sí para constituir los filamentos intermedios que tienen forma de cuerda.

Las funciones del citoesqueleto son preguntas frecuentes en los exámenes. En las preguntas de respuesta larga, para obtener las notas más altas cita algunos ejemplos y describe el papel de las proteínas asociadas con la actina y los microtúbulos.



- Facilita el movimiento de los macrófagos por transición gel-sol de la red de actina (fase de gel, en la que la actina del citoesqueleto está polimerizada, a fase de sol, donde es soluble), mediado por las proteínas de unión a la actina.
- Facilita el movimiento de los fibroblastos y de los conos de crecimiento neuronales mediante la polimerización controlada y la reorganización de los filamentos de actina.

Diversas proteínas de unión a la actina producen ciertos cambios en sus formas moleculares y pueden clasificarse en varios grupos según sus funciones:

- Proteínas de corte, como la gelsolina, que rompen filamentos de actina en presencia de iones calcio. Esta propiedad permite a la célula romper la corteza de la membrana cuando lo precisa para facilitar procesos como la fagocitosis.
- Las proteínas de unión que se unen a la actina se enrollan con ésta. La actina puede unirse en series apretadas de hebras paralelas mediante «proteínas de atado» como la fimbrina y la  $\alpha$ -actinina. Por el contrario, puede disponerse en un gel fluido mediante las «proteínas formadoras de geles» como la filamina, que establece enlaces cruzados entre las hebras.
- Las miosinas son miembros de una familia de proteínas que mueven grupos de filamentos de actina orientados en sentidos opuestos, alineados entre sí. Ésta es la base de la contracción de las células musculares, pero también es importante en las células no musculares, en las que la unión transitoria de la actina y la miosina produce un anillo contráctil que separa las células en la división celular. Otras proteínas accesorias, como la troponina, afectan a las interacciones de actina y miosina (v. pág. 56).
- Las proteínas de anclaje median la unión de filamentos de actina a la membrana plasmática. Este grupo incluye la fodrina, la talina y la vinculina.

## Componentes del citoesqueleto

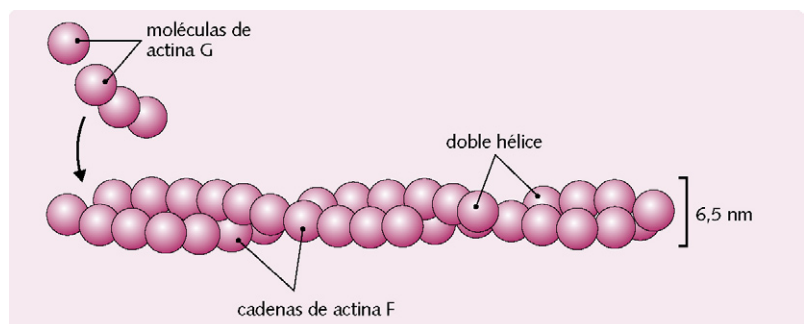
### Microfilamentos

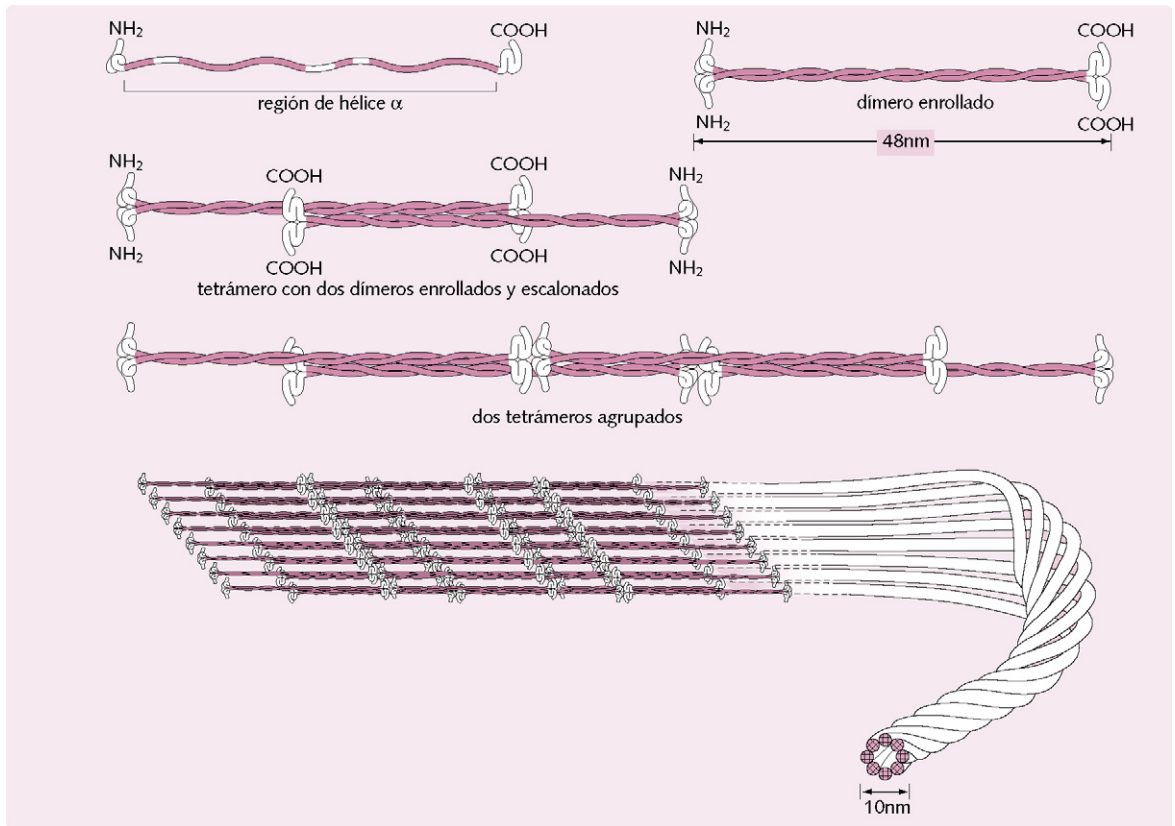
Los microfilamentos miden unos 6,5 nm de diámetro y forman una capa, justo por debajo de la membrana plasmática, denominada corteza. Las subunidades individuales de actina G globular se polimerizan en un proceso reversible para formar filamentos helicoidales de F-actina (fig. 4.1). La polimerización y la despolimerización de las fibras están estrechamente controladas por la propia célula. Por ejemplo, las señales extracelulares pueden influir sobre la polimerización a través de receptores de la superficie celular acoplados a proteínas G; esto facilita funciones celulares como la quimiotaxis de los neutrófilos.

La actina está codificada por una familia de genes relacionados. Los mamíferos tienen al menos 6 isoformas de actina, que se agrupan en 3 clases:  $\alpha$  actinas, que suelen encontrarse en el músculo, e isoformas  $\beta$  y  $\gamma$ , presentes en células musculares y no musculares. Estas isoformas permiten interacciones entre proteínas distintas, según las diferentes funciones de las formas musculares y no musculares. En las células musculares, la actina tiene una función contráctil. En las células no musculares, la actina:

- Mantiene la estructura de las microvellosidades.
- Forma parte de una región especializada de la corteza de la célula, la red terminal, que se encuentra bajo las microvellosidades y los desmosomas.

**Fig. 4.1** Estructura de un microfilamento (actina). Los filamentos de actina están formados por una hélice estrecha de moléculas de actina orientadas uniformemente. El filamento se extiende a medida que la actina globular polimeriza en el polo positivo. Debido a su apariencia, cuando se unen con miosina, el polo negativo también se denomina «extremo afilado» y el positivo «extremo en cepillo».





**Fig. 4.2** Estructura de un filamento intermedio. Los monómeros idénticos se unen en paralelo para formar dímeros. Dos dímeros se asocian en series antiparalelas para formar tetrámeros que se unen en grupos de ocho para producir el filamento intermedio definitivo en forma de cuerda. Dado que la asociación de los dímeros en tetrámeros es antiparalela, los filamentos intermedios no están polarizados. (Adaptada de Norman y Lodwick, 1999.)

## Filamentos intermedios

Los filamentos intermedios (FI) miden 8-11 nm de diámetro (fig. 4.2). Tienden a ser más estables que los microfilamentos y los microtúbulos y no se disocian en monómeros en condiciones fisiológicas. Se cree que los FI son los principales determinantes estructurales de las células. Hay varios tipos de FI, que se distinguen por la proteína que les constituye. Pueden citarse:

- **Queratinas:** hay muchas isoformas de queratina, que pueden dividirse en «citoqueratinas» blandas y «queratinas del pelo» duras. Se expresan característicamente en el epitelio. Existen unas 10 queratinas duras específicas que constituyen las uñas y el pelo, así como unas 20 citoqueratinas, que están sobre todo en los epitelios que recubren las cavidades internas del organismo.
- **Láminas:** son proteínas exclusivas del núcleo, donde se localizan en dos áreas nucleares la lámina nuclear y el velo nucleoplásmico. La lámina nuclear reviste la superficie interna de la envuelta nuclear y es responsable de la

desorganización y reensamblaje de la envuelta nuclear en vesículas durante la mitosis o meiosis.

- **Neurofilamentos:** se encuentran en los axones de las neuronas. Son los responsables del crecimiento radial del axón, por lo que determinan su diámetro. Pueden proporcionar la resistencia y rigidez del axón.
- **Proteína gliofibrilar ácida (GFAP):** se encuentra en las células de la glía que rodean las neuronas.
- **Vimentina:** se expresa en las células mesenquimatosas, como los fibroblastos, y en las células endoteliales. Con frecuencia, estas fibras terminan en la membrana nuclear y en los desmosomas. Se asocian estrechamente con los microtúbulos y forman «jaulas» alrededor de las gotitas de lípidos del tejido adiposo.
- **Desmina:** se encuentra predominantemente en las células musculares. Forma una red de conexiones perpendiculares al eje longitudinal de la célula. Las fibras de desmina anclan y orientan las bandas Z de las miofibrillas, generando así el patrón estriado.

Las células suelen contener sólo un tipo de filamento intermedio. Las células de crecimiento rápido y las células de la glía que producen mielina no tienen filamentos intermedios.

### Microtúbulos

Los microtúbulos son tubos huecos de 25 nm de diámetro (fig. 4.3). Son polímeros de tubulina dimérica (dímero  $\alpha$ - $\beta$ ) que se extienden desde los centros de organización de los microtúbulos, como los centrosomas, encargados de estabilizar el polo negativo del polímero en crecimiento. Todas las células tienen microtúbulos excepto los hematíes maduros y son especialmente abundantes en las neuronas, donde dirigen la elongación del axón.

Hay muchas proteínas asociadas con los microtúbulos (PAM) que tienen interacciones específicas con la tubulina, y existen diferentes microtúbulos asociados con distintas PAM, por ejemplo Tau en el axón:

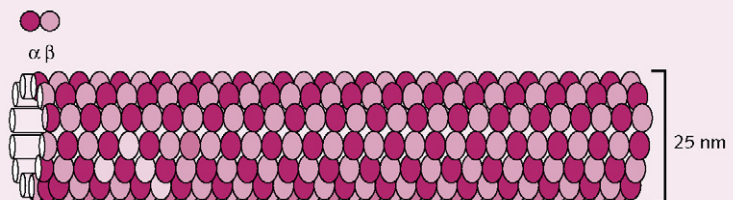
- Algunas PAM funcionan como motores moleculares dependientes de ATP (p. ej., la dineína y la kinesina). Estos motores pueden transportar una carga como un orgánulo o una vesícula de transporte a lo largo del microtúbulo hacia su localización asignada en la célula.
- Algunas PAM pueden influir en la polimerización de la tubulina, por ejemplo los centríolos.

Los microtúbulos forman cilios en las vías respiratorias y el flagelo de los espermatozoides; ambos se mueven por medio de ciclos de uniones entre los brazos de dineína, en los que interviene el ATP.

La formación de los husos de microtúbulos es esencial para la división celular. El nocodazol, el taxol y la vinblastina son quimioterápicos antineoplásicos con efecto antimitótico que interfieren con el intercambio de subunidades de tubulina entre los microtúbulos y la tubulina libre.



**Fig. 4.3** Estructura de un microtúbulo. Normalmente hay 12-13 unidades de tubulina por cada vuelta en el microtúbulo ensamblado. (Adaptada con autorización de *Molecular Biology of the Cell*, 3.ª ed., de B. Alberts y cols., Garland Publishing, 1994. Reproducida con autorización de Routledge, Inc., integrante de The Taylor & Francis Group.)



### Miosina

La miosina es una proteína accesoria de la actina que actúa como motor molecular. Se compone de dos cadenas pesadas y cuatro ligeras (fig. 4.4). Las dos cadenas ligeras esenciales poseen actividad ATPasa, mientras que las dos cadenas ligeras reguladoras determinan la unión de la calmodulina a la miosina. La actina y la miosina interaccionan para producir la contracción, que está regulada por:

- Troponina en el músculo esquelético.
- Calmodulina en las células no musculares.

Hay varias isoformas de miosina, y las formas musculares y no musculares tienen secuencias de aminoácidos ligeramente distintas. (Para más detalles, v. *Curso Crash, Sistema musculoesquelético*.)

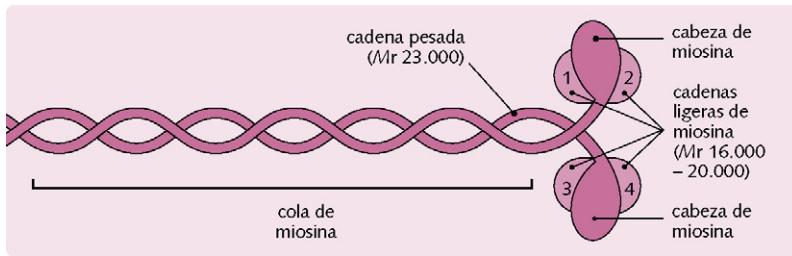
### Ejemplos de la función del citoesqueleto

#### Citoesqueleto de los eritrocitos

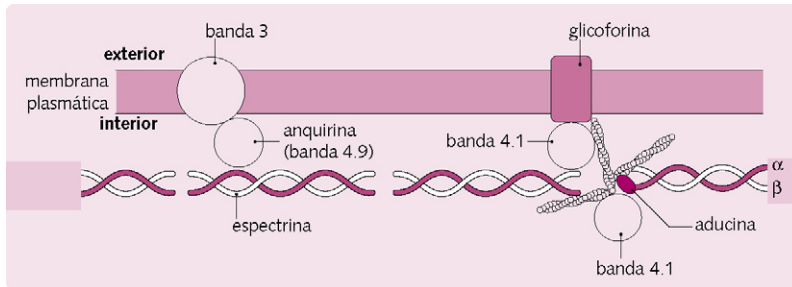
Los eritrocitos tienen una forma muy rígida, pero deformable. Su citoesqueleto es atípico y se encuentra presente sólo en una fina banda por debajo de la membrana celular. La forma de la célula se mantiene de forma indirecta por la espectrina, que une la actina a la anquirina y a la banda 4.1, que a su vez se unen a proteínas integrales transmembrana (fig. 4.5).

La esferocitosis hereditaria es un trastorno de la membrana de los eritrocitos, cuya consecuencia es un cuadro de anemia hemolítica. Los defectos clave son del citoesqueleto, sobre todo una deficiencia de espectrina. Esto produce inestabilidad de la membrana, la pérdida de la superficie del eritrocito y una permeabilidad anómala de la célula al sodio, lo que da lugar a la aparición de células esféricas y rígidas. Estas células son frágiles y susceptibles a la hemólisis espontánea. Tienen una esperanza de vida corta en la circulación, pues no suelen poder atravesar la microcirculación esplénica.





**Fig. 4.4** Estructura de la miosina. La miosina II, que es la forma encontrada en las células musculares, está compuesta por dos cadenas pesadas y cuatro cadenas ligeras. Las hélices  $\alpha$  de dos cadenas pesadas se enrollan entre sí para producir un dímero. Mr, peso molecular relativo. (Adaptada de Stevens y Lowe, 1997.)



**Fig. 4.5** Citoesqueleto del eritrocito basado en la espectrina. La espectrina es un dímero que consta de subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  antiparalelas. Se une a la proteína de intercambio aniónico (banda 3) mediante la anquirina y a la glicoforina mediante la banda 4.1, que también se une a la actina y a la aducina (los números de las bandas de proteínas hacen referencia a la migración en electroforesis SDS-PAGE). (Adaptada de Norman y Lodwick, 1999.)

## Cilios

Los cilios están formados por una disposición de microtúbulos  $9 + 2$ , con un cuerpo basal. Los brazos de dineína conectan las parejas de microtúbulos, y el mecanismo de deslizamiento permite que los cilios puedan doblarse (v. pág. 29).

## Epitelio intestinal

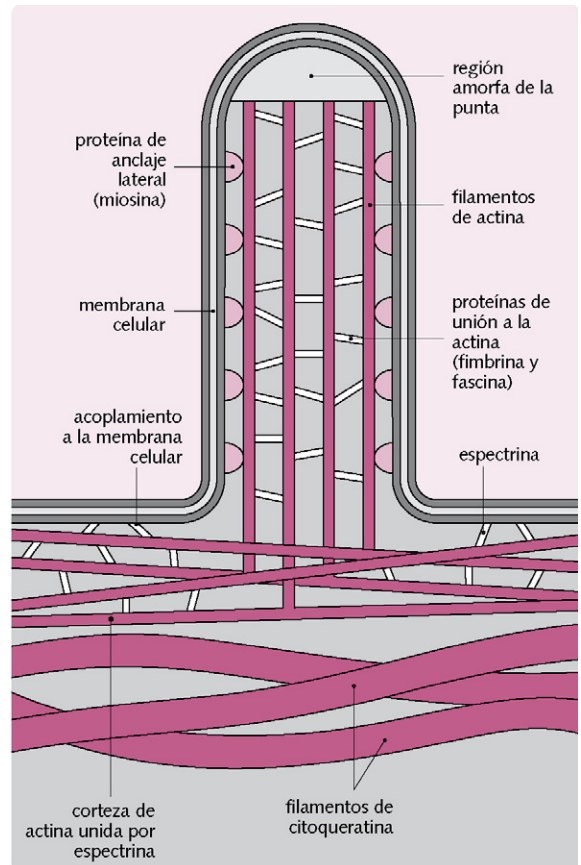
La absorción está aumentada debido a las proyecciones en forma de microvellosidades que incrementan el área de la superficie intestinal (fig. 4.6).

## Transporte axónico

La kinesina y la dineína transportan sustancias a lo largo de los axones, dirigiéndose cada una de ellas en un sentido. Los orgánulos se desplazan alejándose del soma celular, conducidos por la kinesina, que se mueve hacia el extremo positivo del microtúbulo. Por el contrario, el movimiento hacia el soma celular está dirigido por la dineína citoplasmática, que se desplaza hacia el polo negativo del microtúbulo. El transporte se efectúa normalmente a una velocidad de 25 mm/día (fig. 4.7). Las vesículas que transportan los neurotransmisores, sintetizados de novo, se transmiten hacia el extremo celular mediante este mecanismo.

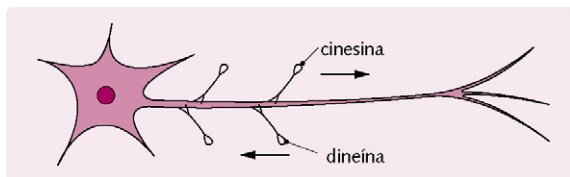
## Contracción muscular

En el músculo esquelético, la conformación en paralelo de actina y miosina en los sarcómeros permite una máxima eficacia de contracción. En el músculo liso, las subunidades contráctiles se asemejan a los



**Fig. 4.6** Estructura de una microvellosidad. Una conformación helicoidal de moléculas de miosina une el haz de actina a la superficie más interna de la membrana celular. (Adaptada de Stevens y Lowe, 1997.)





**Fig. 4.7** Flujo axoplasmático. Las proteínas cinesina y dineína transportan materiales a lo largo de los axones.

sarcómeros, pero no se encuentran tan organizadas. (Para consultar detalles adicionales, v. *Curso Crash, Sistema musculoesquelético y piel*)

## Motilidad de los fagocitos

La motilidad del fagocito se consigue mediante la proyección de pseudópodos, similares a pies, que se asocian con una transición gel/sol de la actina en su extremo, lo que permite el avance de los pseudópodos.

## Huso mitótico

El huso es una disposición polar de microtúbulos que atraviesa el ecuador de la célula. Los cromosomas se unen al huso por medio de la proteína del cinetocoro de sus centrómeros. La separación de las cromátidas se produce a medida que se contraen los microtúbulos, tirando de ellas hacia polos opuestos (v. cap. 6).

# LISOSOMAS

## Definición

Un lisosoma es un orgánulo unido a la membrana que contiene hidrolasas ácidas capaces de degradar macromoléculas. El confinamiento de dichas enzimas en estos orgánulos protege al resto de la célula de sus efectos potencialmente deletéreos.

Los lisosomas poseen:

- Un diámetro de entre 50 nm y 1  $\mu$ m.
- Una única membrana constituida por una bicapa de fosfolípidos que puede fusionarse selectivamente con otros orgánulos membranosos.
- Una bomba de  $H^+$  dependiente de ATP en la membrana que acidifica la matriz lisosómica hasta un pH de 4,5-5,5, lo que activa a las hidrolasas.
- Hidrolasas en la matriz interna que son activas a pH ácido y degradan los carbohidratos, los lípidos y las proteínas.

Los nuevos lisosomas derivan del complejo de Golgi y se denominan lisosomas primarios. Los lisosomas secundarios se forman por fusión con una vesícula que contiene el sustrato (fig. 4.8). La mayoría de las células poseen centenares de lisosomas y las células

fagocíticas contienen miles de ellos. Sin embargo, los eritrocitos no tienen ningún lisosoma.

## Funciones de los lisosomas

Las funciones del lisosoma son (fig. 4.8):

- **Autofagia:** digestión de sustancias de procedencia intracelular (es decir, fusión con vacuolas procedentes del interior celular).
- **Heterofagia:** digestión de sustancias de procedencia extracelular (es decir, fusión con vacuolas procedentes del exterior de la célula: pinocíticas, endocíticas o fagocíticas).
- **Biosíntesis:** reciclado de los productos de la endocitosis mediada por receptor, que incluye al receptor, su ligando y la membrana asociada.

La endocitosis es un tipo de captación de sustancias al interior celular que puede ser específica (endocitosis mediada por receptor) o inespecífica (pinocitosis). La pinocitosis consiste en la captación de moléculas extracelulares a su concentración extracelular. La fagocitosis es la internalización de moléculas unidas a la membrana por invaginación de la membrana. Sólo se produce en células especializadas. Las vesículas endocíticas que se producen por endocitosis se funden con los lisosomas primarios.

Los productos de la digestión enzimática se transportan a través de la membrana lisosómica mediante receptores específicos. La digestión se facilita por enzimas lisosómicas, de las que se han identificado más de 60 enzimas:

- Nucleasas (p. ej., ARNasa ácida, ADNasa ácida).
- Glucosidasas (p. ej.,  $\beta$ -glucuronidasa, hialuronidasa).
- Enzimas de degradación de carbohidratos (p. ej.,  $\beta$ -galactosidasa,  $\alpha$ -glucosidasa).
- Proteasas (p. ej., catépsinas, collagenasa).
- Fosfatasa (p. ej., fosfatasa ácida).
- Sulfatasas (p. ej., aril sulfatasa).
- Lipasas.

Tras su síntesis en el retículo endoplásmico rugoso (RER), las enzimas lisosómicas son modificadas por glucosilación en la luz del RER y después por modificación covalente en el aparato de Golgi. La modificación covalente incluye fosforilación de los grupos de manosa para originar grupos manosa-6-fosfato, que actúan como marcadores de reconocimiento y dirigen las enzimas hacia los lisosomas primarios.

## Endocitosis mediada por receptor

La endocitosis mediada por receptor se produce cuando los ligandos que se unen a receptores específicos de superficie son interiorizados en fagocitos

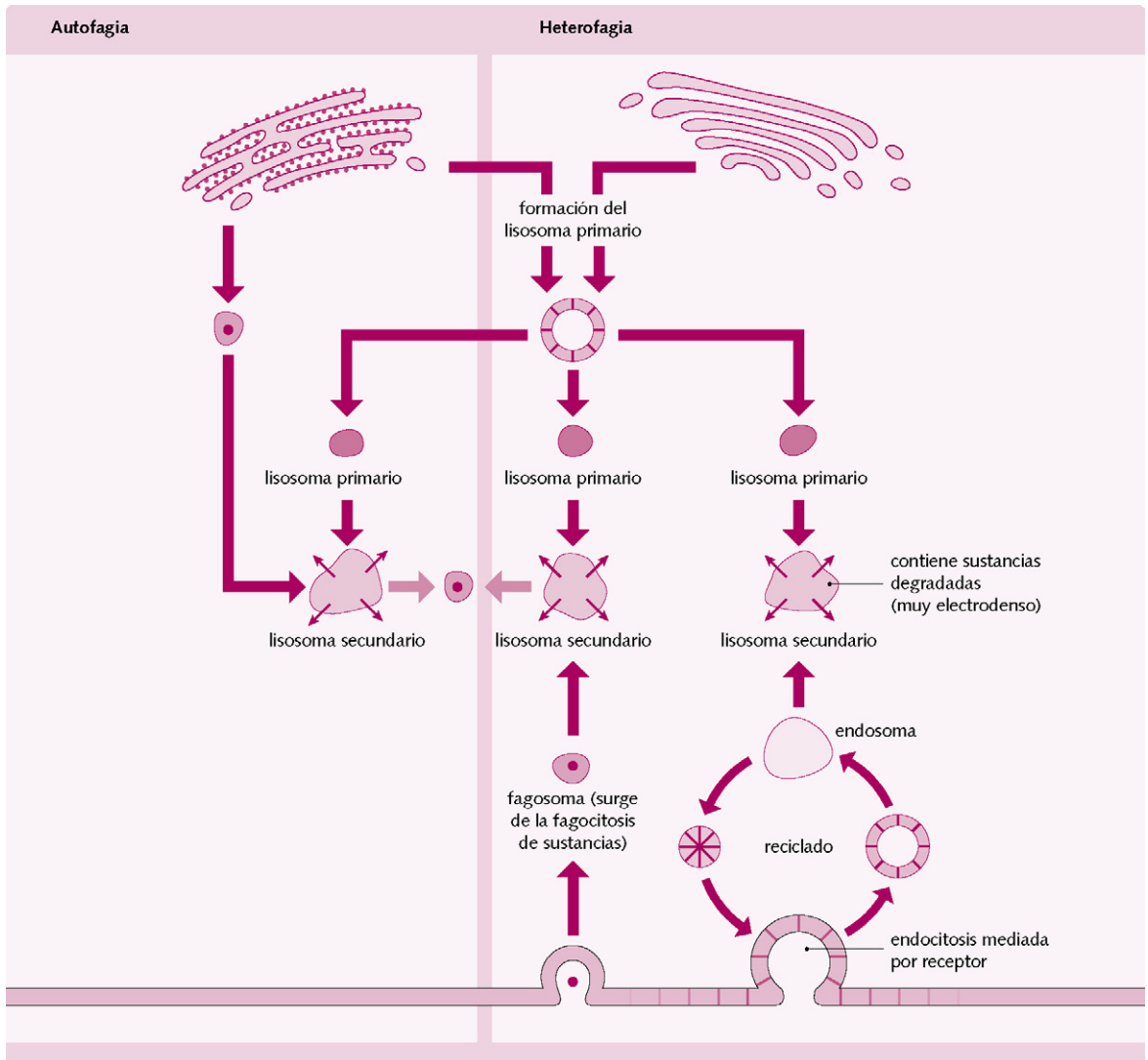


Fig. 4.8 Múltiples vías de exocitosis, endocitosis y reciclaje de membranas. El lisosoma participa en todas estas vías.

recubiertas por clatrina (fig. 4.9). En general, el ligando se degrada en el lisosoma y su receptor es reciclado a la superficie celular. Diversos receptores y sus ligandos experimentan endocitosis mediada por receptor (fig. 4.10).

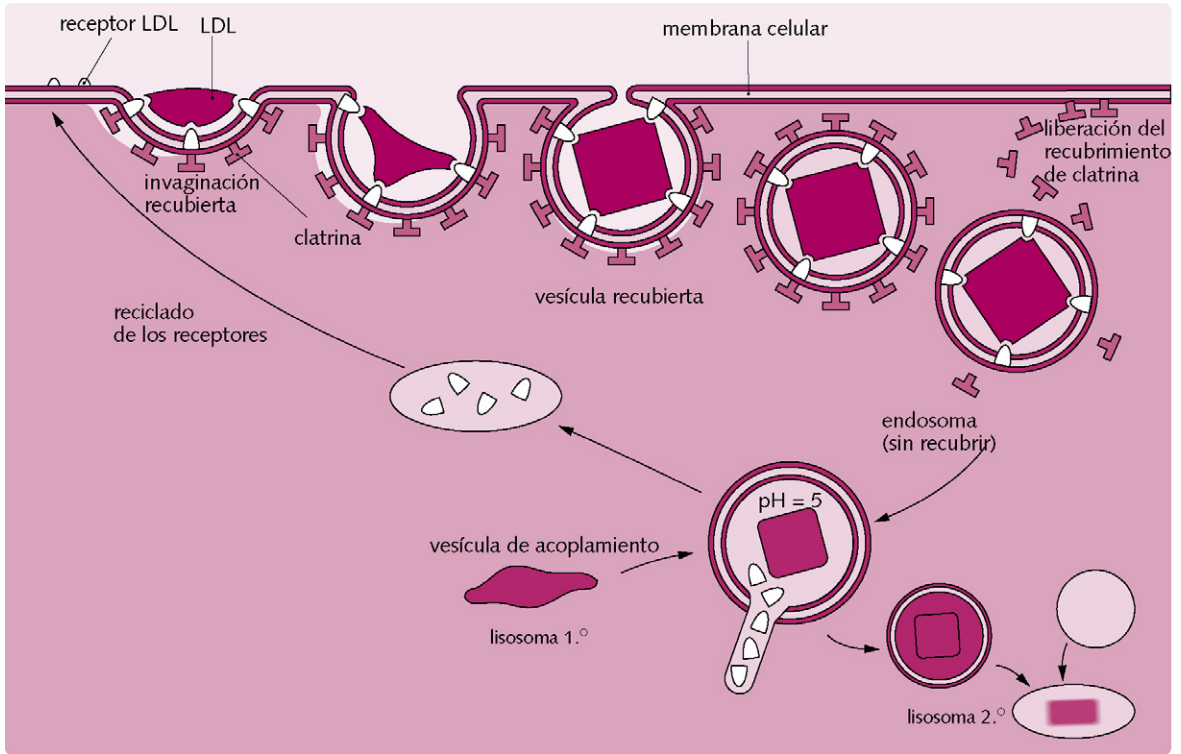
### Enfermedades por almacenamiento lisosómico

Las enfermedades por almacenamiento lisosómico son trastornos de la función lisosómica en los que las macromoléculas quedan atrapadas en el interior del lisosoma, de modo que el lisosoma se agranda, provocando hipertrofia tisular y manifestaciones

patológicas. Las causas de los trastornos por almacenamiento son:

- Enzimáticas: debidas a una insuficiencia o alteración de las hidrolasas ácidas o a la ausencia de un activador principal.
- No enzimáticas: debidas a alteraciones del transportador.

Existen unas 40 enfermedades de este tipo y cada trastorno es raro de forma aislada pero, considerados en conjunto, afectan a 1 de cada 4.800 nacidos vivos. Suelen ser mortales, pero pueden diagnosticarse en el período prenatal. Todos son enfermedades monogénicas y presentan herencia autosómica recesiva,



**Fig. 4.9** Mecanismo de la endocitosis mediada por receptor. Los receptores de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y sus ligandos asociados se localizan en fositas recubiertas de clatrina y son posteriormente internalizados en vesículas recubiertas de clatrina. Las cubiertas se desprenden rápidamente y las vesículas desnudas se fusionan con los endosomas. Los ligandos de LDL se disocian de sus receptores en el medio ácido de endosoma y finalmente terminan en los lisosomas. Mientras tanto, los receptores son secuestrados en una parte del endosoma que es reciclada volviendo a la membrana plasmática, para ser reutilizada. (Adaptada de Stevens y Lowe, 1997.)

excepto 3. Las enfermedades de Fabry y Hunter son trastornos recesivos ligados al cromosoma X, y la enfermedad de Danon tiene una herencia dominante ligada al cromosoma X. Las características que llevan a sospechar una enfermedad por almacenamiento lisosómico son:

- Degeneración neurológica progresiva.
- Hepato(espleno)megalia.
- Displasia ósea, con o sin talla baja.
- Facies tosca.
- Alteraciones oculares (p. ej., manchas de color rojo cereza, cataratas).
- Angioqueratoma.

### Enfermedad de Gaucher

La enfermedad de Gaucher es el trastorno por almacenamiento lisosómico más frecuente (su incidencia es de 1 de cada 25.000 nacidos vivos), con una elevada incidencia en judíos Ashkenazi, quienes tienen una frecuencia de portadores de 1/60. Existe una insuficiencia de  $\beta$ -glucosidasa (enzima codificada en el cromosoma 1q21) que provoca la acumulación de su sustrato, glucocerebrósido, sobre todo en las células fagocíticas del cuerpo, pero a veces también en el sistema nervioso central. Existen tres tipos principales de enfermedad de Gaucher, dependiendo de la edad de inicio y de la afectación cerebral. El tipo I es el más habitual:

- Tipo I: forma del adulto, no neuropática. La esperanza de vida es ligeramente menor.

**Fig. 4.10** Funciones de la endocitosis mediada por receptor

| Moléculas captadas                  | Función                        |
|-------------------------------------|--------------------------------|
| Lipoproteína de baja densidad (LDL) | Transporte de TAG y colesterol |
| Transferrina                        | Transporte de hierro           |
| Insulina                            | Afecta al metabolismo celular  |
| Fibrina                             | Elimina agentes nocivos        |

**Fig. 4.10** Funciones de la endocitosis mediada por receptor.

- Tipo II: infantil grave, rara, los signos neurológicos aparecen a los 3 meses, con el fallecimiento hacia los 2 años de edad.
- Tipo III: «juvenil» subaguda, neuropática, con presentación variable desde la niñez hasta los 70 años.

Aunque la evolución exacta de la enfermedad no puede predecirse por el genotipo, las mutaciones clave del gen de la  $\beta$ -glucosidasa se asocian a tipos específicos del cuadro y pueden ser útiles para tomar decisiones clínicas. La mutación por sustitución N370S tiene una concordancia elevada con el tipo I de la enfermedad, mientras que la mutación homoalélica L444P se correlaciona con las formas neuropáticas graves y la mutación heteroalélica L444P se correlaciona con las formas más leves de la enfermedad, por lo general con el tipo III, aunque también se puede observar en el tipo II.

Enfermedad de Tay-Sachs

Se debe a la deficiencia de la cadena  $\alpha$  de la hexosaminidasa A (codificada en el cromosoma 15q22-25), lo que se traduce en una acumulación del gangliósido GM2. También existe un aumento de su incidencia en judíos Ashkenazi (la frecuencia de portadores es de 1/25, que es 10 veces mayor que en la población general). Los niños afectados son normales al nacimiento; sus síntomas (hipotonía muscular, parálisis y ceguera) suelen presentarse a los 4-8 meses de edad y la muerte sobreviene de forma invariable a los 3-4 años de edad. Se dispone de un método de detección de portadores, que emplea un análisis enzimático del sistema de la hexosaminidasa. Hasta el momento de escribir este libro, no hay un tratamiento eficaz disponible y todo lo que puede ofrecerse son medidas sintomáticas.

INTERACCIÓN Y ADHESIÓN CELULARES

Si los grupos celulares se combinan entre sí para formar parte de un órgano, cada célula debe permanecer en su localización específica y debe poder comunicarse con sus vecinas. Las interacciones intercelulares y las de éstas con la matriz extracelular (MEC) desempeñan un amplio cometido estructural, pero también facilitan la comunicación intercelular en varios procesos biológicos, como la migración, el crecimiento, las funciones inmunológicas, la permeabilidad, el reconocimiento celular, la reparación tisular, la diferenciación y la embriogénesis.

Por lo general, las células se unen a la MEC a través de moléculas específicas de adhesión, que proporcionan elasticidad y resistencia a las fuerzas

mecánicas (p. ej., como en el tejido conjuntivo). Sin embargo, el epitelio posee poca cantidad de MEC (sólo en la membrana basal), por lo que las interacciones intercelulares están adaptadas para soportar fuerzas de compresión y tensión, y muestran distintos tipos de uniones intercelulares.

Uniones intercelulares

Existen zonas de contacto entre las células y entre éstas y la MEC. Se distinguen tres grupos de uniones celulares (fig. 4.11) que abarcan seis tipos (fig. 4.12). Un complejo de unión consta de una unión estrecha, una unión de anclaje y un desmosoma.

Uniones estrechas

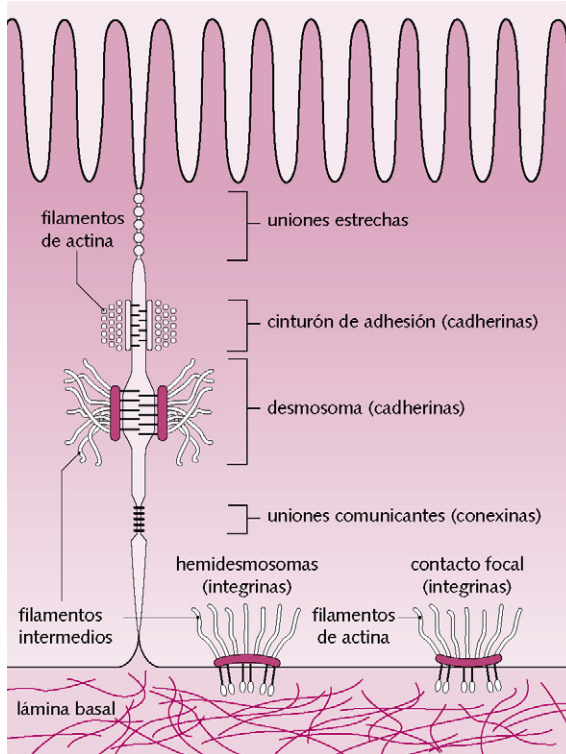
Todos los epitelios actúan como barreras con permeabilidad selectiva mediante uniones estrechas que bloquean la difusión de las proteínas de membrana entre los dominios apical (cima) y basolateral (a los lados del polo basal) de la membrana plasmática, sellando las células colindantes entre sí, de modo que las moléculas hidrosolubles no pueden escapar entre ellas (fig. 4.13). El contacto intercelular en estas uniones está mediado por las proteínas ocludina y claudina. La capacidad para restringir el paso de iones aumenta de forma logarítmica con el número de cadenas de ocludina (p. ej., las uniones estrechas del intestino delgado son 10.000 veces más laxas que las de la vejiga). El grado de permeabilidad que ofrecen las uniones estrechas se encuentra bajo control fisiológico y está influido por señales intracelulares.

Fig. 4.11 Tipos de unión celular

| Grupo                   | Miembros                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Uniones de oclusión     | Uniones estrechas                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Uniones de anclaje      | Puntos de unión de los filamentos de actina (uniones adherentes): célula-célula (p. ej., cinturones de adherencia) célula-matriz (p. ej., contactos focales)<br><br>Puntos de unión de filamento intermedio: célula-célula (p. ej., desmosomas) célula-matriz (p. ej., hemidesmosomas) |
| Uniones de comunicación | Uniones comunicantes<br><br>Sinapsis químicas                                                                                                                                                                                                                                          |

Fig. 4.11 Tipos de unión celular.





**Fig. 4.12** Uniones célula a célula y célula-matriz. Existen seis tipos de uniones en el tejido epitelial. (Adaptada de Norman y Lodwick, 1999.)

## Uniones de anclaje

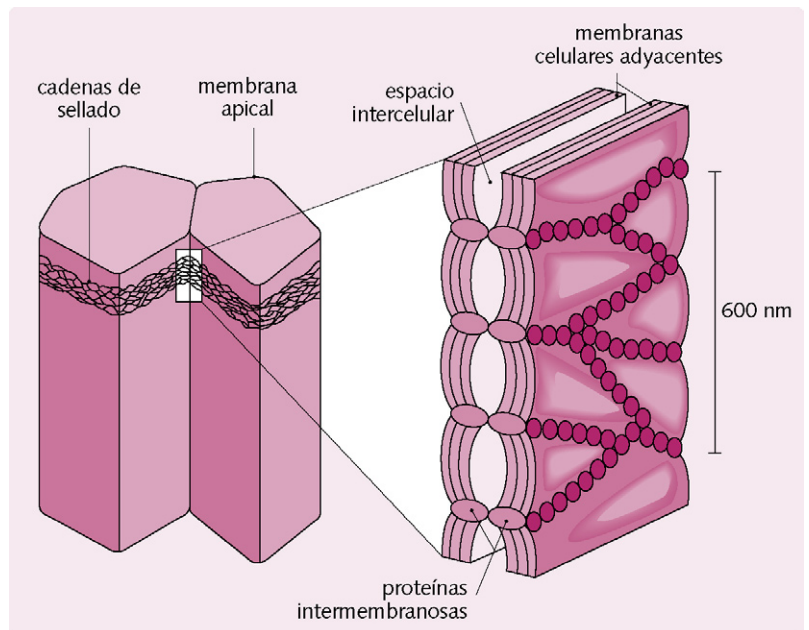
Las uniones de anclaje son responsables del mantenimiento de la integridad tisular y por tanto son más abundantes en las células sometidas a tensión (p. ej., músculo cardíaco). Unen los citoesqueletos de células adyacentes entre sí o a la MEC y están constituidas por:

- Proteínas de unión intracelulares.
- Glucoproteínas de anclaje transmembrana.
- MEC o glucoproteínas de anclaje transmembrana a otra célula (fig. 4.14).

Las uniones de anclaje que contienen conexiones filamentosas de actina se denominan uniones adherentes. En las células no epiteliales, las uniones adherentes se disponen a modo de franjas y en las células epiteliales como cinturones continuos, justo por debajo de las uniones estrechas. Estas uniones conectan los citoesqueletos (corteza celular de actina) de las células adyacentes.

Los desmosomas actúan como sitios de anclaje de los filamentos intermedios y proporcionan resistencia a la tensión (fig. 4.15). El contacto intercelular está mediado por las desmogleínas, que son un tipo de cadherinas (v. págs. 65-66). Los hemidesmosomas poseen una estructura similar a los desmosomas, pero conectan los filamentos intermedios celulares a la MEC (membrana basal) a través de los anclajes de proteínas de tipo integrina (v. fig. 4.12).

**Fig. 4.13** Estructura de una unión estrecha. La unión estrecha forma una banda continua alrededor de la célula y por tanto se denomina zonula occludens. La ocludina, una proteína integral de membrana, media la interacción intercelular. Cada unión está constituida por múltiples pares de esta proteína; cada miembro del par procede de una célula. (Adaptada de Stevens y Lowe, 1997.)





## Uniones comunicantes

A diferencia de las uniones estrechas y de anclaje, las de tipo comunicante no sellan las membranas entre sí, ni restringen el paso de sustancias entre las membranas. Las uniones comunicantes permiten que las células de un tejido respondan como una unidad integrada. Los iones inorgánicos que transportan cargas eléctricas y las moléculas hidrosolubles pueden pasar directamente desde una célula a otra por estas estructuras, lo que permite el acoplamiento metabólico y eléctrico de las células.

El desarrollo de autoanticuerpos dirigidos contra las proteínas desmosómicas desmogleína-1 y desmogleína-3 provoca la familia de enfermedades «inmunoampollosas» denominada pénfigo. El ataque autoinmunitario a estas proteínas provoca la separación de los queratinocitos entre sí (acantólisis), de modo que flotan libres en la ampolla resultante. Los autoanticuerpos contra la desmogleína-3 causan el pénfigo vulgar que, si no está bien controlado, da origen a infecciones secundarias y alteraciones hidroelectrolíticas, cuyo resultado puede ser mortal. Los autoanticuerpos contra la desmogleína-1 ocasionan el pénfigo foliáceo, que es más superficial y, por lo general, benigno.

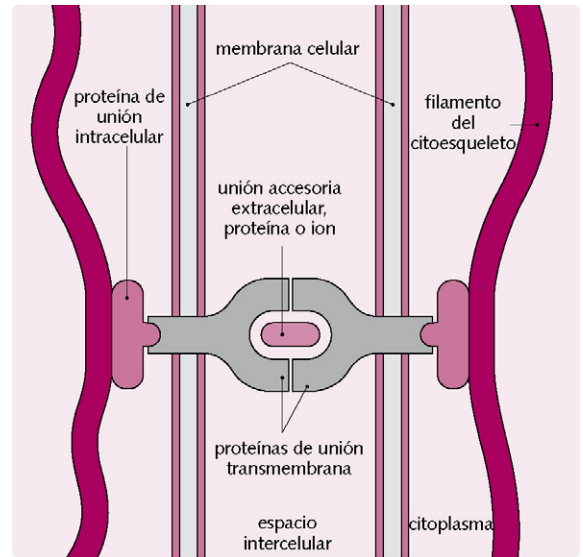


Fig. 4.14 Estructura general de una unión de anclaje. Diferentes (o múltiples) proteínas de unión y proteínas transmembrana intervienen en las diversas clases de unión. (Adaptada de Stevens y Lowe, 1997.)

Una unión comunicante consta de dos conexones (o hemicanales), que se conectan a través del espacio intercelular (fig. 4.16). Cada conexón está formado por seis conexinas y cada conexina consta de cuatro hélices  $\alpha$ . Puede haber varias combinaciones de éstas, de forma que se crean uniones comunicantes con distintas propiedades. Las moléculas de hasta 1.000 Da pueden pasar a través del poro de 1,5-2 nm de diámetro. Algunos poros tienen un

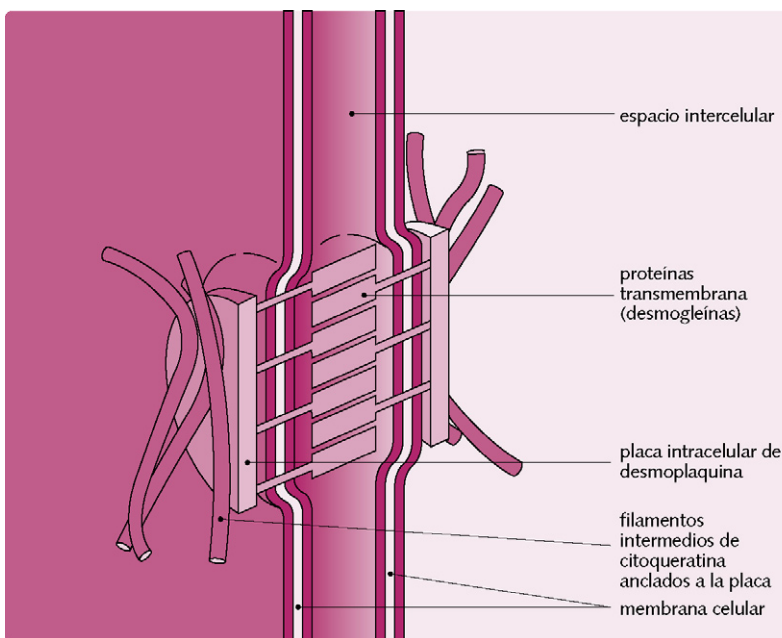


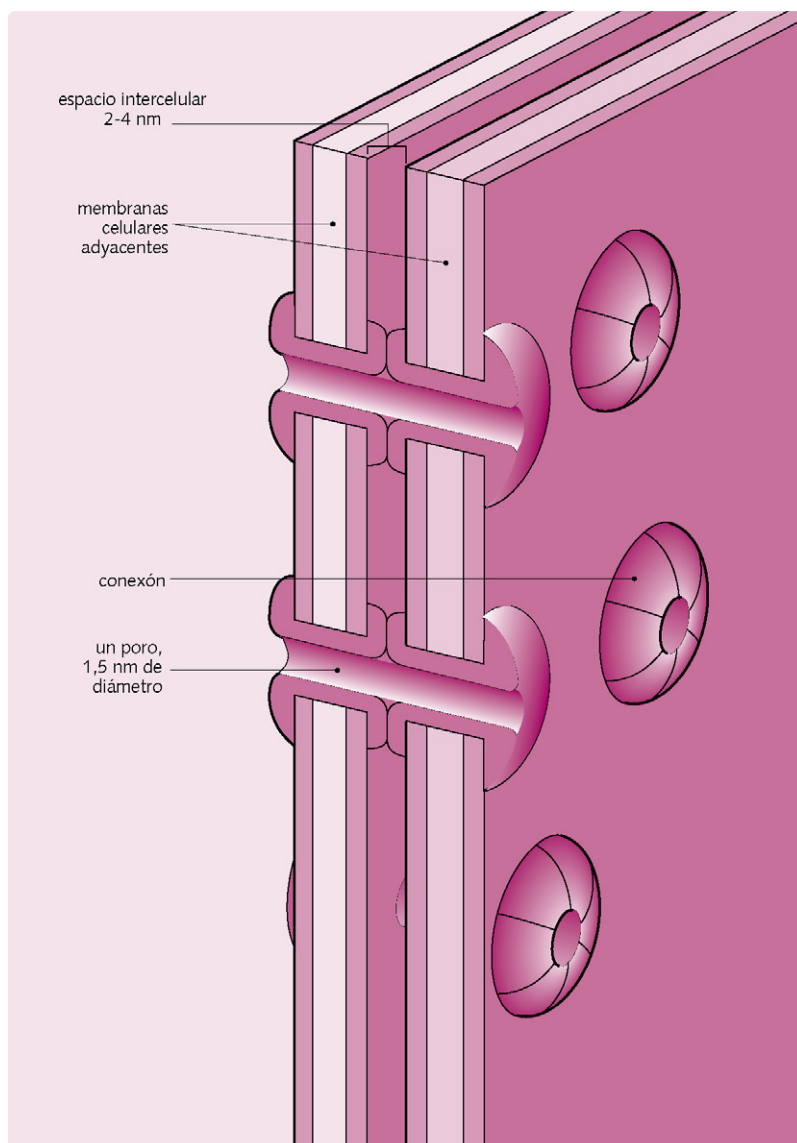
Fig. 4.15 Estructura de un desmosoma. En la superficie citoplasmática de cada célula que se une se localiza una placa densa, compuesta por desmoplaquina que se asocia, por un lado, con los filamentos intermedios anclados y, por el otro, con la desmogleína (un tipo de cadherina). La adherencia intercelular está mediada por uniones homófilas entre las desmogleínas adyacentes. (Adaptada de Stevens y Lowe, 1997.)

mecanismo de control de entrada, cuya apertura está relacionada con un cambio tridimensional que, a su vez, depende frecuentemente de señales extracelulares. Varios miles de conexones forman una unión comunicante. El acoplamiento eléctrico por medio de uniones comunicantes es importante en los siguientes casos:

- Peristaltismo.
- Sincronización de la contracción cardíaca.
- Coordinación del epitelio ciliado.

Las uniones comunicantes participan en la embriogénesis al permitir que se formen gradientes de morfógenos a través de los bloques de células.

**Fig. 4.16** Estructura de parte de una unión comunicante. La unión consta de varios cientos de poros que se alinean en las células adyacentes. Cada poro está compuesto por dos conexones, uno de cada célula, que se unen a través de las hendiduras intercelulares para formar un canal acuoso continuo. Este canal facilita el acoplamiento celular eléctrico y químico, dado que la corriente eléctrica y los segundos mensajeros pueden atravesarlo libremente. La célula puede regular la permeabilidad de las uniones comunicantes. (Adaptada de Stevens y Lowe, 1997.)



## Moléculas de adhesión

Las moléculas de adhesión son ligandos para la superficie celular. Suele tratarse de glucoproteínas que median la adhesión intercelular. Se ha demostrado que intervienen en el desarrollo embrionario, la homeostasis, las respuestas inmunitarias y la transformación maligna.

Hay cuatro familias principales de moléculas de adhesión celular (fig. 4.17):

- Cadherinas.
- Superfamilia de las inmunoglobulinas.
- Selectinas.
- Integrinas.

Fig. 4.17 Familias de moléculas de adhesión

| Familia                                             | Miembros                                 | Dependientes de $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ | Asociación con el citoesqueleto              | Función celular asociada           |
|-----------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------|
| Cadherinas                                          | E-CAD, N-CAD, P-CAD, CAD desmosómico     | Sí                                              | Filamentos de actina                         | Cinturones de adhesión, desmosomas |
| Familia de las inmunoglobulinas (Ig)                | N-CAM, V-CAM, L1                         | Sí                                              | Filamentos intermedios (algunos miembros)    | —                                  |
| Selectinas (sólo células sanguíneas y endoteliales) | Selectina P y selectina E                | No                                              | —                                            | Asentamiento celular               |
| Integrinas                                          | LFA-1 ( $\beta_2$ ), MAC-1 ( $\beta_2$ ) | Sí                                              | Filamentos de actina, filamentos intermedios | Contactos focales, hemidesmosomas  |

Fig. 4.17 Familias de moléculas de adhesión. Características de las principales familias moléculas de adhesión.

Cadherinas

Las cadherinas son glucoproteínas con un solo paso transmembrana que intervienen en procesos de adhesión y comunicación (fig. 4.18). Suelen participar en interacciones homófilas dependientes de calcio (es decir, la proteína es tanto el ligando como el receptor). Se ha demostrado que las secuencias N-terminales, que contienen un motivo HAV (histidina, alanina, valina) conservado, son relevantes en

la unión al ligando y en la especificidad. Las cadherinas están unidas al citoesqueleto por una clase de proteínas de conexión denominadas cateninas. Las cadherinas son dependientes del calcio, por lo que cambiando la concentración del  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular se modificarán sus interacciones. Las tres clases de cadherinas que más se expresan son:

- E-CAD (CDH1), que se encuentra en el epitelio y en el desarrollo inicial del tejido nervioso.

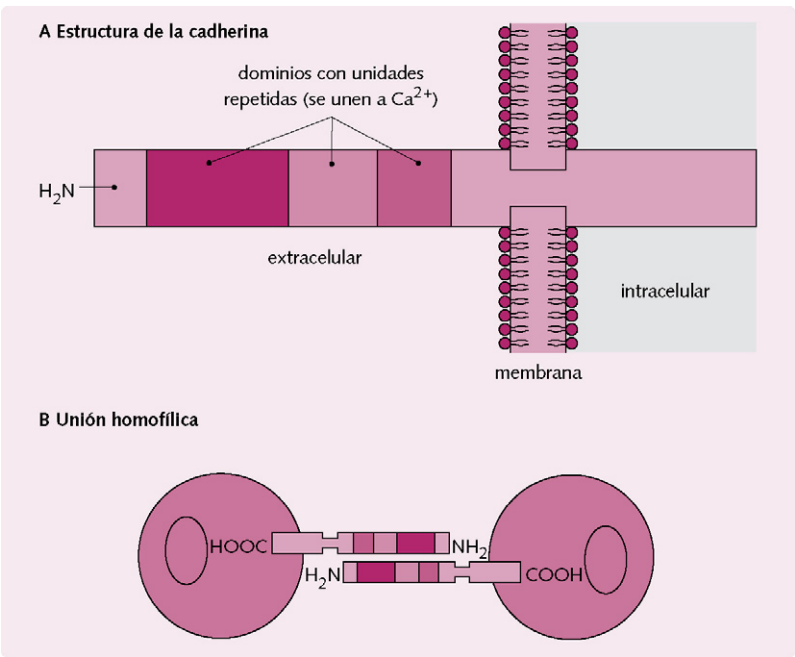


Fig. 4.18 A) Estructura de la cadherina. Está compuesta por cinco dominios extracelulares, cada uno con una longitud de 700-750 aminoácidos y un dominio intracelular. La porción intracelular no está presente en T-CAD (T, truncada). B) La cadherina exhibe unión homófila en la que la molécula actúa a la vez como ligando y como receptor.

- P-CAD (CDH3), que se encuentra en el epitelio y en el trofoblasto (placenta).
- N-CAD (CDH2), que se encuentra en el tejido nervioso y en el músculo esquelético.

La capacidad de crecimiento incontrolado, migración, invasión y metástasis que tienen las células tumorales suele asociarse a la alteración de las uniones intercelulares y entre la célula y la matriz extracelular. La pérdida de las cadherinas puede dirigir la invasión tumoral y la malignización al permitir una desagregación de las células con facilidad. La reducción de la expresión de la E-cadherina en la superficie celular se ha observado en muchos tipos de cáncer, y se produce por una mutación somática del gen de la E-cadherina o como un efecto secundario de mutaciones de otros genes. Las mutaciones de la E-cadherina en la línea germinal crean una predisposición al cáncer gástrico.

a lo largo de otros axones por unión homófila).

Algunos miembros destacados de la familia de las Ig son: molécula de adhesión de las células neurales (NCAM), molécula de adhesión vascular (VCAM), molécula de adhesión endotelial plaquetaria (PECAM) e intercelular (ICAM).

### Selectinas

Las selectinas son moléculas dependientes del  $\text{Ca}^{2+}$  y presentan unión heterófila con ligandos carbohidratos (lectinas) (fig. 4.19), lo que inicia interacciones entre leucocitos y el endotelio. La familia de la selectina consta de tres miembros:

1. La selectina L, que se expresa en los leucocitos.
2. La selectina E, que se expresa en células endoteliales activadas.
3. La selectina P, que se expresa en plaquetas y células endoteliales activadas.

La expresión de selectinas se induce por mediadores químicos locales:

- La selectina E se activa por el factor de necrosis tumoral (TNF), interleucina-1 (IL-1) y la endotoxina.
- La selectina P se activa por la histamina, trombina, factor activador de plaquetas y ésteres de forbol y, más despacio, por el TNF- $\alpha$  y la IL-1.

El dominio lectina reconoce oligosacáridos específicos de la superficie de los neutrófilos: los oligosacáridos Lewis X y Lewis X sializado son reconocidos por la selectina P y la selectina E, respectivamente. Estas interacciones de afinidad débil permiten a los leucocitos unirse al revestimiento endotelial de los vasos sanguíneos hasta que se activan las integrinas. La selectina L es constitutiva de la superficie de los polimorfonucleares neutrófilos, los monocitos y los linfocitos, de modo que las selectinas facilitan la permanencia de estas células en los nódulos linfáticos y a nivel capilar subendotelial.

### Superfamilia de las inmunoglobulinas (Ig)

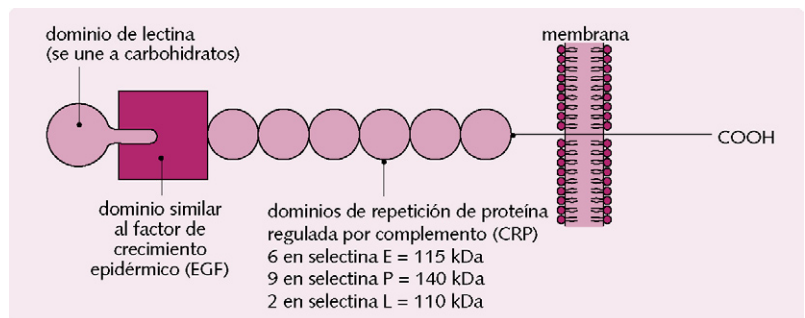
Estas moléculas de adhesión se caracterizan por:

- Plegamiento del anticuerpo en cada dominio.
- Estructura  $\beta$  en forma de barril.
- Dos láminas  $\beta$  plegadas y unidas por enlaces disulfuro cisteína-cisteína, separadas entre sí 60-80 residuos.
- Regiones en bucle sin estructura  $\beta$  (regiones de expresión variable).

Existe una adhesión independiente de  $\text{Ca}^{2+}$ ; además, las proteínas Ig tienen puntos de unión homo y heterófilos (la proteína es ligando o receptor). Los miembros de las Ig participan en:

- Adhesión.
- Transducción de señales.
- Crecimiento y fasciculación axónicos (fasciculación significa que los axones crecen

Fig. 4.19 Estructura de una molécula de selectina.



No te confundas con el empleo de la vieja nomenclatura relativa a las selectinas. La selectina P se denomina también GMP-140 y la selectina E también se denomina E-LAM.



Integrinas

Las integrinas son proteínas integrales de la membrana plasmática. Son los principales receptores de unión a la MEC y contribuyen también a la transducción de señales de la MEC a la célula. Su estructura es un heterodúplex de glucoproteínas  $\alpha$  y  $\beta$  (fig. 4.20) unido de forma no covalente. Se han identificado 18 cadenas de glucoproteínas  $\alpha$  y 8 de glucoproteínas  $\beta$ , que dan origen a por lo menos 24 pares  $\alpha$ - $\beta$ . Las integrinas de los mamíferos forman varias subfamilias que comparten subunidades  $\beta$  comunes que se asocian con diferentes subunidades  $\alpha$ . Las integrinas difieren de otros receptores en que se unen a su ligando con una baja afinidad y están presentes a elevadas concentraciones. Sus interacciones son heterófilas y dependientes de  $\text{Ca}^{2+}$  o  $\text{Mg}^{2+}$ , según el tipo de integrina (fig. 4.21). Las  $\beta 2$  y  $\beta 1$  son integrinas importantes.

Integrinas  $\beta 1$

Se encuentran en la mayoría de las células, formando dímeros con al menos 12 subunidades  $\alpha$  diferentes. La subunidad  $\beta 1$  se denomina CD29 y las integrinas  $\beta 1$  suelen denominarse moléculas VLA (de acción muy tardía), ya que en los primeros experimentos in vitro se observó que se expresan 2-4 semanas después de la activación de los linfocitos T. La más destacada es VLA4 ( $\alpha 4\beta 1$ ), que se une a VCAM-1 (una molécula de adhesión vascular) y es relevante para la permanencia de los linfocitos en el endotelio en los sitios de inflamación.

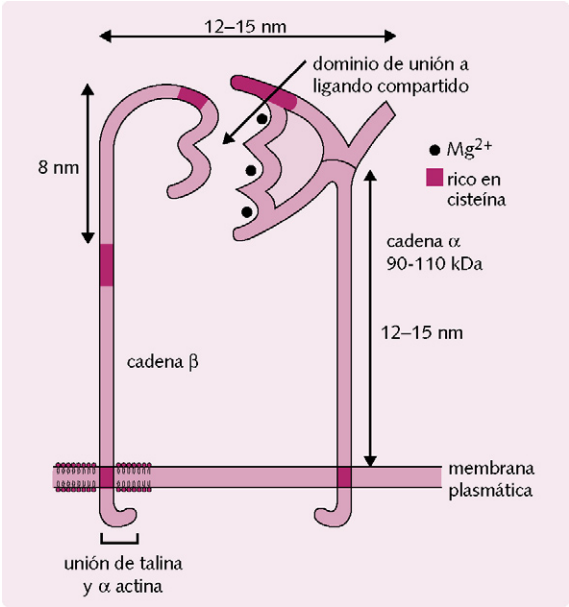


Fig. 4.20 Estructura de la integrina.

Integrinas  $\beta 2$

Son específicas de los leucocitos, por lo que se denominan también familia de antígeno-1 asociado a la función del leucocito (LFA1). Forman dímeros con al menos cuatro tipos distintos de subunidades  $\alpha$ . La proteína LFA1 también se denomina  $\alpha \text{L}\beta 2$ . Interviene en interacciones intercelulares directas, uniéndose a las moléculas de adhesión intercelular 1, 2 y 3 (ICAM-1, ICAM-2 e ICAM-3). La proteína MAC1 (antígeno macrófagico 1), exclusiva de los granulocitos y monocitos, también es una integrina  $\beta 2$  y se une a ICAM-1. Se utiliza igualmente la nomenclatura de los antígenos de superficie («grupos de diferenciación») (p. ej., CD18 es  $\beta 2$ ).

Fig. 4.21 Integrinas y proteoglicanos transmembrana

| Familia                      | Miembros          | Dependientes de $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ | Asociación con el citoesqueleto | Función celular asociada |
|------------------------------|-------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| Integrinas                   | Muchos            | Sí                                              | Filamentos de actina            | Focal                    |
| Proteoglicanos transmembrana | $\alpha_6\beta_4$ | Sí                                              | Intermedios                     | Hemidesmosomas           |
|                              | Sindecanos        | No                                              | Actina                          | Ninguna                  |

Fig. 4.21 Integrinas y proteoglicanos transmembrana.



La incapacidad de expresar la integrina  $\beta 2$  (CD18) en los leucocitos produce la deficiencia de adhesión leucocitaria de tipo (LAD1). Además de reconocer a las moléculas ICAM, la integrina  $\beta 2$  es el receptor del complemento (iC3b) y, sin ella, los leucocitos no sólo son incapaces de migrar de los vasos sanguíneos a los sitios de infección, sino que no pueden reconocer ni unirse al complemento. Esto produce un fenotipo inmunodeprimido e infecciones recidivantes. Las formas graves de la enfermedad se asocian a una mortalidad elevada; los pacientes suelen fallecer por una infección bacteriana en el primer año de vida.

## Unión de las integrinas

Habitualmente, las integrinas se unen al citoesqueleto compuesto por actina en el interior de la célula. En el exterior, las integrinas pueden unirse a:

- MEC (p. ej., fibronectina).
- Moléculas de la superficie celular (p. ej., ICAM-1).
- Moléculas solubles (p. ej., fibrinógeno).

Las integrinas tienen puntos de reconocimiento para los ligandos; por ejemplo, los dominios similares a Ig se unen a las ICAM y el tripéptido RGD (arginina, glicina, ácido aspártico), que es una secuencia habitualmente expresada en la fibronectina y otras proteínas de la MEC. Las células pueden variar sus propiedades de unión modificando la afinidad y especificidad de las integrinas.

Las integrinas intervienen en las transducción de señales en las células (p. ej., el agrupamiento de  $\beta 1$ - $\alpha 5$  por la fibronectina produce alcalinización citoplasmática).

## Membrana basal

La membrana basal, compuesta por la lámina basal y la lámina reticular, es una capa de la MEC situada por debajo de las células endoteliales y epiteliales y que rodea a los adipocitos, a las células de Schwann y a las células musculares. Actúa aislando estas células del mesénquima o tejido conjuntivo. Está compuesta por colágeno de tipo IV, heparansulfato, proteoglucanos, entactina y laminina. Las funciones de la membrana basal son:

- Adhesión celular.
- Actuar como un filtro poroso en el glomérulo renal.
- Inhibir la diseminación de las neoplasias.
- Regular la migración celular.
- Crecimiento y curación de heridas.
- Diferenciación.

## Matriz extracelular

La MEC es un gel de polisacárido hidratado que contiene una malla de glucoproteínas. Está compuesta por:

- Proteoglucanos.
- Proteínas estructurales: colágeno, elastina.
- Proteínas de adhesión fibrosas: laminina, fibronectina, tenascina.

En la mayoría de los tejidos, los componentes de la MEC son segregados por los fibroblastos locales, pero en el cartílago están también implicados los condroblastos y osteoblastos. La MEC influye en la división, desarrollo, diferenciación, migración, metabolismo y forma de las células. Los tejidos conjuntivos dependen de las propiedades locales de la MEC, que:

- Está calcificada en el hueso y los dientes.
- Es similar a una cuerda en el tendón.
- Es transparente en la córnea.

## Proteoglucanos

Forman el gel de polisacárido hidratado que actúa como un sustrato y permite la difusión de sustancias tales como alimentos y hormonas desde la sangre a los tejidos, y viceversa. Los glucosaminoglucanos (GAG) son cadenas no ramificadas de polisacáridos constituidas por unidades repetidas de disacáridos (fig. 4.22). Los proteoglucanos se forman en el aparato de Golgi, en el que:

- La proteína central se une a un tetrasacárido mediante una serina.
- Las glucosil transferasas añaden residuos glucídicos.
- Se producen reacciones ordenadas de sulfatación y epimerización (conversión de

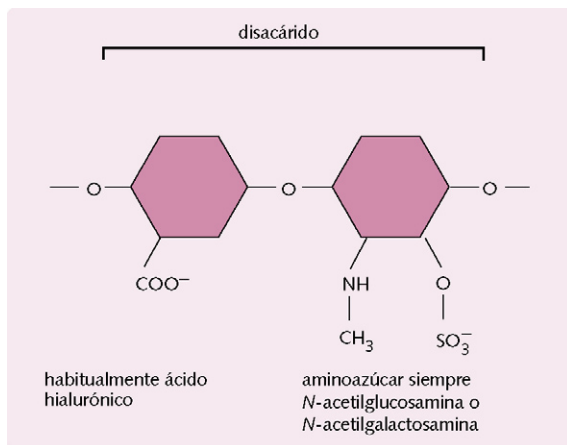


Fig. 4.22 Subunidad disacárida de glucosaminoglucano.

algunos aminoácidos de su forma natural como isómero L al isómero D).

Los principales tipos de GAG son:

- Ácido hialurónico: que actúa como lubricante en el líquido sinovial.
- Condroitinsulfato: en el cartílago.
- Dermatan sulfato.
- Heparansulfato: un anticoagulante.
- Heparina.
- Queratansulfato: en la piel.

Tanto el condroitinsulfato como el dermatansulfato y el heparansulfato tienen entre 500 y 50.000 Da.

Los GAG son muy hidrófilos y poseen una estructura en forma de tirabuzón extendido que ocupa mucho espacio. Los GAG tienen carga negativa y atraen a los cationes; así, se atrae  $\text{Na}^+$ , osmóticamente activo, por lo que se absorbe agua hacia la matriz, lo que proporciona una turgencia capaz de resistir fuerzas cientos de veces superiores a la presión atmosférica.

La función de los proteoglucanos es:

- Proporcionar un espacio hidratado.
- Unirse a las moléculas de transmisión de señales segregadas.
- Actuar como tamices para regular el tráfico molecular.

En la figura 4.23 se comparan los proteoglucanos y las glucoproteínas.

### Colágeno

Esta proteína fibrosa tiene una gran resistencia a la tensión y al estiramiento (fig. 4.24). Supone el 25% de las proteínas de los mamíferos y es rico en prolina (estructura en anillo) y glicina (el aminoácido más pequeño y que aparece cada tres residuos, lo que permite que las cadenas se ajusten entre sí). La síntesis de colágeno se realiza en el RE y el Golgi, tal y como se describe en el capítulo 2.

Fig. 4.23 Comparación entre proteoglucanos y glucoproteínas

| Proteoglucanos                | Glucoproteínas                 |
|-------------------------------|--------------------------------|
| Hasta un 95% de carbohidratos | 1-60% de carbohidratos en peso |
| Carbohidrato no ramificado    | Carbohidrato ramificado        |
| 80 residuos de azúcar         | 13 residuos de azúcar          |
| Mayor de $3 \times 10^5$ D    | No mayor de $3 \times 10^5$ D  |

Fig. 4.23 Comparación entre proteoglucanos y glucoproteínas.

Hasta el momento, se han descrito más de 20 tipos distintos de colágeno, cada uno de ellos codificado por una familia de múltiples genes y que se pueden dividir en dos tipos principales: fibrilar y no fibrilar. Los tipos I, II y III corresponden al colágeno fibrilar y se encuentran en el tejido conjuntivo (fig. 4.25).

Las fibrillas son agregados de colágeno de 10-300 nm de diámetro, reunidas para formar fibras de colágeno de unos pocos milímetros de diámetro. Su organización es específica de cada tejido; por ejemplo:

- El patrón de «trenzado» de la piel resiste la tensión multidireccional.
- En el hueso y la córnea se dispone en capas paralelas.

El colágeno de tipo IV es no fibrilar y forma una red de forma laminar y se encuentra sólo en la lámina basal (fig. 4.26).

La osteogénesis imperfecta (enfermedad de los huesos de cristal) es un grupo heterogéneo de trastornos caracterizados por fracturas espontáneas, deformidades óseas y alteraciones de la dentición. La sustitución de glicina por un aminoácido de mayor tamaño altera la formación de la triple hélice y provoca una forma grave de la enfermedad de herencia dominante.

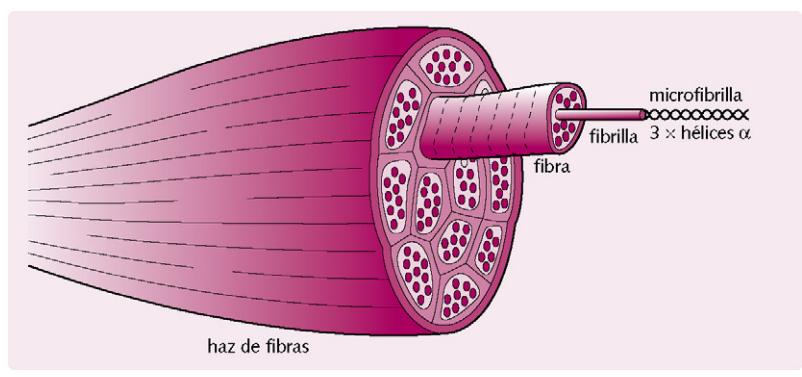
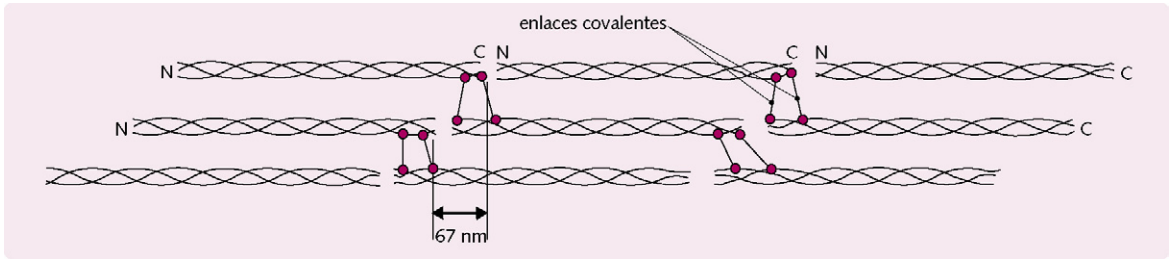
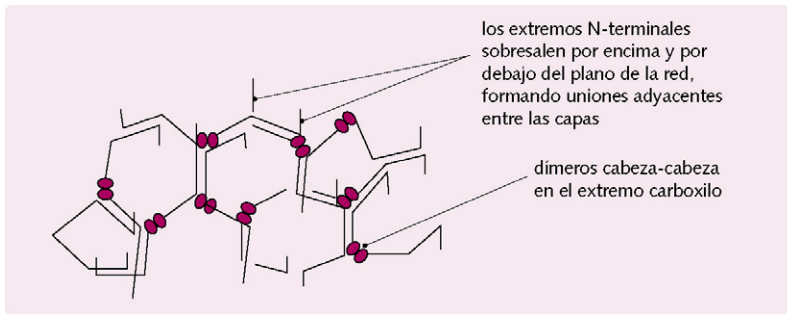


Fig. 4.24 Estructura del colágeno. Cada molécula individual de colágeno es una hélice levógira. Tres moléculas de colágeno se trenzan entre sí para formar una microfibrilla. Las microfibrillas hacen lo propio para formar fibrillas y éstas, a su vez, lo hacen para formar fibras.



**Fig. 4.25** Estructura del colágeno fibrilar. Las moléculas de colágeno están situadas unas al lado de otras, escalonadas respecto de las moléculas adyacentes y separadas por un cuarto de su longitud. (Adaptada con autorización de *Molecular Cell Biology* 2.ª ed., de Darnell, Lodish y Baltimore, Scientific American Books, 1990.)



**Fig. 4.26** Estructura del colágeno de tipo IV, con empalme en láminas multicapa. (Adaptada con autorización de *Molecular Biology of the Cell*, 3.ª ed., de B. Alberts y cols., Garland Publishing, 1994. Reproducida con autorización de Routledge, Inc., integrante de The Taylor & Francis Group.)

## Elastina

La elastina se encuentra en los lugares que necesitan flexibilidad (p. ej., la piel, los vasos sanguíneos y los pulmones). Es una proteína hidrófoba muy glucosilada (fig. 4.27), rica en las formas no hidroxiladas de prolina y glicina. Uno de cada siete aminoácidos es valina. Las láminas se organizan con la ayuda de

una glucoproteína microfibrilar, la fibrilina, que se segrega antes que la elastina. El déficit de fibrilina provoca el síndrome de Marfan.

## Laminina

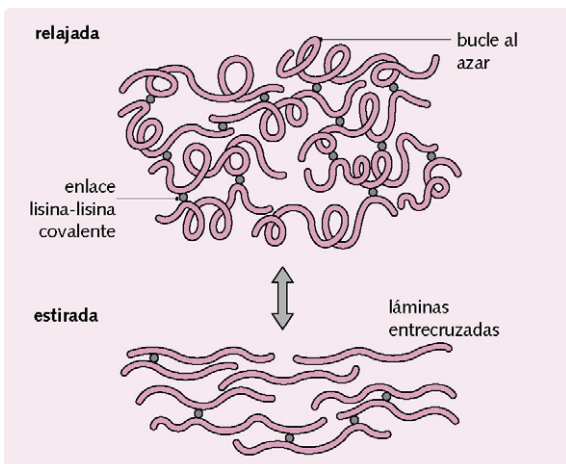
La laminina ancla las superficies celulares a la membrana basal. Es una molécula heterotrimérica de gran tamaño, formada por una cadena  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , que se mantienen juntas en forma de «cruz» por enlaces disulfuro.

## Fibronectina

Es una glucoproteína de adhesión, con puntos de unión para las células y la matriz. Es un dímero de dos subunidades que se mantienen juntas mediante enlaces disulfuro y que aparecen plegadas en dominios globulares. Las formas de fibronectina implicadas en la curación de las heridas y en la embriogénesis parecen favorecer la migración y la proliferación celulares.

## Tenascina

Esta proteína, que puede favorecer o inhibir la migración y la adhesión celulares, se produce sólo en el tejido embrionario y en las células gliales.



**Fig. 4.27** Estructura de la elastina estirada y relajada. (Adaptada de Stevens y Lowe, 1997.)

## Papel de los fibroblastos

Los fibroblastos son miembros de la familia de células del tejido conjuntivo. Todos los miembros de esa familia de tejido conjuntivo tienen un origen común y son intercambiables en situaciones adecuadas; otros de sus miembros son los condrocitos, los osteocitos, los adipocitos y las células musculares lisas. La diferenciación del tejido conjuntivo está controlada por citocinas, sobre todo hormonas y factores de crecimiento.

Su capacidad de intercambio les permite mantener y reparar la mayoría de los tipos de tejidos. Los fibroblastos:

- Segregan las proteínas fibrosas de la MEC en la mayoría de los tejidos (excepto en el cartílago y el hueso, donde son producidas por los condrocitos y los osteocitos, respectivamente).
- Participan en la organización de la MEC, permitiendo la configuración de ésta en los tendones y otras estructuras.



## Objetivos

En este capítulo aprenderás a:

- Explicar la diferencia entre un aminoácido esencial, semiesencial y no esencial, y citar tres ejemplos de cada uno.
- Citar tres características de las cadenas laterales de los aminoácidos y comprender cómo influyen en la estructura de las proteínas.
- Definir qué se entiende por estructura primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas.
- Definir los siguientes conceptos: catalizador, enzima, sustrato, coenzima e isoenzima.
- Describir la interacción entre el sitio de acción de la enzima y su sustrato.
- Definir  $K_m$  y  $V_{máx}$ .
- Describir una curva típica de Michaelis-Menten y de Lineweaver-Burk.
- Definir los términos monosacárido, disacárido, polisacárido, homopolisacárido y heteropolisacárido, y citar ejemplos de cada uno.

## AMINOÁCIDOS

Los aminoácidos son las subunidades de las proteínas y todos poseen la misma estructura básica (fig. 5.1):

- Un átomo central de carbono (el carbono  $\alpha$ ).
- Un grupo amino ( $NH_2$ ) en el carbono  $\alpha$ .
- Un grupo carboxilo ( $COOH$ ).
- Una cadena lateral (R).

Existen 20 aminoácidos naturales que difieren en su cadena lateral, la más simple de las cuales es el hidrógeno (H) del aminoácido glicina. Existen estereoisómeros D y L para todos ellos, excepto para la glicina, ya que el carbono  $\alpha$  es asimétrico en todos, salvo en este aminoácido (fig. 5.2). En el ser humano, sólo se encuentran en forma L. Los aminoácidos forman proteínas al unirse entre sí mediante enlaces peptídicos, que se producen al enlazarse el grupo amino de un aminoácido con el grupo carboxilo del siguiente (fig. 5.3). En un polipéptido puede haber desde unos pocos a varios miles de aminoácidos, cuya secuencia viene determinada por la secuencia de bases del ADN. Por consenso, el grupo amino libre se considera el comienzo de una secuencia polipeptídica y el grupo carboxilo libre su final.

### Aminoácidos esenciales y no esenciales

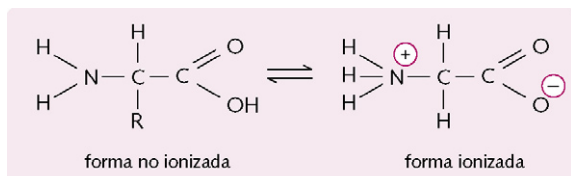
En bioquímica humana existen 8 aminoácidos esenciales, 2 semiesenciales y 10 no esenciales:

- Los aminoácidos esenciales no pueden ser sintetizados por el organismo, por lo que deben ser aportados por las proteínas de la dieta. Son el triptófano, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, valina, leucina e isoleucina.
- Los aminoácidos no esenciales se sintetizan en el organismo, por lo que no son necesarios en la dieta. Son la alanina, asparragina, aspartato, cisteína, glutamato, glutamina, glicina, prolina, serina y tirosina.
- Los aminoácidos semiesenciales no se consideran esenciales porque el ser humano puede sintetizarlos de novo. Sin embargo, la velocidad de biosíntesis no se incrementa para compensar una depleción o un aporte inadecuado en la dieta. Se convierten en esenciales en épocas de crecimiento, pues el organismo no puede producirlos en cantidades adecuadas. Son la histidina y la arginina.

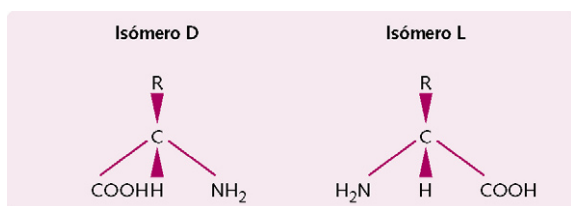
Regla mnemotécnica para recordar los aminoácidos esenciales y semiesenciales: His, Thr, Trp, Phe, Val, Ile, Leu, Met, Arg y Lys (HTTP VIL MAL).



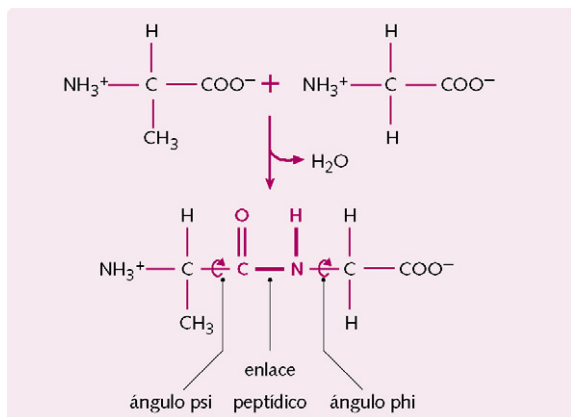




**Fig. 5.1** Estructura de un aminoácido. R es la cadena lateral. En solución a pH 7 el aminoácido se encuentra en su forma ionizada. Las cargas de los grupos carboxilo y amino desaparecen cuando se forman los enlaces peptídicos.



**Fig. 5.2** Isómeros D y L de un aminoácido. Los estereoisómeros son imágenes especulares entre sí.



**Fig. 5.3** Condensación de aminoácidos de una proteína. El enlace C-N es un enlace peptídico. Posee un doble enlace parcial, de modo que los átomos, representados en color, permanecen en el mismo plano. Los ángulos psi y phi son ángulos rotacionales sobre los enlaces indicados. (Adaptada de Stevens y Lowe, 1997.)

## Estructura de los aminoácidos

Los aminoácidos pueden clasificarse según la naturaleza de su grupo R o cadena lateral (fig. 5.4).

## Propiedades de los aminoácidos

La estructura tridimensional de una proteína y, por consiguiente, su comportamiento, están determinados por las características e interacciones de las cadenas laterales de la secuencia de aminoácidos.

## Tamaño y estructura

Las cadenas laterales más grandes y voluminosas evitan que la cadena polipeptídica se doble y las estructuras cíclicas impiden que la cadena realice los giros necesarios para la formación de hélices  $\alpha$  (este efecto se denomina impedimento estérico). Los aminoácidos pequeños o hidrófobos favorecen la estructura secundaria de la hélice  $\alpha$ .

## Formación de puentes cruzados

Las uniones entre los residuos de aminoácidos se producen a través de puentes de hidrógeno, puentes disulfuro, enlaces hidrófobos y enlaces iónicos, todos los cuales actúan estabilizando la proteína y su conformación característica:

- Los puentes de hidrógeno se producen entre grupos carbonilo (C=O) e imino (N-H).
- Los puentes disulfuro son enlaces covalentes entre grupos tiol (-SH) de cisteína.
- Los enlaces hidrófobos, no-covalentes, se forman entre dos residuos hidrófobos.
- Los enlaces electrovalentes (iónicos) se producen entre un grupo negativo de un aminoácido y un grupo positivo de otro.

## Solubilidad

En solución acuosa las proteínas coloidales, como las enzimas citoplasmáticas, son globulares, con grupos R polares que atraen agua dispuestos en el exterior, y grupos no polares situados en el interior.

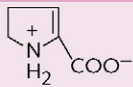
## Modificaciones covalentes

Las cadenas laterales específicas pueden modificarse mediante la adición de grupos químicos durante el procesamiento postraducciona (v. págs. 113-115). Estas modificaciones alteran la conformación de la proteína, lo que puede influir en su actividad. Por ejemplo, los residuos de tirosina son fosforilados por tirosincinasas. Esta propiedad se aprovecha en la transmisión de señales intercelulares y en la regulación de la actividad enzimática (v. cap. 4).

## Propiedades de ionización de los aminoácidos

Los aminoácidos con grupos R apolares forman anfólitos a pH neutro, ya que el grupo carboxilo dona un hidrógeno al grupo amino, generando una molécula que posee grupos cargados, tanto positivos como negativos (fig. 5.1). Esta molécula se denomina zwitterion y su carga eléctrica neta es neutra. En su calidad de anfólitos, los aminoácidos

**Fig. 5.4A** Clasificación de los aminoácidos según el tipo de cadena lateral

| Nombre                       | Símbolo | Fórmula estereoquímica                                                                                                                                  | Tipo de grupo lateral               |
|------------------------------|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Cadenas laterales alifáticas |         |                                                                                                                                                         |                                     |
| Glicina                      | Gly (G) | $\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$                                                                    | Pequeño                             |
| Alanina                      | Ala (A) | $\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$                                                                 | Hidrófobo<br>+                      |
| Valina                       | Val (V) | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \quad   \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$                     | Hidrófobo<br>++                     |
| Leucina                      | Leu (L) | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \quad   \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$         | Hidrófobo<br>++                     |
| Isoleucina                   | Ile (I) | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \quad   \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$ | Hidrófobo<br>+++                    |
| Anillos aromáticos           |         |                                                                                                                                                         |                                     |
| Fenilalanina                 | Phe (F) | $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+$                                                                         | Hidrófobo<br>++++                   |
| Tirosina                     | Tyr (Y) | $\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+$                                                               | Hidrófobo<br>(polar)                |
| Triptófano                   | Trp (W) | $\text{Indol-3-yl}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+$                                                                            | Hidrófobo                           |
| Iminoácidos                  |         |                                                                                                                                                         |                                     |
| Prolina                      | Pro (P) |                                                                      | Anillo cerrado                      |
| Grupos ácidos o amidas       |         |                                                                                                                                                         |                                     |
| Ácido aspártico              | Asp (D) | $\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+$                                                                                   | Ácido débil, pK 4<br>carga negativa |

**Fig. 5.4** Clasificación de los aminoácidos según el tipo de cadena lateral.

Fig. 5.4B Clasificación de los aminoácidos según el tipo de cadena lateral

| Nombre                         | Símbolo | Fórmula estereoquímica                                                                                                                                                                                                    | Tipo de grupo lateral               |
|--------------------------------|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Grupos ácidos o amidas (cont.) |         |                                                                                                                                                                                                                           |                                     |
| Asparagina                     | Asn (N) | $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \parallel \qquad \qquad   \\ \text{O} \qquad \qquad \text{NH}_3^+ \end{array}$                                                        | Polar                               |
| Ácido glutámico                | Glu (E) | $\begin{array}{c} -\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \qquad \qquad \qquad   \\ \qquad \qquad \qquad \text{NH}_3^+ \end{array}$                                                                 | pK 4<br>carga negativa              |
| Glutamina                      | Gln (Q) | $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \parallel \qquad \qquad \qquad   \\ \text{O} \qquad \qquad \qquad \text{NH}_3^+ \end{array}$                              | Polar                               |
| Grupos básicos                 |         |                                                                                                                                                                                                                           |                                     |
| Arginina                       | Arg (R) | $\begin{array}{c} \text{H}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \qquad \qquad \qquad   \\ \text{C}-\text{NH}_2 \qquad \qquad \text{NH}_3^+ \\ \parallel \\ \text{NH}_2^+ \end{array}$ | Base débil, pK 12<br>carga positiva |
| Lisina                         | Lys (K) | $\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \qquad \qquad \qquad   \\ \text{NH}_3^+ \qquad \qquad \text{NH}_3^+ \end{array}$                                            | pK 10<br>carga positiva             |
| Histidina                      | His (H) | $\begin{array}{c} \text{HN}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \diagup \quad \diagdown \qquad   \\ \text{NH} \quad \text{NH}^+ \qquad \text{NH}_3^+ \end{array}$                                              | pK 6<br>carga positiva              |
| Grupos hidroxílicos            |         |                                                                                                                                                                                                                           |                                     |
| Serina                         | Ser (S) | $\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \qquad   \\ \text{OH} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$                                                                                                          | Polar                               |
| Treonina                       | Thr (T) | $\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{COO}^- \\   \qquad   \\ \text{OH} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$                                                                                                | Polar                               |
| Grupos sulfuro                 |         |                                                                                                                                                                                                                           |                                     |
| Cisteína                       | Cys (C) | $\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{NH}_3^+-\text{C}-\text{CH}_2-\text{SH} \\   \\ \text{COO}^- \end{array}$                                                                                                         |                                     |
| Metionina                      | Met (M) | $\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{NH}_3^+-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{COO}^- \end{array}$                                                                                  |                                     |

Fig. 5.4 (cont.)

poseen la capacidad de actuar como donantes y como aceptores de protones:

- A pH muy bajo (ácido), tanto el grupo amino como el carboxilo se encuentran protonados y la molécula (catión) tiene una carga neta positiva.
- A pH muy elevado (alcalino), tanto el grupo amino como el carboxilo están desprotonados y la molécula (anión) tiene una carga neta negativa.
- Entre estos extremos de protonación de los grupos amino y carboxilo, la carga neta de la molécula varía con el pH.
- El pH al cual la carga neta de la molécula es neutra y, por tanto, la molécula no se desplazaría en un campo eléctrico se denomina «punto isoeléctrico».

### Ecuación de Henderson-Hasselbalch

Dependiendo del pH, tanto el grupo amino como el carboxilo de un aminoácido pueden actuar como ácidos débiles. Un ácido débil (HA) es aquel que se disocia sólo parcialmente en su anión ( $A^-$ ) y en un protón ( $H^+$ ). El valor de la constante de disociación ( $K_a$ ) de un ácido débil indica su tendencia a disociarse. Aplicando la fórmula para la constante de disociación se obtiene la ecuación de Henderson-Hasselbalch (fig. 5.5):

$$pH = pK_a + \log[A^-]/[HA]$$

Esta ecuación permite el cálculo de:

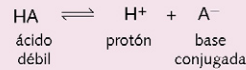
- El pH de un par conjugado ácido-base, dado el  $pK_a$  y la proporción molar del par.
- El valor del  $pK_a$  de un ácido débil dado el pH de una solución de proporción molar conocida.

Mediante la ecuación de Henderson-Hasselbach cuando  $[A^-]$  equivale a  $[HA]$ , el pH equivale al  $pK_a$ , es decir, el  $pK_a$  de un ácido débil es el pH al cual se encuentra disociado al 50%.

### Aminoácidos como tampones

Un tampón consiste en un ácido débil conjugado con su base. Los tampones forman una solución que resiste los cambios del pH cuando se añade un ácido o una base. En los aminoácidos, tanto los grupos amino como carboxilo pueden actuar como tampones. A pH 9,8 el grupo amino de la glicina actúa como tampón:

- A pH 9,8 la glicina se encuentra en equilibrio entre el anión y el zwitterion.
- Si se añaden protones, éstos son retirados de la solución a medida que se combinan con el anión para producir el zwitterion.



La constante de disociación de un ácido débil es:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = [H^+] - \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Calculando el log de cada uno de los términos de esta ecuación.

$$\log K_a = \log [H^+] + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Reordenando los términos:

$$-\log[H^+] = -\log K_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Sustituyendo pH por  $-\log [H^+]$  y  $pK_a$  por  $-\log K_a$ :

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Fig. 5.5 Obtención de la ecuación de Henderson-Hasselbalch.

- Si se añade una base, los protones se disocian del zwitterion para producir el anión y una molécula de agua.

Dado que al  $pK_a$  del grupo amino (9,8) existe la misma concentración del ácido débil (el zwitterion) y de su base conjugada (el anión), éste funciona mejor como tampón a este pH. Para el grupo carboxilo se produce una situación similar a pH 2,4, aunque en este caso el catión es un ácido débil y el zwitterion su base conjugada. Cuando se titula la glicina con una base:

- Se observan dos valores de  $pK_a$ , a pH 2,4 (grupo carboxilo) y a pH 9,8 (grupo amino).
- La adición de una base produce muy poca modificación del pH en un rango de  $\pm 1$  unidad alrededor de cada  $pK_a$ .
- La adición de base produce un gran cambio en el pH en el punto isoeléctrico.
- El punto isoeléctrico se dispone a medio camino entre  $pK_{a1}$  y  $pK_{a2}$ .

Los aminoácidos con cadenas laterales ionizables tienen un tercer  $pK_a$  que corresponde al rango del pH en el que el protón de la cadena lateral se disocia.

### Aminoácidos no proteicos

En el organismo se encuentran otros aminoácidos libres o combinados. Estos aminoácidos asociados no proteicos realizan funciones especializadas. Algunas de estas sustancias con importancia desde el punto de vista biológico son la creatina, la homocisteína, el ácido  $\gamma$ -aminobutírico y la tiroxina.

PROTEÍNAS

Funciones de las proteínas

Las proteínas desempeñan múltiples funciones en el organismo (fig. 5.6). Las isoformas de las proteínas (proteínas relacionadas codificadas por genes diferentes o sintetizadas por el empalme alternativo del ARN de transcritos codificados por el mismo gen) tienen prácticamente la misma actividad biológica, pero difieren en la secuencia de aminoácidos, por ejemplo:

- La miosina expresada en el tejido cardíaco.
- La miosina expresada en las fibras musculares de contracción rápida.

La conformación de las proteínas viene determinada por la secuencia de aminoácidos, que es esencial para su función (fig. 5.7).

Organización de las proteínas

Estructura primaria

La estructura primaria viene determinada por la secuencia lineal de aminoácidos (establecida por la secuencia de bases del ADN) unidos por enlaces peptídicos.

Estructura secundaria

La mayoría de las proteínas poseen regiones concretas de pliegue de la cadena polipeptídica (hélices  $\alpha$  y hojas plegadas  $\beta$ , v. pág. 81), debido a las interacciones de los enlaces de hidrógeno entre los enlaces peptídicos (fig. 5.8). Están favorecidas por:

- Los puentes de hidrógeno.
- La repulsión de los grupos laterales.

| Fig. 5.6 Funciones de las proteínas |                                                                                                   |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Función de la proteína              | Ejemplos                                                                                          |
| Estructural                         | Colágeno de la piel y el hueso                                                                    |
| Contracción                         | Actina y miosina del músculo                                                                      |
| Catálisis                           | Enzimas                                                                                           |
| Inmunoprotección                    | Anticuerpos                                                                                       |
| Transporte                          | Hemoglobina sanguínea, transferrina para el transporte de hierro                                  |
| Comunicación                        | Hormonas peptídicas, receptores, cinasas citoplásmicas, complejo principal de histocompatibilidad |

Fig. 5.6 Funciones de las proteínas.

Fig. 5.7 Proteínas y ligandos

| Proteína    | Ligando                                        |
|-------------|------------------------------------------------|
| Enzimas     | Sustrato                                       |
| Miosina     | Actina y otras proteínas                       |
| Anticuerpos | Antígeno                                       |
| Receptores  | Hormonas, neurotransmisores, contrarreceptores |

Fig. 5.7 Proteínas y ligandos.

- La limitada flexibilidad de la cadena polipeptídica.

Estructura terciaria

El plegamiento produce la configuración tridimensional específica de la cadena polipeptídica (fig. 5.9). Viene determinado por interacciones entre los grupos laterales de los aminoácidos, que incluyen los puentes disulfuro y las interacciones electrostáticas/hidrófobas.

Estructura cuaternaria

Dos o más cadenas polipeptídicas (subunidades) se asocian para formar dímeros, tetrámeros u oligómeros (fig. 5.10). Las subunidades se mantienen unidas mediante los mismos tipos de enlaces que estabilizan la estructura terciaria.

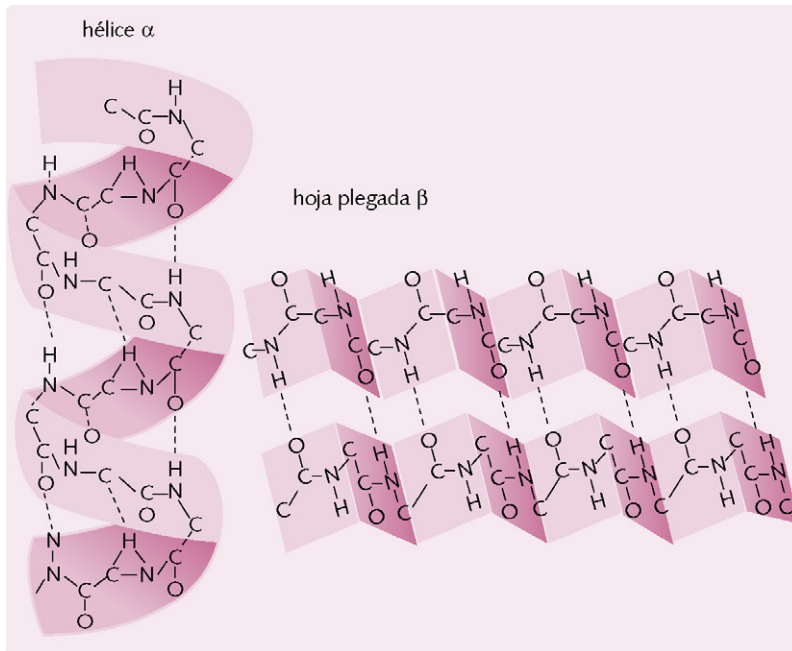
Fuerzas que conforman las proteínas

Enlace peptídico

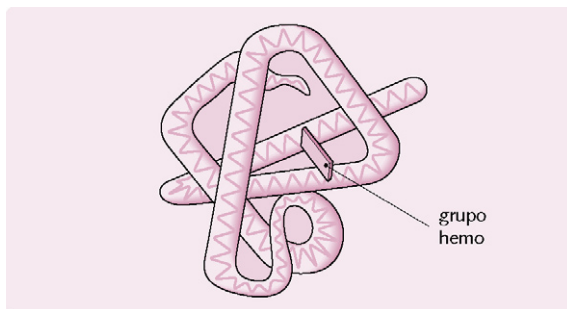
El enlace peptídico se produce por condensación de dos aminoácidos (v. fig. 5.3). Es una unión covalente fuerte, resistente al calor, a los pH extremos y a los detergentes, con una energía de enlace de 380 kJ/mol y una longitud de 0,132 nm o 1,32 Å. Al tener un doble enlace parcial, el grupo peptídico es plano. Sin embargo, alrededor de los otros enlaces se produce la rotación libre, dando lugar a diferentes ángulos phi y psi (fig. 5.3) que confieren una flexibilidad considerable a la cadena polipeptídica. A continuación se indican las consecuencias del enlace peptídico:

- La cadena polipeptídica posee una flexibilidad considerable, aunque limitada.
- La carga parcial presente en el oxígeno y el nitrógeno del enlace permite la atracción entre dos enlaces peptídicos, formando un puente de hidrógeno débil, con una energía de enlace de 5 kJ/mol.





**Fig. 5.8** Estructura secundaria de una proteína. Tanto en la hélice  $\alpha$  como en la hoja plegada  $\beta$ , algunas regiones de la estructura secundaria quedan estabilizadas por los puentes de hidrógeno (enlaces H) entre los grupos C=O y N-H de los enlaces peptídicos en la proteína.



**Fig. 5.9** Estructura terciaria de una proteína. Se ilustra aquí una cadena proteica completa (cadena  $\beta$  de la hemoglobina).

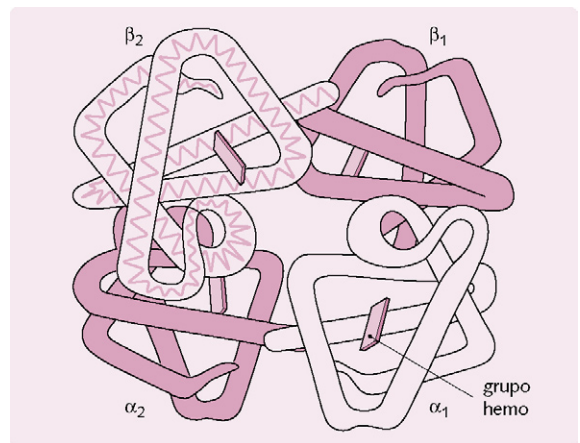
Muchas proteínas con actividad biológica se pliegan espontáneamente en una conformación que está estabilizada por una serie de enlaces intramoleculares.

### Puentes de hidrógeno

Los puentes de hidrógeno se producen entre átomos del enlace peptídico y grupos polares laterales, en los que un átomo de hidrógeno es compartido por dos átomos electronegativos, y son importantes para la formación de las estructuras secundaria y terciaria. Tienen una energía de enlace de 20 kJ/mol y una longitud de 0,3 nm (fig. 5.11).

### Interacciones hidrófobas

Los residuos hidrófobos (p. ej., valina, alanina, leucina y fenilalanina) forman interacciones, más que verdaderos enlaces, allí donde se agrupan estrechamente. La energía del enlace proviene del desplazamiento del agua.



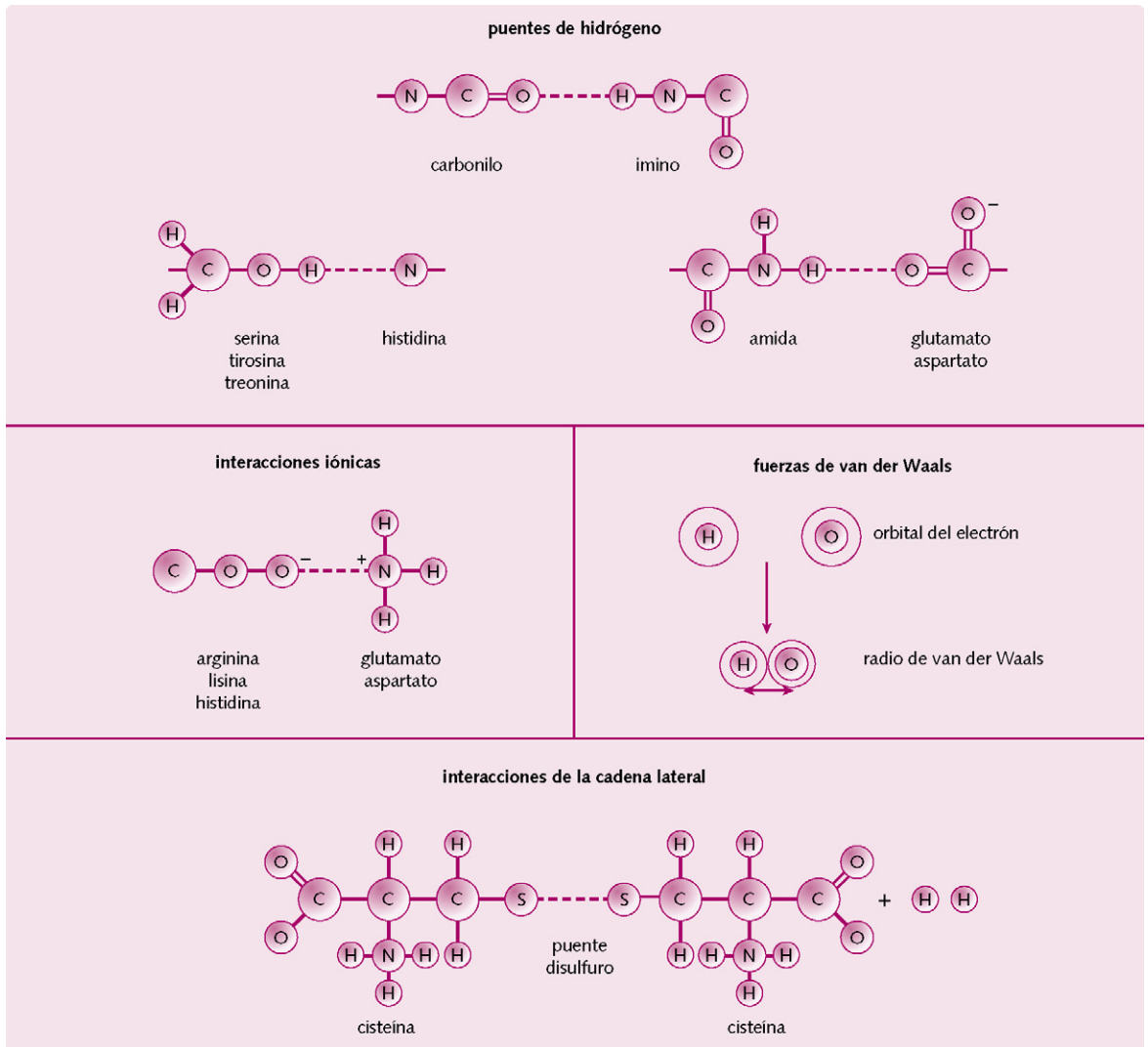
**Fig. 5.10** Estructura cuaternaria de una proteína. Cuatro cadenas independientes de hemoglobina se ensamblan en una proteína oligomérica.

### Enlaces iónicos

Los enlaces iónicos se forman por fuertes atracciones entre átomos positivos y negativos. Estas uniones se observan en las estructuras terciarias y tienen una energía de enlace de 335 kJ/mol y una longitud de 0,25 nm (v. fig. 5.11).

### Fuerzas de van der Waals

Las fuerzas de van der Waals (dipolos inducidos por dipolos) son fuerzas de atracción débiles entre dos átomos, cuando los orbitales de sus electrones se aproximan entre sí (v. fig. 5.11). La energía de enlace es muy débil, de 0,8 kJ/mol, y la longitud es



**Fig. 5.11** Fuerzas que configuran las proteínas. Las proteínas se estabilizan mediante enlaces químicos que pueden depender de las interacciones entre los grupos amino y carboxilo de la cadena polipeptídica (p. ej., algunos puentes de hidrógeno) o de las interacciones específicas de las cadenas laterales (p. ej., puentes disulfuro).

de 0,35 nm. En conjunto, estos enlaces se «suman» a la importante energía contenida en la estructura terciaria de los grandes polipéptidos.

### Interacciones de las cadenas laterales

Las interacciones entre las cadenas laterales forman enlaces, de los que los principales son los producidos entre los grupos tiol de dos residuos de cisteína, que forman un enlace covalente de 210 kJ/mol denominado puente disulfuro (v. fig. 5.11). Los puentes disulfuro son relevantes en las estructuras terciarias y en la estructura secundaria de la elastina. Esta reacción no es favorable en el interior de la célula, por lo que los puentes disulfuro se encuentran habitualmente en las proteínas exportadas, como por ejemplo:

- La enzima digestiva ribonucleasa tiene cuatro puentes disulfuro.
- La hormona peptídica insulina posee tres puentes disulfuro.

### Plegamiento de las proteínas

La «forma plegada» correcta de una proteína viene determinada por la secuencia de aminoácidos. Los grupos muy alejados entre sí en la estructura primaria pueden quedar muy próximos en la estructura tridimensional definitiva. Las proteínas grandes poseen diversos dominios, unidos por regiones flexibles del polipéptido. Los dominios poseen una estructura terciaria específica asociada con una función concreta que puede conservarse en las

distintas proteínas. Por ejemplo, todas las enzimas deshidrogenasas dependientes del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) comparten un dominio conservado de unión al NAD.

La estructura y plegamiento de las proteínas suelen aparecer en las preguntas largas de los exámenes.



## Estructura interna de las proteínas

### Hélice $\alpha$

La hélice  $\alpha$  es una espiral dextrógira (forma D) que posee un esqueleto de enlaces peptídicos desde el que las cadenas laterales salen de forma radial. Los aminoácidos hidrófobos o de pequeño tamaño favorecen la formación de la hélice  $\alpha$ , de modo que la glicina o la prolina se encuentran habitualmente en las acodaduras de la hélice  $\alpha$ . La estructura se estabiliza mediante puentes de hidrógeno entre cada primer y cuarto aminoácido, siendo cada puente de hidrógeno relativamente débil, pero su disposición en paralelo e «intracatenaria» supone un gran refuerzo. La hélice posee:

- Un avance por aminoácido de 0,15 nm.
- Un avance por vuelta de 0,54 nm.
- 3,6 residuos por cada vuelta.

La estructura es un cilindro rígido a modo de bastón muy estable, con los grupos laterales dirigidos hacia el exterior y por tanto libres para interactuar con otras hélices  $\alpha$  (v. fig. 5.8). Las hélices  $\alpha$  constituyen el 90-100% de las proteínas fibrosas y el 10-60% de las proteínas globulares. Por ejemplo:

- La  $\alpha$ -queratina (proteína fibrosa que se encuentra en la piel) consta de largas espirales en forma de bastón, formadas por dos hélices  $\alpha$  idénticas enrolladas entre sí.
- La mioglobina (proteína globular que fija el oxígeno en el músculo) posee 8 segmentos helicoidales  $\alpha$  y está constituida en un 75% por hélice  $\alpha$ .

### Hoja plegada $\beta$

Las hojas plegadas  $\beta$  son cadenas extendidas formadas por dos o más polipéptidos plegados, unidos por puentes de hidrógeno. En una hoja paralela, los aminoácidos terminales están situados en el mismo extremo, mientras que en la hoja antiparalela, más frecuente, los aminoácidos terminales se encuentran en extremos opuestos, formando así una estructura

más estable (v. fig. 5.8). La hoja es una «plataforma» rígida, no elástica, que se encuentra habitualmente en las proteínas fibrosas, por ejemplo:

- Las  $\beta$ -queratinas de las garras, escamas, plumas y picos de los animales están formadas por cadenas antiparalelas.
- La seda está formada por hojas  $\beta$  regulares.

Las enfermedades producidas por priones (encefalopatías espongiformes transmisibles) pueden ser hereditarias, aparecer de forma esporádica o tener una causa infecciosa. Se ha propuesto que el prión causante de la enfermedad interacciona con la variante celular normal de la misma proteína, lo que produce un cambio en su conformación. Mientras que la proteína priónica celular (PrP<sup>C</sup>) normalmente es rica en hélices  $\alpha$  en su estructura secundaria, la versión patógena (PrP<sup>Sc</sup>) tiene un predominio de hojas  $\beta$  en su estructura secundaria. A continuación la PrP<sup>Sc</sup> convierte a la PrP<sup>C</sup> en más de sí misma, y ese elevado contenido en hojas  $\beta$  se correlaciona con la infectividad y la resistencia a la digestión enzimática, lo que da lugar a la pérdida neuronal, cambios espongiformes y astrogliosis.



### Dedos de zinc

Los dedos de zinc son formaciones frecuentes de las proteínas de unión al ADN, como el caso de los factores de transcripción. Una «formación en dedo de zinc» es una proyección plegada de aminoácidos que rodean a un átomo central de zinc (fig. 5.12). Estas proteínas reconocen y se unen a secuencias reguladoras específicas de ADN, por lo que influyen en la transcripción.

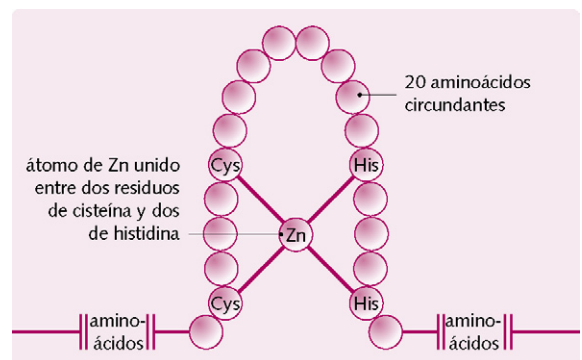


Fig. 5.12 Dominio en dedos de zinc. Los enlaces entre los cuatro aminoácidos y el zinc estabilizan un bucle del polipéptido dentro de una estructura similar a un dedo.

## Hélice de colágeno

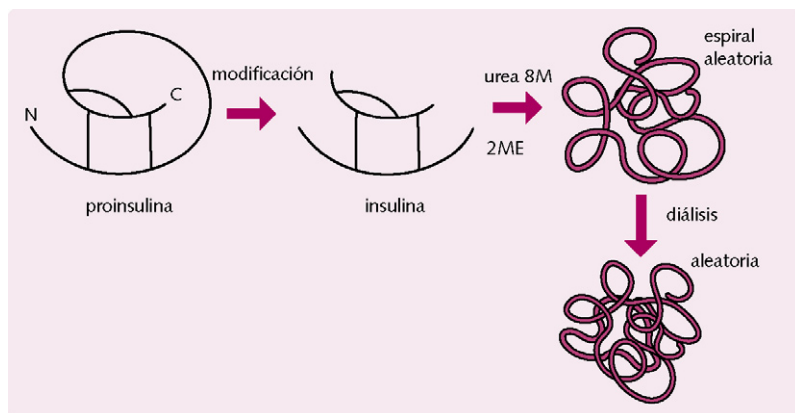
El colágeno es una proteína fibrosa que es uno de los componentes principales del tejido conjuntivo. Está compuesto por tres cadenas polipeptídicas mutuamente enrolladas y unidas entre sí por puentes de hidrógeno (v. pág. 79).

El tropocolágeno está formado por tres hélices levógiras enrolladas de forma conjunta en una hélice dextrógira. Es capaz de adoptar esta forma única porque la cadena lateral de uno de cada tres aminoácidos está muy cerca del eje central de la triple hélice. La glicina, al tener la cadena lateral más pequeña de todos los aminoácidos, cumple este requisito, y su sustitución por aminoácidos más voluminosos altera la arquitectura y la calidad del colágeno, y se ha implicado en la osteogénesis imperfecta.

## Estabilidad de las proteínas

La desnaturalización es la pérdida de la estructura tridimensional de una proteína, debida a la rotura de enlaces estructurales. Se suele asociar con la pérdida de su actividad biológica (fig. 5.13). Cualquier tratamiento que rompa los enlaces químicos (p. ej., calor, pH extremos, detergentes, oxidación y factores físicos como la agitación) puede provocar desnaturalización. Por tanto, la mayoría de las proteínas sólo funcionan dentro de estrechos límites ambientales. Si las condiciones de desnaturalización no son extremas (p. ej., eliminación del tratamiento) la mayoría de las proteínas pueden volver a su estado activo cuando se retorna a la situación óptima; un ejemplo de esto es la lisozima. A diferencia de la insulina (fig. 5.13), toda la información necesaria para el plegado de la lisozima (estructura terciaria) está pre-

**Fig. 5.13** Después de la desnaturalización y renaturalización de la insulina, sólo se recupera una espiral aleatoria, sin actividad funcional. La insulina deriva de la proinsulina. La información necesaria para la estructura terciaria debe mantenerla el péptido C.



sente en su estructura primaria: por tanto, después de la desnaturalización y renaturalización, se puede recuperar una lisozima totalmente funcional.

## Estructuras complejas

Los polipéptidos individuales pueden no ser biológicamente activos por sí mismos, pero pueden servir como subunidades en la formación de complejos activos de mayor tamaño. Además, algunas proteínas dependen de su interacción con otros cofactores no proteicos, como los grupos prostéticos y las coenzimas.

La hemoglobina A es un tetrámero compuesto por dos subunidades  $\alpha$  y dos subunidades  $\beta$ , cada una de ellas asociada con un grupo prostético hemo. Cada grupo hemo contiene un átomo de hierro, responsable de la unión al oxígeno. La hemoglobina se une al oxígeno cuando la  $pO_2$  es alta y lo libera cuando es baja. Las mutaciones de los genes de la hemoglobina alteran la capacidad de transportar y liberar el oxígeno a los tejidos. Las hemoglobinopatías más frecuentes son la drepanocitosis y la  $\beta$ -talasemia.

## ENZIMAS Y ENERGÍA BIOLÓGICA

### Propiedades de las enzimas

Las enzimas son catalizadores biológicos. Sin ellas, las reacciones metabólicas se desarrollarían demasiado despacio para la vida. Las enzimas poseen las siguientes propiedades:

- Se unen a ligandos específicos (sustratos) mediante sitios activos y catalizan su transformación en productos.

- Modifican enormemente la velocidad de reacción.
- Permanecen en el mismo estado químico al final de la reacción, por lo que pueden reutilizarse.
- Catalizan la reacción en ambos sentidos.
- Presentan una gran especificidad. Algunas enzimas pueden reconocer únicamente un estereoisómero.

Regla mnemotécnica para recordar los 6 grupos de enzimas (oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, isomerasas, ligasas, liasas): «Over The HILL». Las enzimas llevan a los sustratos a superar la «colina» de la energía de activación.

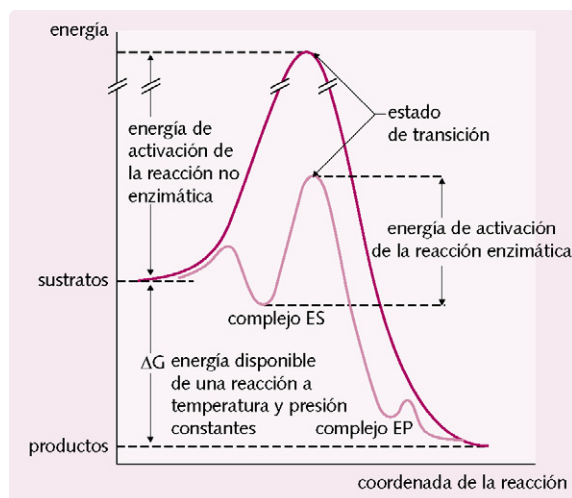


Fig. 5.14 Perfil de reacción de reacciones catalizadas y no catalizadas. La energía de activación es menor para la reacción catalizada. Complejo EP, complejo enzima-producto; complejo ES, complejo enzima-sustrato. (Adaptada de Baynes y Dominiczak, 1999.)

Habitualmente, el nombre de una enzima es el nombre del sustrato añadiendo el sufijo asa; el sustrato es la sustancia sobre la que actúa la enzima. Las isoenzimas catalizan la misma reacción, pero tienen diferentes estructuras primarias y pueden trabajar bajo diferentes condiciones óptimas, por ejemplo:

- La lactato deshidrogenasa posee isoformas cardíacas y musculares.
- La creatincinasa posee las isoformas cerebral y muscular.

## Mecanismo de acción de las enzimas

### Catalizadores y energía biológica

En cualquier reacción química, cuando un reactante se convierte en producto se generan compuestos intermedios muy inestables, a medida que los enlaces químicos se rompen y modifican. Estos compuestos intermedios poseen más energía libre que el sustrato y por tanto no están favorecidos desde el punto de vista energético (fig. 5.14).

- La diferencia de energía libre entre el reactante y los compuestos intermedios inestables es la energía de activación.
- Los reactantes deben tener un nivel de energía de activación superior al necesario.

El nivel de energía de los reactantes de una población sigue una distribución normal. Si la energía de activación es elevada, sólo unas pocas moléculas ten-

drán la suficiente energía como para reaccionar en un momento determinado y la reacción será lenta.

Un catalizador acelera la reacción química, pero no se modifica por la misma. Los catalizadores se unen a las moléculas de transición y las estabilizan, de modo que disminuyen la energía de activación de la reacción. Por tanto, en una reacción catalizada, más moléculas alcanzarán la energía de activación necesaria y la velocidad de la reacción se incrementará. Sin embargo, dado que aceleran la reacción en ambas direcciones, el punto de equilibrio no se modifica. Una reacción catalizada tiene las siguientes características en relación con una reacción no catalizada:

- Aumenta la velocidad de reacción.
- El incremento de energía libre total entre los sustratos y los productos es el mismo.
- No se modifica el punto de equilibrio.

El incremento de la temperatura de los sustratos aumenta el nivel energético medio. Para una reacción catalizada por un catalizador inorgánico, el incremento de la velocidad es directamente proporcional a la temperatura. Sin embargo, las reacciones catalizadas por enzimas muestran su máxima actividad a 37 °C, pero una velocidad de reacción más reducida a temperaturas más elevadas. Esto se debe a que la actividad enzimática depende del sitio activo, y fuera de los parámetros fisiológicos se rompen los enlaces que mantienen su estructura.

### Sitios activos

El sitio activo es la región a la que se unen las moléculas del sustrato. La especificidad enzimática se debe a



que la forma del sitio activo es tal que sólo se pueden unir los sustratos que poseen una estructura complementaria. Esto se ha equiparado al ajuste de una llave con su cerradura. Sin embargo, en lugar de considerar el sitio activo como una estructura rígida, el modelo de «encaje inducido» (fig. 5.15) propone que:

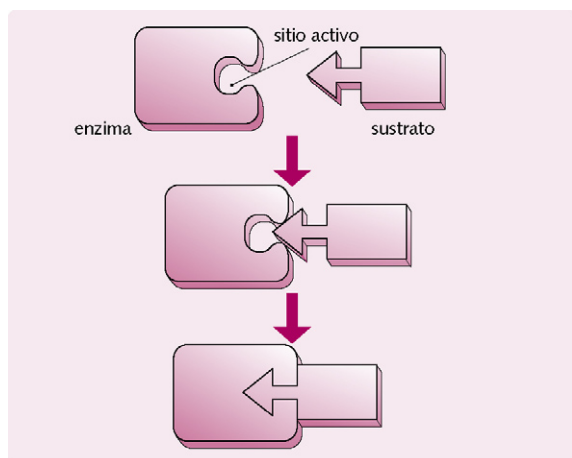
- El sustrato se une al dominio de unión al sustrato, lo que induce un cambio en la conformación del sitio activo.
- El cambio de la conformación del sitio activo pone al descubierto los grupos funcionales.
- A medida que se disocia el producto, la enzima regresa a su conformación original y por tanto puede unir más sustrato.



Los componentes no polipeptídicos de las proteínas se denominan grupos prostéticos, como el grupo hemo de la hemoglobina. Suelen formar una parte integrante del sitio activo. Las coenzimas son moléculas orgánicas que se deben asociar con una enzima concreta para que ésta funcione. Se unen a la enzima, sufren una modificación química y al final se liberan cuando la reacción se completa. La alcohol deshidrogenasa requiere la presencia de la coenzima NAD.

## Regulación de la actividad enzimática

La regulación coordinada de la actividad enzimática permite al organismo adaptarse a los cambios



**Fig. 5.15** La hipótesis del «ajuste inducido» explica cómo la unión del sustrato a la enzima modifica la conformación del sitio activo.

ambientales. En las rutas metabólicas de múltiples pasos, la enzima más lenta determina la velocidad a la cual se genera el producto final. La actividad de estas enzimas limitantes está regulada de forma que el metabolismo está coordinado y la energía no se desperdicia. Están implicados cinco mecanismos:

1. La transcripción del gen que codifica la enzima puede estar regulada (v. pág. 109).
2. Las enzimas pueden activarse o inactivarse irreversiblemente mediante proteólisis.
3. Las enzimas pueden activarse o inactivarse de modo reversible mediante modificaciones covalentes, como la fosforilación.
4. Las enzimas pueden estar sujetas a cambios alostéricos. Esto se produce cuando la unión de una pequeña molécula a un sitio alejado del sitio activo altera la conformación de la enzima y por tanto su actividad.
5. La velocidad de degradación de una enzima puede estar regulada.

## Cinética enzimática

La cinética enzimática es el estudio de la tasa de recambio de los reactantes y los productos. Los análisis enzimáticos utilizan biosensores, electrodos de oxígeno, sustancias cromógenas y otros métodos para medir el desarrollo de las reacciones.

### Velocidad de reacción

La velocidad inicial de la reacción puede estimarse representando en un gráfico la cantidad de producto formado por unidad de tiempo (fig. 5.16A). La velocidad inicial ( $V$ ) es igual a la velocidad de reacción. Ésta varía según la concentración del sustrato y de la enzima. Al aumentar la concentración de la enzima, aumenta linealmente la reacción, siguiendo así una cinética de primer orden (fig. 5.16B).

Si se aumenta la concentración del sustrato, se incrementa la velocidad de la reacción de forma asintótica, no lineal; cuando la enzima se satura, la velocidad de reacción alcanza el límite: ésta es una curva de Michaelis-Menten (fig. 5.17). Para enzimas simples, la curva es una hipérbola rectangular. A concentraciones bajas de sustrato, la gráfica es lineal (la tasa es proporcional a la concentración de sustrato), siguiendo una cinética de primer orden. A concentraciones elevadas de sustrato se alcanza la meseta, siguiendo una cinética de orden cero. La ecuación de Michaelis-Menten relaciona la velocidad de reacción con la concentración de sustrato:



$K_1$ ,  $K_2$ , etc., son constantes de velocidad individuales.  $K_4$  es insignificante, por lo que puede ignorarse.

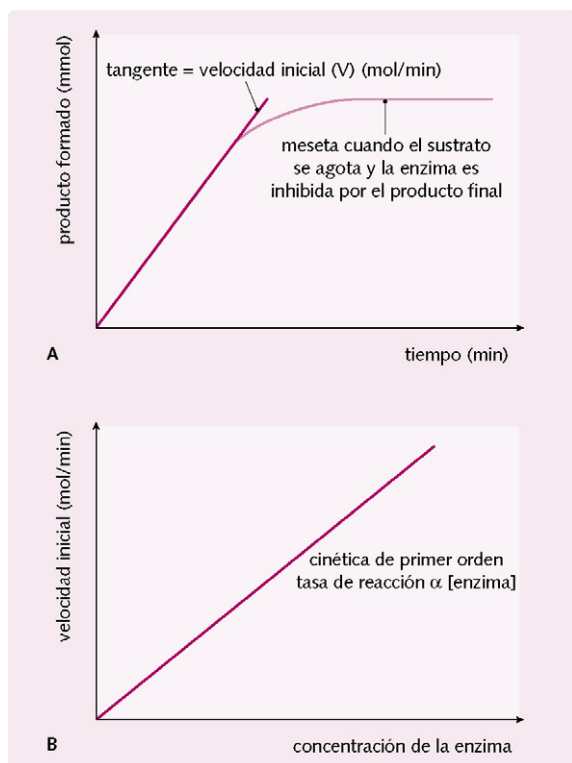


Fig. 5.16 A) Cálculo de la velocidad inicial. B) Efecto de la concentración de la enzima sobre la tasa de la reacción.

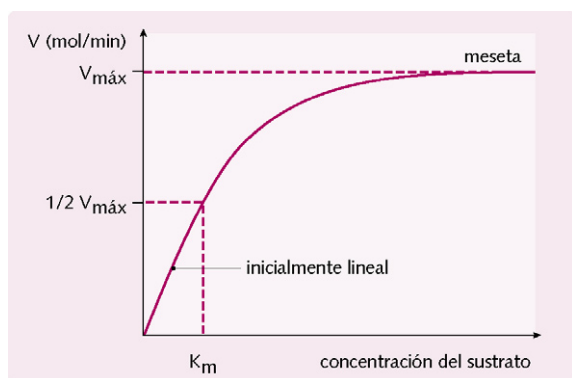


Fig. 5.17 Gráfica de Michaelis-Menten que muestra el efecto de aumentar la concentración de sustrato frente a la tasa de reacción.  $K_m$ , constante de Michaelis; V, velocidad inicial;  $V_{máx}$ , velocidad máxima.

La constante de Michaelis ( $K_m$ ) representa la tasa de disociación del complejo enzima-sustrato:

$$K_m = \frac{K_2 + K_3}{K_1}$$

La velocidad máxima ( $V_{máx}$ ) se alcanza en condiciones de saturación, cuando la concentración del sustrato es elevada:

$$V_{máx} = K_3[ES]$$

donde  $K_3$  es la velocidad de formación de enzima y sustrato, y  $[ES]$  es la concentración del complejo enzima-sustrato.

Por tanto, la velocidad (V) de una reacción de Michaelis-Menten es:

$$V = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]}$$

- $V_{máx}$  y  $K_m$  son constantes diferentes para cada enzima.
- Para la mayoría de las enzimas,  $K_m$  es la concentración de sustrato a la cual la velocidad de la reacción es la mitad de  $V_{máx}$ .
- $K_m$  es una medida de la afinidad de la enzima por su sustrato, correspondiendo una  $K_m$  baja (disociación del complejo enzima-sustrato baja) a una elevada afinidad (fuerte unión) y viceversa.
- $V_{máx}$  y  $K_m$  son difíciles de estimar a partir de una gráfica de Michaelis-Menten, por lo que se utiliza una representación gráfica alternativa, la gráfica de Lineweaver-Burk (fig. 5.18).

## Inhibidores

Los inhibidores enzimáticos son sustancias que disminuyen la actividad de la enzima. Entre los falsos inhibidores están los tratamientos de desnaturalización y los inhibidores irreversibles (p. ej., los compuestos organofosforados). Los inhibidores verdaderos se clasifican en:

- Competitivos.
- No competitivos.
- Alostéricos.

Los inhibidores competitivos se parecen al sustrato y compiten por el sitio activo (fig. 5.19A). Aumentan la  $K_m$ , por lo que la afinidad de la enzima disminuye; por ejemplo, la azidotimidina (AZT) empleada para tratar a los pacientes con infección por VIH se parece a la desoxitimidina, y por tanto es un inhibidor competitivo de la transcriptasa inversa del VIH.

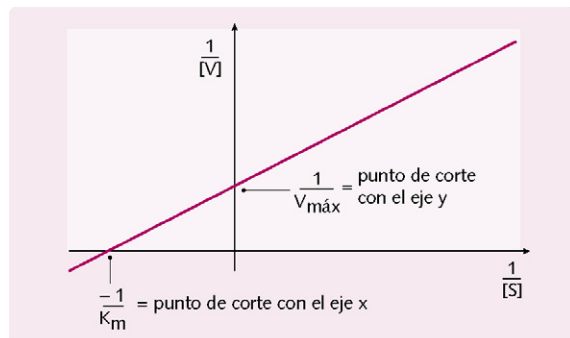


Fig. 5.18 Gráfica de Lineweaver-Burk.  $K_m$ , constante de Michaelis; S, sustrato; V, velocidad inicial;  $V_{máx}$ , velocidad máxima.

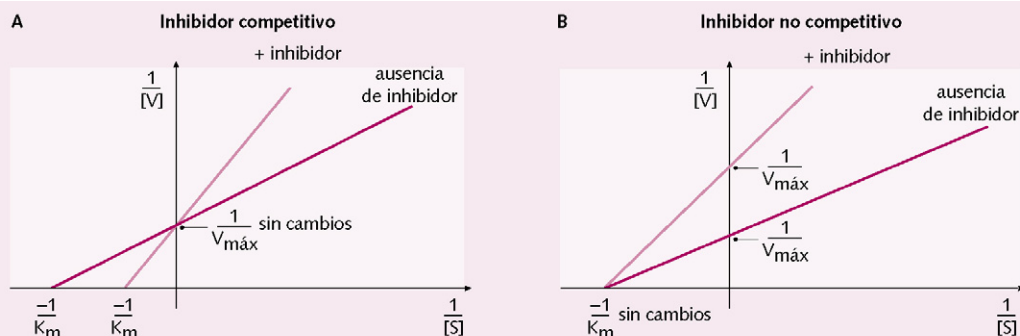


Fig. 5.19 A) Inhibición competitiva de la enzima. El inhibidor aumenta  $K_m$ ,  $V_{m\acute{a}x}$  permanece sin cambios. B) Inhibición no competitiva de la enzima. El inhibidor disminuye  $V_{m\acute{a}x}$ ,  $K_m$  permanece sin cambios.  $K_m$ , constante de Michaelis; S, sustrato; V, velocidad inicial;  $V_{m\acute{a}x}$ , velocidad máxima.

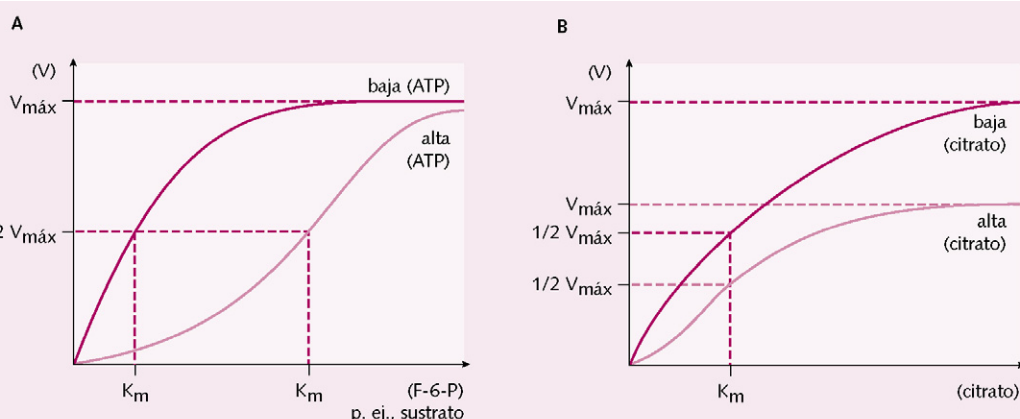


Fig. 5.20 Inhibición alostérica de fosfofructocinasa 1. A) El ATP incrementa  $K_m$  (disminuye la afinidad), pero no altera  $V_{m\acute{a}x}$ . B) El citrato disminuye  $V_{m\acute{a}x}$  pero no altera  $K_m$ .  $K_m$ , constante de Michaelis; S, sustrato; V, velocidad inicial;  $V_{m\acute{a}x}$ , velocidad máxima.

Los inhibidores no competitivos (p. ej., los metales pesados, como el plomo) no se parecen al sustrato, y por tanto no compiten por el sitio de unión. Se unen a la enzima y pueden inhibir su actividad catalítica, aunque el sustrato todavía pueda unirse (fig. 5.19B). La  $V_{m\acute{a}x}$  está disminuida, puesto que hay menor cantidad de enzima activa desde el punto de vista catalítico, pero la  $K_m$  no se modifica, ya que no se altera la afinidad de la enzima.

Los inhibidores alostéricos no se unen al sitio activo, sino a diferentes sitios alostéricos en cualquier otra región de la enzima. Su unión provoca un cambio de conformación que puede alterar la  $V_{m\acute{a}x}$  y/o la  $K_m$ ; por ejemplo, la fosfofructocinasa I (PFK I) se inhibe alostéricamente por concentraciones elevadas de ATP y por el citrato (fig. 5.20).

geno, hidrógeno y carbono. Su fórmula general es  $C_n(H_2O)_n$ . Desempeñan varias funciones biológicas relevantes, como:

- Metabolismo para producir energía (ATP) mediante glucólisis.
- Almacenamiento en forma de glucógeno.
- Conversión a ácidos grasos y triacilglicerol para el almacenamiento a largo plazo.
- Síntesis de otros componentes celulares, como la membrana celular.

## Monosacáridos

Los monosacáridos son las subunidades de los hidratos de carbono. Pueden distinguirse entre sí según cuatro criterios:

1. Naturaleza química del grupo carbonilo (aldehído para formar una aldosa o cetona para formar una cetosa).
2. Número de átomos de carbono.

## HIDRATOS DE CARBONO

Los hidratos de carbono o carbohidratos son compuestos químicos que contienen átomos de oxí-

3. Esteroquímica.
4. Naturaleza lineal o cíclica.

Los monosacáridos son polares debido a su elevada proporción de grupos hidroxilo, por lo que son muy hidrosolubles. A excepción de la dihidroxiacetona, todos los hidratos de carbono contienen al menos un carbono asimétrico (quiral) y por tanto existen estereoisómeros D y L. A diferencia de los aminoácidos, en el ser humano la mayoría de los hidratos de carbono existen en su forma D. Una excepción notable es el ácido L-ascórbico.

### Estructuras cíclicas

Los monosacáridos con 5-6 átomos de carbono pueden formar estructuras cíclicas. En solución, coexisten las formas cíclica y de cadena recta, con un predominio de la primera (fig. 5.21). El grupo aldehído o cetona de la cadena recta puede reaccionar con un grupo hidroxilo de un átomo de carbono diferente para formar un anillo heterocíclico. Los anillos con cinco átomos de carbono se denominan anillos «furanosa» y los que tienen seis, anillos «piranosa». Cada estructura anular tiene un átomo de carbono ópticamente activo más que la forma de cadena recta, por lo que tiene un enantiómero  $\alpha$  y otro  $\beta$ , que se interconvierten en equilibrio (fig. 5.21).

### Disacáridos y oligosacáridos

Los disacáridos se forman por la unión de dos monosacáridos con eliminación de agua. Esta reacción de condensación forma un enlace glucosídico entre ambas subunidades (fig. 5.22) que existe en dos formas, la forma  $\alpha$  y la forma  $\beta$ ; los enlaces  $\alpha$  glucosídicos implican al C1 del anómero  $\alpha$ , mientras que los enlaces  $\beta$  glucosídicos implican al C1 del anómero  $\beta$ . En la figura 5.22 se muestran ejemplos de disacáridos relevantes.

La lactosa es un disacárido que se escinde por la lactasa, una enzima segregada a la luz del intestino delgado. La mayoría de los mamíferos interrumpen la producción de lactasa después de la lactancia; sin embargo, una gran proporción de la población humana tiene una mutación autosómica dominante que permite continuarla. Quienes carecen de ella se clasifican como intolerantes a la lactosa y, como ésta permanece en el intestino delgado, sufre degradación y fermentación por las bacterias, lo que causa dolor y distensión abdominales, así como diarrea crónica.

Los oligosacáridos son cadenas cortas de monosacáridos condensados, por lo general con una longitud de 3-7 unidades. Desempeñan una serie de funciones biológicas relevantes, a menudo unidos de forma covalente a proteínas o a lípidos de membrana.

### Polisacáridos

Los polisacáridos son polímeros de muchas unidades de monosacáridos (hasta 2.500), que se unen para formar un polímero con la fórmula general  $C_n(H_2O)_{n-1}$ . Se pueden clasificar en función de:

- Si son lineales o ramificados.
- La naturaleza del enlace glucosídico.
- Homopolisacáridos (unidades repetidas del mismo monosacárido) o heteropolisacáridos (unidades repetidas de distintos monosacáridos).

El principal polisacárido de almacenamiento en los animales es el glucógeno, un homopolisacárido muy ramificado de unidades repetidas de glucosa. La mayoría de las subunidades están unidas por enlaces glucosídicos  $\alpha$ -1-4. Sin embar-

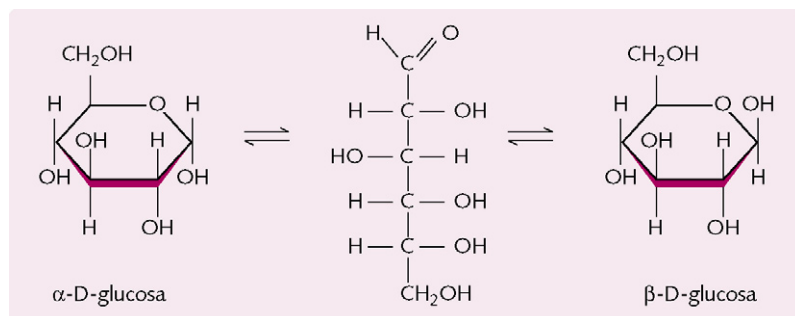


Fig. 5.21 Relación entre los monosacáridos de cadena recta y cíclica.

Fig. 5.22 Disacáridos frecuentes

| Disacárido | Monómeros           | Enlace   | Estructura                                    |
|------------|---------------------|----------|-----------------------------------------------|
| sacarosa   | glucosa + fructosa  | alfa 1-2 | <p>glucosa                      fructosa</p>  |
| lactosa    | galactosa + glucosa | beta 1-4 | <p>galactosa                      glucosa</p> |
| maltosa    | glucosa + glucosa   | alfa 1-4 | <p>glucosa                      glucosa</p>   |
| isomaltosa | glucosa + glucosa   | alfa 1-6 | <p>glucosa                      glucosa</p>   |
| celobiosa  | glucosa + glucosa   | beta 1-4 | <p>glucosa                      glucosa</p>   |

Fig. 5.22 Disacáridos frecuentes.



go, aproximadamente cada 10 residuos hay un punto de ramificación, que se une a la molécula principal por un enlace  $\alpha$ -1-6 glucosídico. La celulosa (principal material estructural de las plantas) también es un polisacárido de unidades repetidas de glucosa, pero está unido por enlaces  $\beta$ -1-4 glucosídicos. El ser humano carece de una celulasas capaz de digerir estos enlaces.

Los heteropolisacáridos más abundantes del cuerpo son los glucosaminoglucanos. Son moléculas largas no ramificadas consistentes en la repetición de una unidad disacárida formada por un aminoazúcar (una N-acetil-hexosamina) y un azúcar o un ácido de azúcar (una hexosa o un ácido hexurónico) (fig. 5.23).

Todas las células capaces de almacenar glucosa lo hacen en forma polimérica, como el glucógeno. Dado que el glucógeno es muy poco soluble en la célula, no contribuye a la presión osmótica celular, de modo que es poco probable que provoque lesión celular. Si una célula tuviese que almacenar glucosa libre, la presión osmótica asociada provocaría la acumulación de agua en la célula y su lisis.

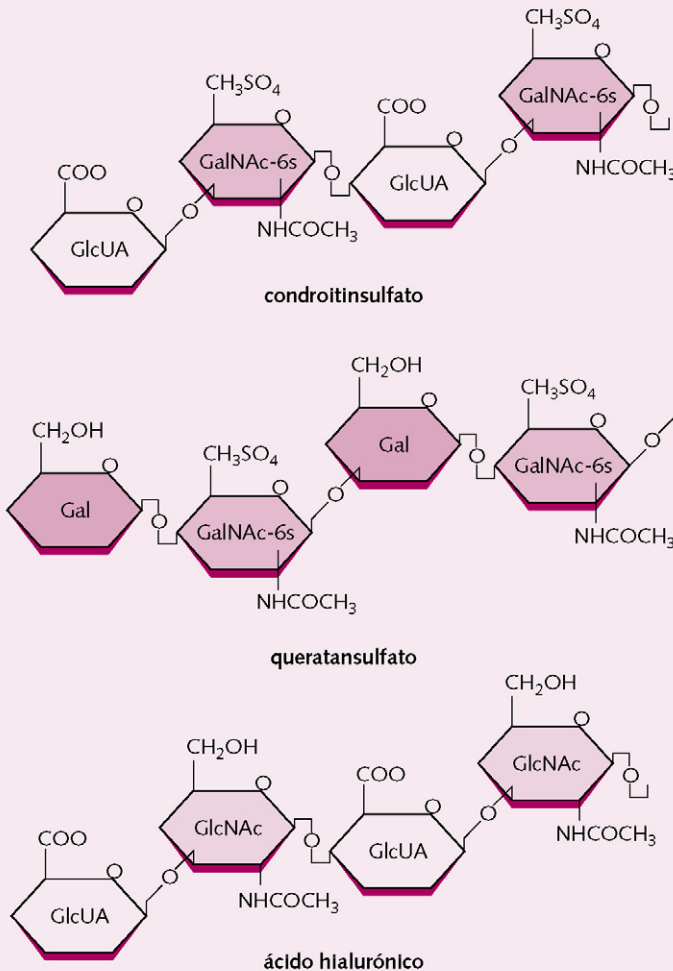


Fig. 5.23 Estructuras de unidades de glucosaminoglucanos frecuentes.

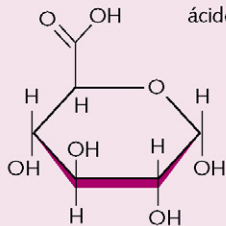
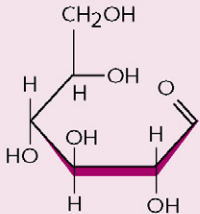
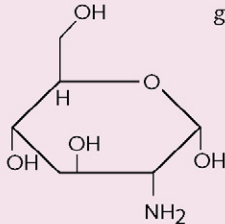
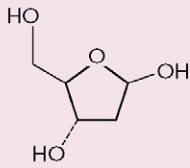
La heparina es un glucosaminoglucano. La liberación de heparina de los gránulos de los mastocitos en respuesta a la lesión provoca su entrada en el plasma sanguíneo y la inhibición de la coagulación de la sangre. La heparina actúa mediante su unión con la antitrombina III, exponiendo su sitio activo y permitiéndola que inactive proteasas clave implicadas en la coagulación sanguínea. Esta propiedad se ha manipulado para fines terapéuticos, de modo que la heparina producida a nivel comercial se utiliza como sustancia antitrombótica para usarla en varios trastornos de la coagulación venosa y arterial.

## Derivados de los azúcares

Existen varios derivados de los azúcares (fig. 5.24), como:

- Ácidos de azúcar. El grupo aldehído C1 o el hidroxilo del carbono terminal se oxida para formar un ácido carboxílico, como el ácido ascórbico o el glucurónico.
- Alcoholes de azúcar. Se forman por la reducción del grupo carbonilo de un azúcar a un grupo hidroxilo. Son ejemplos el sorbitol, el manitol y el ribitol.
- Aminoazúcares. Un grupo hidroxilo se sustituye por un grupo amino. Pueden citarse la glucosamina y la galactosamina.
- Nucleósidos. Son aminoazúcares especializados, en los que el residuo amino es una pirimidina o una purina, por ejemplo la adenosina, la desoxiadenosina, la timidina y la desoxitimidina.
- Desoxiazúcares. Un grupo hidroxilo se sustituye por hidrógeno, como en la desoxirribosa y la fucosa.

**Fig. 5.24** Derivados de azúcares

| Clase               | Ejemplo                                                                                                     |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ácidos de azúcar    |  <p>ácido glucurónico</p> |
| alcoholes de azúcar |  <p>sorbitol</p>          |
| aminoazúcares       |  <p>glucosamina</p>       |
| nucleósidos         |  <p>adenosina</p>        |
| desoxiazúcares      |  <p>desoxirribosa</p>   |

**Fig. 5.24** Derivados de azúcares.

# Fundamentos de biología molecular y genética



## Objetivos

En este capítulo aprenderás a:

- Describir a grandes rasgos la biosíntesis de las purinas y pirimidinas, e identificar los pasos limitantes de la velocidad en cada caso.
- Comparar y contrastar las estructuras y funciones de las distintas moléculas de ARN.
- Dibujar un diagrama para mostrar las fases del ciclo celular y explicar el papel de las ciclinas en la regulación del mismo.
- Describir los distintos niveles de empaquetamiento del ADN, desde la molécula de ADN al cromosoma.
- Dibujar un diagrama de la horquilla de replicación eucariota detallando sus partes y ser capaz de compararlo y contrastarlo con la horquilla de replicación procariota.
- Comprender el proceso de transcripción eucariota y ser capaz de compararlo y contrastarlo con la transcripción procariota.
- Resumir las características principales de la iniciación, elongación y terminación de la síntesis proteica eucariota.
- Definir mitosis y meiosis, enumerar las fases de cada una y destacar las diferencias entre ellas.
- Identificar los mecanismos requeridos para reparar la lesión del ADN monocatenario y bicatenario.

## ORGANIZACIÓN DEL NÚCLEO CELULAR

El núcleo es la estructura de mayor tamaño de las células eucariotas. El nucleoplasma está en contacto permanente con el citoplasma celular a través de los poros de la membrana nuclear. Está compuesto por ADN (ácido desoxirribonucleico), proteínas y ARN (ácido ribonucleico), y desempeña un papel vital en:

- La síntesis de proteínas (v. págs. 109-115).
- La transmisión de información genética desde una generación a la siguiente (v. págs. 120-122).

### Estructuras del núcleo

#### Cubierta nuclear

La cubierta nuclear rodea al núcleo. Está constituida por dos capas de membrana, la exterior en continuidad con el retículo endoplásmico (fig. 6.1). El espacio entre las membranas interna y externa se denomina periplasma y se continúa con la luz del retículo endoplásmico (RE). Los ribosomas están

adheridos a la capa exterior de la cubierta nuclear, así como al RE.

#### Poros nucleares

Los poros nucleares se encuentran en los puntos de contacto entre las membranas externa e interna (fig. 6.2). Son estructuras electrodensas y están constituidas por ocho complejos proteicos dispuestos alrededor de un gránulo central. Controlan el paso de metabolitos, macromoléculas y subunidades de ARN entre el núcleo y el citoplasma. Las moléculas menores de 60 kDa se desplazan libremente a través de los poros. Sin embargo, el transporte de moléculas de mayor tamaño depende de ATP y precisa el reconocimiento, mediado por receptor, de la correspondiente secuencia nuclear por parte del complejo del poro.

#### Nucléolos

Los nucléolos son estructuras sumamente densas del interior de los núcleos que representan los sitios de síntesis y ensamblado del ARNr. En el núcleo celular puede visualizarse un nucléolo, varios o incluso ninguno (v. págs. 25-27).

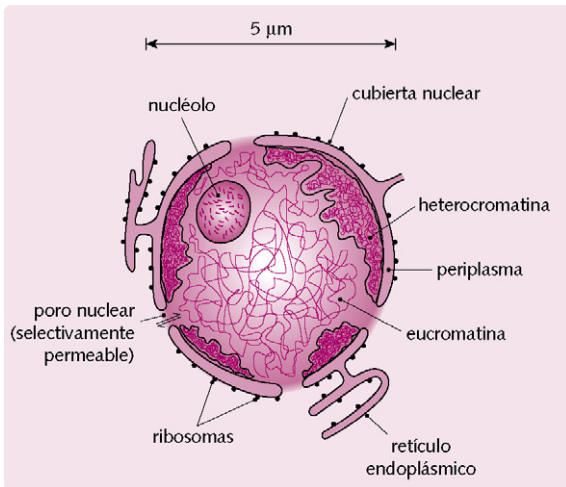


Fig. 6.1 Estructura del núcleo.

Las células que no realizan una síntesis proteica activa tienden a tener núcleos ricos en heterocromatina y a no tener nucleólos.



## Matriz nuclear

La matriz nuclear está constituida por ADN, nucleoproteínas y proteínas estructurales. Las nucleoproteínas son proteínas estrechamente unidas al ADN y se clasifican en histonas y no-histonas. Las histonas son proteínas globulares muy básicas alrededor de las cuales se enrolla el ADN de forma regular, como un collar de perlas, para formar la cromatina

(v. págs. 96-97). Se cree que la cromatina interacciona con las láminas, que son un tipo de filamentos intermedios que adoptan una conformación en celosía, formando un fino armazón que subyace a la membrana nuclear interna. Una red menos organizada de filamentos intermedios rodea la membrana externa y juntas, ambas redes proporcionan un soporte mecánico a la cubierta nuclear.

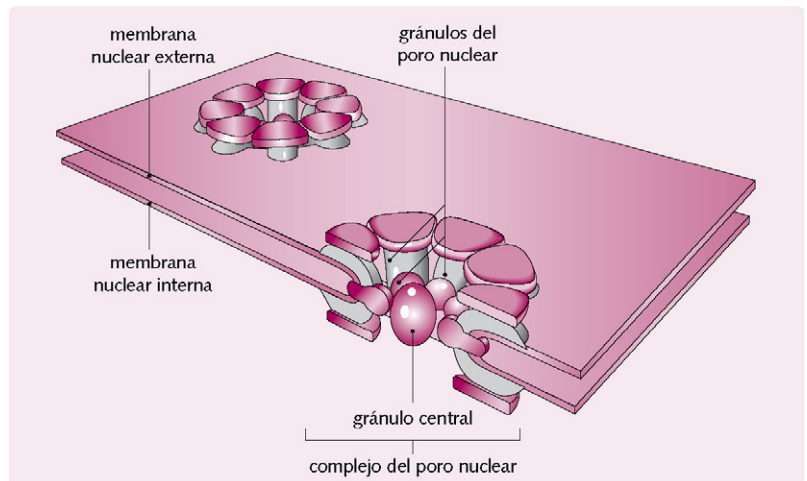
## ÁCIDOS NUCLEICOS

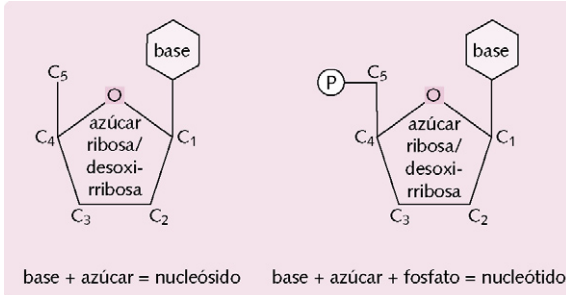
Los ácidos nucleicos se sintetizan a partir de la polimerización de nucleótidos (fig. 6.3). Durante la síntesis, se producen varias reacciones de condensación del ácido nucleico entre los grupos fosfato y azúcar para producir unos enlaces fosfodiéster de alta energía. Se forman unas cadenas largas no ramificadas con enlaces entre C3 y C5 de cada azúcar, por lo que se utiliza la notación 5' a 3' o 3' a 5' para describir la orientación de los nucleótidos en la cadena del ácido nucleico. Cada azúcar está separado del siguiente por un grupo fosfato para formar un esqueleto resistente y rígido azúcar-fosfato desde el que se proyectan las bases (fig. 6.4). El ADN y el ARN son ácidos nucleicos que desempeñan un papel esencial en el crecimiento y replicación de todas las células vivas.

## Nucleótidos y nucleósidos

Un nucleótido es un compuesto formado por un residuo de azúcar pentosa (desoxirribosa en el ADN, ribosa en el ARN, fig. 6.5) unido a una base (purina o pirimidina) y a un grupo fosfato (fig. 6.3) y es la subunidad de los ácidos nucleicos. Se deno-

Fig. 6.2 Estructura de un poro nuclear. (Adaptada de Stevens y Lowe, 1997.)





**Fig. 6.3** Estructura de nucleósidos y nucleótidos. La desoxirribosa posee un grupo H en el C2 del azúcar, mientras que la ribosa posee un grupo OH en esta posición. (Adaptada de *Molecular Biology of the Cell*, 3.ª ed., de Alberts y cols., Garland Publishing, 1994. Reproducida con autorización de Routledge, Inc., filial de The Taylor & Francis Group.)

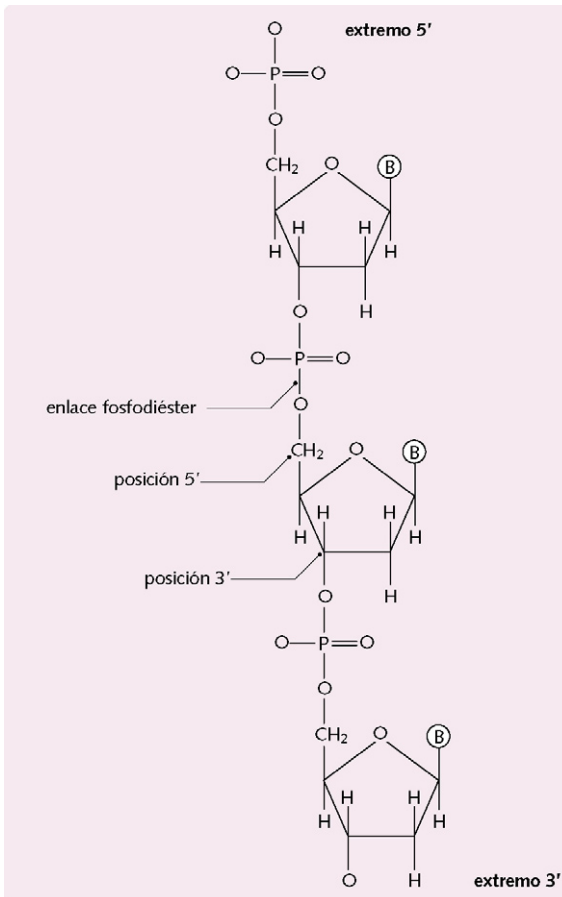
**Fig. 6.5** Comparación entre el ADN y el ARN

| Característica          | ADN           | ARN                            |
|-------------------------|---------------|--------------------------------|
| Azúcar                  | Desoxirribosa | Ribosa                         |
| Emparejamiento de bases | A–T/G–C       | A–U/G–C                        |
| Estructura              | Doble hélice  | Estructuras de una sola cadena |

**Fig. 6.5** Comparación entre el ADN y el ARN. A, adenina; C, citosina; G, guanina; T, timina; U, uracilo.

minan en función de si la base es un ribonucleótido o un desoxirribonucleótido y del número de grupos fosfato unidos (p. ej., adenosinmonofosfato).

Un nucleótido está formado por Tres grupos.



**Fig. 6.4** Ácidos nucleicos. El esqueleto del ADN está formado por azúcares desoxirribosa unidos por enlaces fosfodiéster. B indica la posición de la base. (Adaptada de Norman y Lodwick, 1999.)

## Purinas y pirimidinas

Las bases nucleotídicas de los ácidos nucleicos son moléculas heterocíclicas derivadas de purinas (adenina, guanina) o de pirimidinas (citosina, timidina, uracilo). El uracilo no está presente en el ADN, pero sustituye a la timina en el ARN. Son anillos aromáticos planos que contienen nitrógeno (fig. 6.6).

Casi todas la células eucariotas son capaces de sintetizar purinas y pirimidinas de novo, lo que sugiere que tienen un papel destacado en la supervivencia celular.

Las pirimidinas son: citosina (ADN y ARN), uracilo (ARN) y timina (ADN) y tienen un único anillo, a diferencia de las purinas (adenina y guanina en el ADN y ARN), que tienen un doble anillo.



## Biosíntesis de purinas

Las purinas se sintetizan en una vía de 11 pasos, comenzando con la formación de 5-fosforribosil-1-



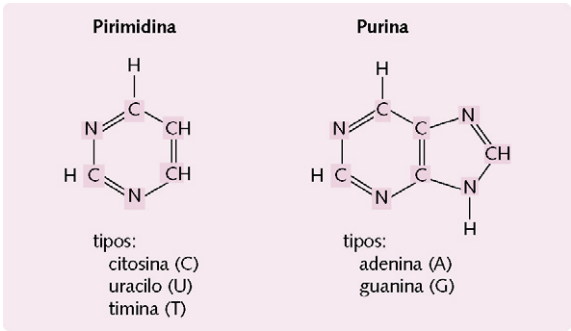


Fig. 6.6 Estructura de las bases púricas y pirimidínicas.

pirofosfato (PRPP). En esta vía se utilizan ATP, derivados del folato (tetrahidrofolato), glutamina, glicina y aspartato para producir inosinmonofosfato (IMP), que se convierte enseguida en adenosinmonofosfato (AMP) o en guanosinmonofosfato (GMP). Existe un complejo control de retroalimentación negativa para evitar una acumulación excesiva de AMP y de GMP. El paso limitante de la velocidad se encuentra en la primera reacción (la síntesis de PRPP por la PRPP sintetasa).

La gota se debe a anomalías del catabolismo de las purinas, bien por un exceso de purinas, o bien por una deficiencia parcial de la hipoxantina guanina fosforribosil transferasa (HGPRT). Las manifestaciones clínicas de estas anomalías se deben a la insolubilidad del subproducto de degradación (el ácido úrico), del que la mayor parte suele excretarse por el riñón. Un aumento de formación o una disminución de la excreción de ácido úrico provoca hiperuricemia y la formación de cristales de urato sódico, que precipitan en el líquido sinovial de las articulaciones, lo que causa un cuadro grave de inflamación y artritis.

Fig. 6.7 Principales vías de reciclaje de las bases púricas y pirimidínicas.

| Fig. 6.7 Principales vías de reciclaje de las bases púricas y pirimidínicas. |                                              |                                                                             |
|------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
|                                                                              | Purinas                                      | Pirimidinas                                                                 |
| Principales bases recicladas                                                 | hipoxantina, guanina                         | uracilo (timina)                                                            |
| Enzimas implicadas                                                           | hipoxantina-guanina-fosforribosiltransferasa | uridina fosforilasa, uridina cinasa (timidina fosforilasa, timidina cinasa) |
| Productos                                                                    | IMP, GMP                                     | UMP (dTMP)                                                                  |

**Biosíntesis de pirimidinas**

La síntesis de pirimidina se realiza a lo largo de una vía de seis pasos en los que se incorpora el azúcar ribosa como una de las etapas finales. Partiendo del carbamoil fosfato, derivado de la glutamina y el bicarbonato, se forma uridinmonofosfato (UMP). A continuación, el UMP se fosforila para producir uridintrifosfato (UTP), que se puede aminar para formar citidintrifosfato (CTP). Los nucleótidos de uridina también son los precursores para la síntesis de novo de los nucleótidos de timina.

**Vías de reciclaje**

Al margen de la síntesis de novo, los nucleótidos también pueden sintetizarse a partir de la degradación de los ácidos nucleicos endógenos. En estas vías de reciclaje (fig. 6.7), los nucleótidos se recuperan y reconectan a unidades ribosa.

**Azúcares pentosa**

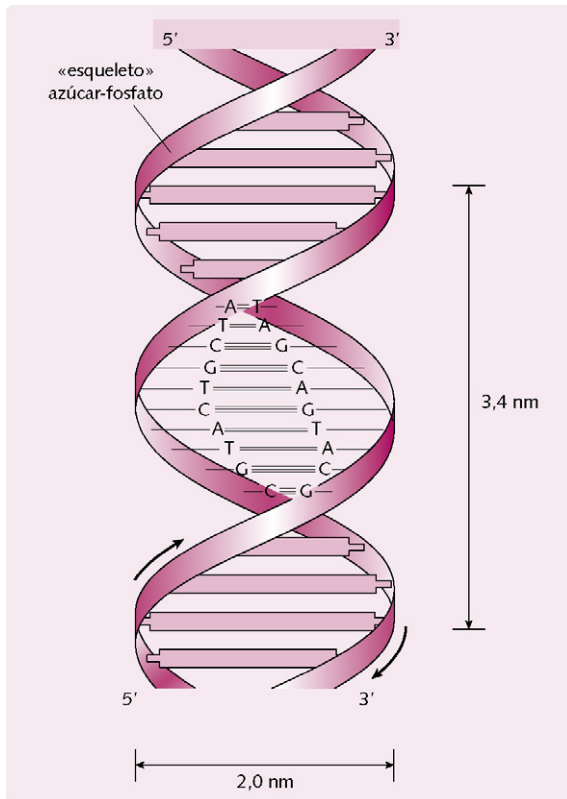
Son anillos de cinco carbonos (v. fig. 6.4). Los desoxirribonucleótidos se forman por reducción del grupo ribosa del ribonucleótido correspondiente (v. pág. 90).

**Doble hélice de ADN**

La estructura del ADN fue descubierta por Watson y Crick en 1953, y consiste en dos cadenas de polinucleótidos, entrelazadas y mantenidas juntas por emparejamiento de sus bases hasta formar una doble hélice. Las bases adenina y timina se enlazan a través de dos puentes de hidrógeno entre las cadenas opuestas, mientras que la guanina y la citosina lo hacen a través de tres. El emparejamiento de las bases produce dos polinucleótidos complementarios, que se disponen antiparalelos entre sí (es decir, uno se dispone de 5' a 3' y el otro de 3' a 5'; fig. 6.8).

**Moléculas de ARN**

En las células eucariotas, todo el ARN monocatenario se produce por transcripción a partir del ADN.



**Fig. 6.8** La doble hélice de ADN es una hélice dextrógira con un eje común para ambas cadenas. Hay diez pares de bases en cada giro. A, adenina; C, citosina; G, guanina; T, timina.

Se sintetiza predominantemente en el núcleo, pero generalmente sale al citoplasma para desempeñar su función.

## ARN mensajero

El ARN mensajero (ARNm) transmite la información genética desde el núcleo al citoplasma. En los eucariotas deriva del transcrito primario de ARN (ARN heteronuclear) por corte y empalme. Forma el molde sobre el que se generarán los polipéptidos durante la

traducción y es una molécula monocatenaria sin ningún puente de hidrógeno intramolecular (fig. 6.9).

## ARN heteronuclear

El ARN heteronuclear (ARNhn) es el ARNm transcrito primario que producen las células eucariotas. Su vida es muy corta, pues se procesa para producir ARNm mensajero maduro. A diferencia del ARNm transcrito final, contiene intrones, que después se eliminan por corte y empalme (v. págs. 108-109).

## ARN de transferencia

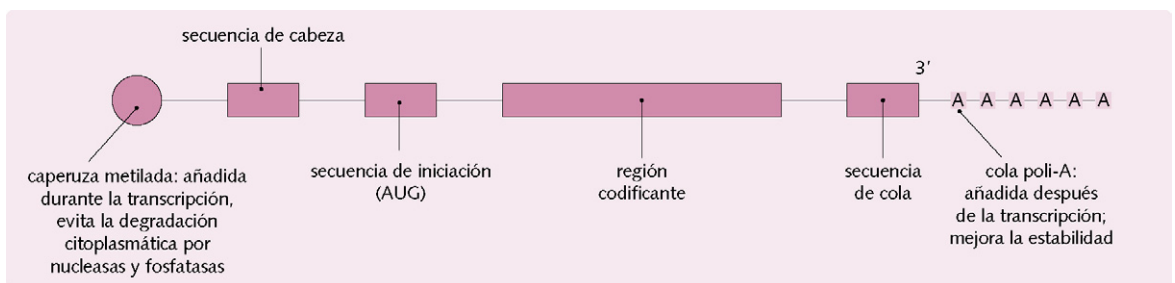
El ARN de transferencia (ARNt):

- Transporta aminoácidos específicos al lugar de la síntesis de proteínas.
- Tiene dos sitios activos que le permiten efectuar sus funciones.
- Es una molécula lineal con un promedio de 76 nucleótidos.
- Presenta un fuerte emparejamiento intramolecular de sus bases, lo que le confiere una característica estructura secundaria en forma de «hoja de trébol».

Hasta un 20% de las bases del ARNt experimenta algún procesamiento postraduccional y se supone que podrían estar implicadas en las interacciones ARNt-proteína o en la estabilización de la molécula de ARNt. La figura 6.10 muestra la conformación de la estructura secundaria del ARNt.

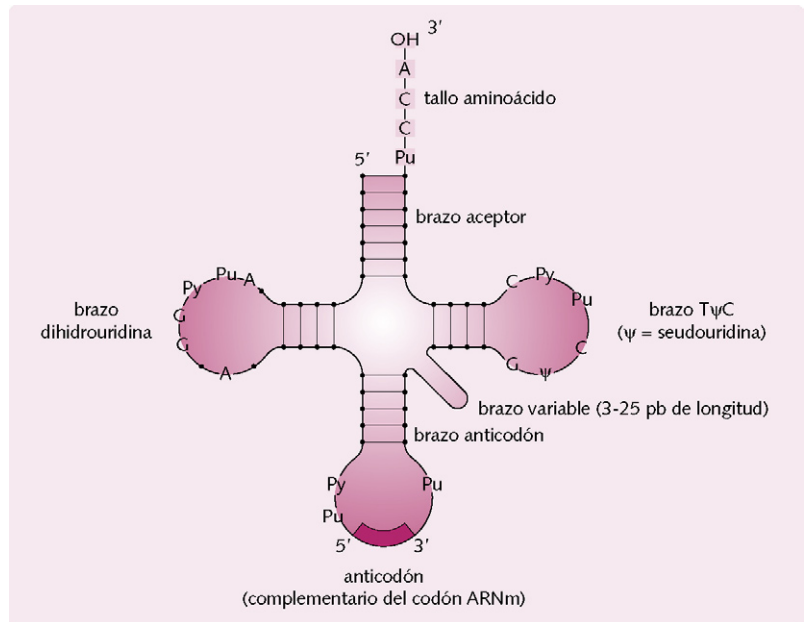
## ARN ribosómico

El ARN ribosómico (ARNr) es un componente de los ribosomas. En una célula eucariota, cada ribosoma está formado por dos subunidades desiguales, constituidas por proteínas y ARN, denominadas subunidad S (pequeña) y L (grande) (fig. 6.11). Las moléculas de ARN experimentan un intenso emparejamiento intramolecular de sus bases, que tiene un papel destacado para determinar la estructura ribosómica. Los ribosomas son capaces de autoensamblarse en condiciones fisiológicas en presencia de todos sus componentes.



**Fig. 6.9** Estructura del ARNm de las células eucariotas. A, adenina; G, guanina; U, uracilo.

**Fig. 6.10** Estructura secundaria del ARNt. Consta de cinco brazos. Los puntos activos se encuentran en el brazo aceptor, donde el grupo CCA terminal 3' puede aceptar un aminoácido específico, y el anticodón se encuentra en el brazo anticodón, que reconoce al correspondiente codón de ARNm. El emparejamiento específico de bases en los cinco brazos ayuda a mantener la estructura secundaria. A, adenina; C, citosina; G, guanina; Pu, purina; Py, pirimidina; U, uridina.

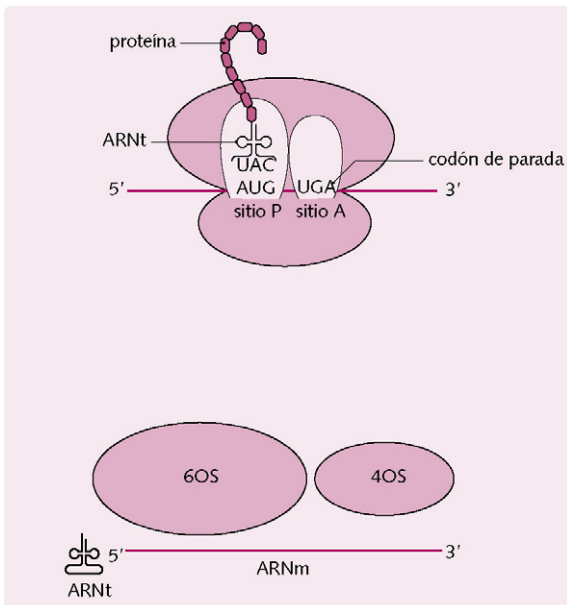


## EMPAQUETADO DEL ADN Y CROMOSOMAS

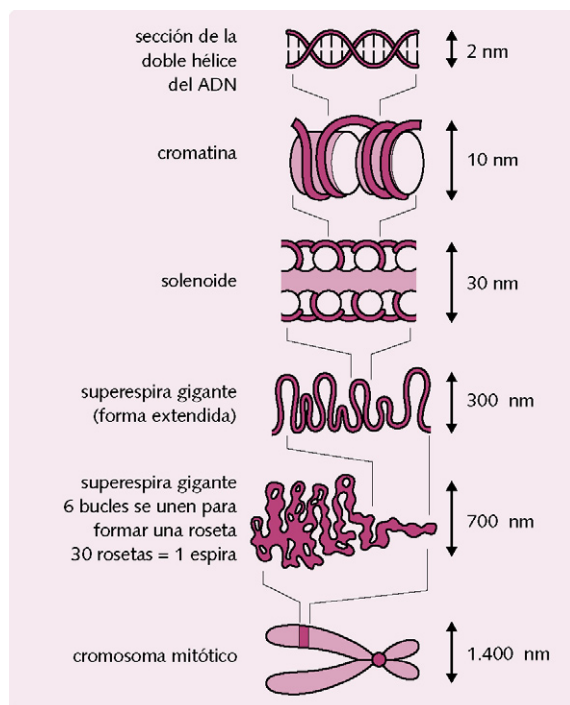
El ADN se encuentra sobre todo en el núcleo, pero también en las mitocondrias (v. págs. 110-111). Actúa como molde durante la transcripción y es la molécula encargada de transmitir la herencia (es decir, se pasa de una generación a la siguiente). En el núcleo de una célula humana normal existen 46 cromosomas, cada uno de los cuales contiene entre 48 y 240 millones de bases de ADN. El modelo de la doble hélice de ADN de Watson y Crick predice que cada cromosoma tendría una longitud de contorno de 1,6-8,2 cm (es decir, que la longitud total del ADN sería de alrededor de 3 m). Sin embargo, el núcleo promedio tiene un diámetro de aproximadamente 5 μm. Por tanto, es necesario un grado sumamente alto de organización para que quepa esta cantidad de ADN en su interior (fig. 6.12).

### Cromatina

Cromatina es el nombre colectivo que reciben las largas cadenas de ADN, ARN y sus nucleoproteínas asociadas. Durante la interfase del ciclo celular (v. págs. 115-118), la cromatina está dispersa por todo el núcleo y se vuelve más compacta durante la mitosis o la meiosis (v. págs. 118-122). Cuando se observa una célula con el microscopio electrónico pueden distinguirse dos tipos de cromatina (v. cap. 2):



**Fig. 6.11** Estructura de un ribosoma eucariota. Los ribosomas constan de dos unidades desiguales, compuestas por ARN y proteínas, unidas mediante iones magnesio. En el ribosoma citoplásmico de rata, la unidad pequeña (40S) está compuesta por 33 polipéptidos y ARNr de 18S, mientras que la unidad grande (60S) está formada por 49 polipéptidos y tres moléculas de ARNr de 2,8S, 5,8S y 5S. El ribosoma posee sitios de unión al ARNm, el peptidil ARNt (el sitio P) y el aminoacil ARNt (sitio A). S, unidad Svedberg de sedimentación. (Adaptada de Baynes y Dominiczak, 1999.)



**Fig. 6.12** Niveles progresivos de organización de la cromatina. Se muestran los distintos niveles de condensación del ADN, desde la doble hélice de ADN al cromosoma mitótico.

1. Heterocromatina, que es electrodensa y se distribuye alrededor de la periferia del núcleo y en masas discretas dentro de éste. El ADN se encuentra en estrecha asociación con las nucleoproteínas y no es activo en la síntesis de ARN.
2. Eucromatina, que es electrotransparente y representa al ADN potencial o realmente activo en la síntesis de ARN.

En los niveles progresivos de empaquetamiento del cromosoma:

- El ADN se enrolla formando nucleosomas a modo de collar de perlas.
- La cadena de nucleosomas se enrolla para formar un solenoide.
- El solenoide forma bucles, y los bucles se unen a un armazón proteico central.
- Los bucles más el armazón se organizan a su vez en una superespira gigante.

## Nucleosomas

Un nucleosoma está formado por 146 pb de ADN enrolladas alrededor de un octámero de proteínas histonas (fig. 6.13). El octámero posee dos copias de cada proteína histona H2A, H2B, H3 y H4. Las histo-

nas se han conservado a lo largo de la evolución de las células eucariotas y contienen una elevada proporción de aminoácidos con carga positiva que pueden formar enlaces iónicos con el ADN dotado de carga negativa. Esta interacción no depende de la secuencia de ADN y teóricamente las histonas pueden unirse a cualquier región del ADN. Sin embargo, in vivo, la posición de la unión a histonas se ve influida por:

- El contenido de AT (la secuencia AT se dobla más fácilmente que GC).
- La presencia de otras proteínas unidas estrechamente.

Los nucleosomas unidos a regiones del ADN están separados por una región de ADN de conexión, que varía de 0 a 80 pb de longitud. En consecuencia, los nucleosomas aparecen como «cuentas» de 11 nm en un «collar» de ADN de 2 nm en microfotografías electrónicas.

La ADNasa I es una endonucleasa que rompe los enlaces fosfodiéster internos del ADN, con independencia de la secuencia de bases. Las regiones reguladoras de los genes se encuentran con frecuencia unidas mediante proteínas que impiden que las histonas se unan. Dado que la unión a histona protege al ADN de la degradación por parte de la ADNasa I, las regiones reguladoras de los genes son especialmente sensibles a esta enzima, y en ocasiones se denominan «sitios hipersensibles a nucleasas».

## Formación del solenoide

El segundo nivel de empaquetado del ADN está mediado por la histona H1 que une nucleosomas adyacentes entre sí para condensar el ADN en una fibra superenrollada de 30 nm, que también se denomina solenoide (v. figs. 6.12 y 6.13). El solenoide presenta 6-8 nucleosomas por vuelta de la espiral. Esta configuración corresponde a la heterocromatina.

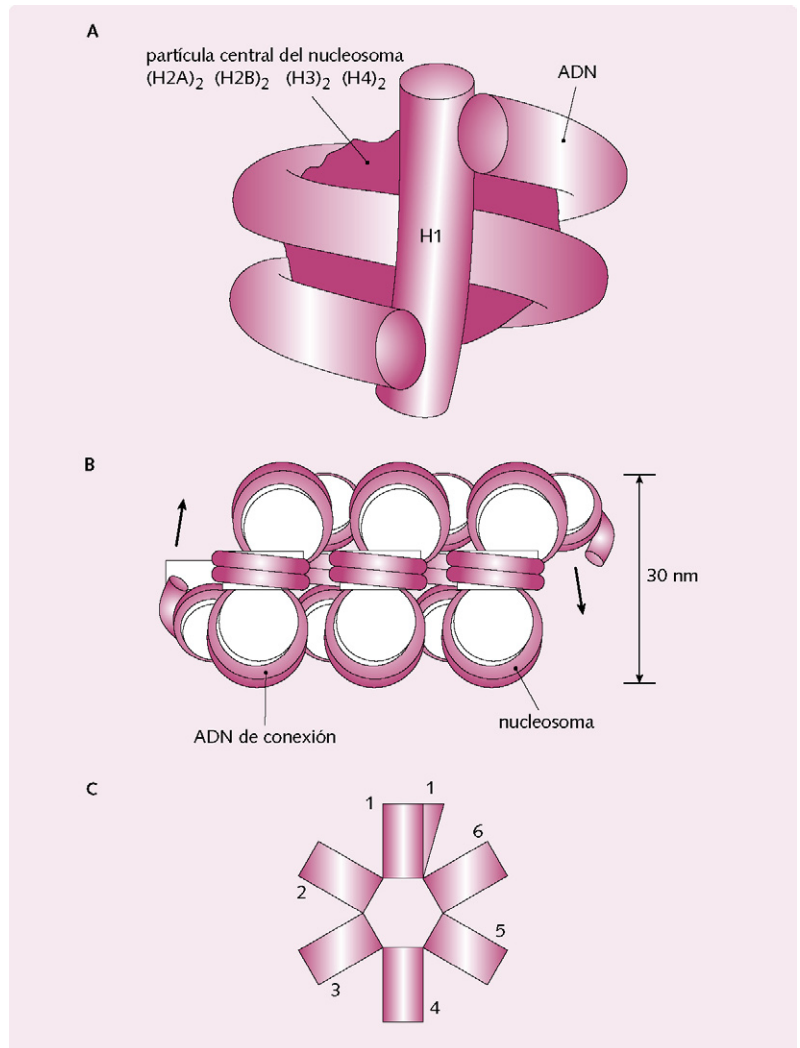
## Superespira gigante

El tercer nivel de organización no se conoce con precisión, pero se cree que implica la formación de bucles de ADN que irradian desde un armazón central de proteínas no histonas. Se piensa que estos bucles forman unidades de transcripción.

## Cromosomas

Durante la metafase (v. pág. 119), la cromatina se encuentra en su estado de máxima condensación y forma fibras de 1.400 nm. Tras la tinción celular con colorantes biológicos como el Giemsa, estas estructuras son visibles en forma de cromosomas en el microscopio óptico.

**Fig. 6.13** Organización de la fibra de cromatina. A) La partícula central del nucleosoma está compuesta por pares de histonas:  $(H2A)_2$   $(H2B)_2$   $(H3)_2$   $(H4)_2$ . Existe una quinta histona, H1, asociada también con el nucleosoma; 166 pares de bases de ADN se enrollan alrededor de cada nucleosoma. El ADN de conexión se extiende entre un nucleosoma y el siguiente. Consta de 8-114 pares de bases. B) La cromatina consta de nucleosomas unidos entre sí a través de sus proteínas H1 (no mostradas en esta parte de la figura). C) Los nucleosomas unidos forman un solenoide, con seis nucleosomas en cada vuelta. (Adaptada con autorización de *Molecular Biology of the Cell*, 3.ª ed., de B. Alberts y cols., Garland Publishing, 1994. Reproducida con autorización de Routledge, Inc., componente de The Taylor & Francis Group.)



## Centrómeros

Cada cromosoma en metafase está compuesto por dos cromátidas hermanas idénticas. Las cromátidas están conectadas por una región central denominada centrómero, por encima y por debajo de la cual las cadenas de cromatina forman bucles enrollándose entre las cromátidas para mantenerlas juntas (fig. 6.14). Los centrómeros constan de cientos de kilobases de ADN repetitivo y se encargan del movimiento de los cromosomas en la división celular. Cada centrómero divide al cromosoma en brazos cortos y largos, que se denominan p y q, respectivamente.



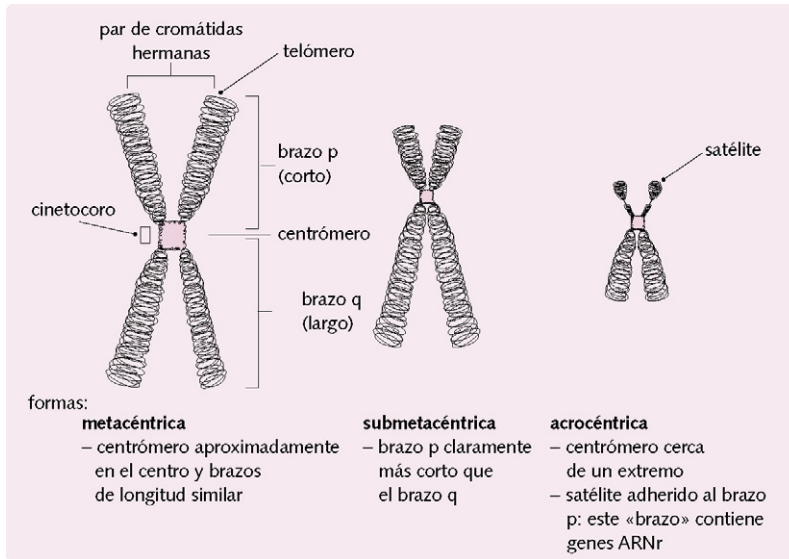
Para acordarse de los brazos del cromosoma, el corto es el p (pequeño) y el largo es el q.

La posición del centrómero puede usarse para establecer una clasificación morfológica de los cromosomas (v. fig. 6.14):

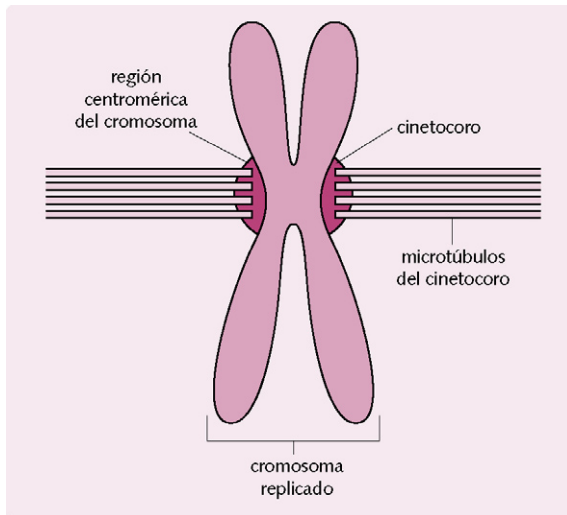
- Los cromosomas acrocéntricos tienen los centrómeros localizados muy cerca de un extremo, por lo que el brazo corto es pequeño y a menudo se asocia a pequeños fragmentos de ADN denominados satélites, que codifican ARNr.
- Los cromosomas metacéntricos tienen los centrómeros localizados en su zona media, por lo que los brazos corto y largo tienen aproximadamente la misma longitud.
- Los cromosomas submetacéntricos tienen un centrómero descentrado, por lo que un brazo es más largo que el otro.

El cinetocoro es un orgánulo situado en la región centromérica (fig. 6.15). Actúa como un centro de organización de los microtúbulos y facilita la forma-





**Fig. 6.14** Anatomía de un cromosoma, donde se muestran las tres formas: metacéntrica, submetacéntrica y acrocéntrica.

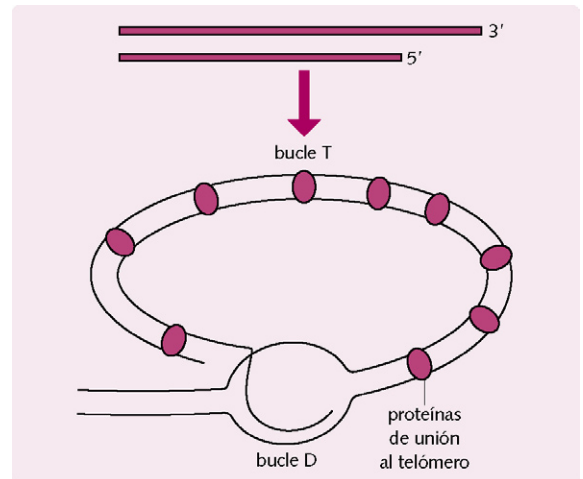


**Fig. 6.15** Cinetocoro. El cinetocoro contiene dos regiones: un cinetocoro interno, que está estrechamente asociado al ADN del centrómero, y un cinetocoro externo, que interactúa con los microtúbulos.

ción del huso por polimerización de los dímeros de tubulina que forman los microtúbulos durante los estadios iniciales de la mitosis (v. cap. 4).

## Telómeros

Los extremos de los cromosomas están protegidos por estructuras de ADN denominadas telómeros. Los telómeros son repeticiones en tándem de la secuencia hexamérica «TTAGGG», que termina en una proyección monocatenaria 3' de una longitud aproximada de 50-400 nucleótidos y que da la vuelta sobre sí misma para formar el bucle en T (fig. 6.16).



**Fig. 6.16** Telómeros. La formación del bucle T evita la actividad de la telomerasa, lo que bloquea una extensión excesiva del telómero. Con cada división celular, el ADN telomérico se acorta, hasta que el telómero es demasiado corto para mantener la estructura de bucle T. En este momento, la telomerasa puede actuar prolongando el telómero, lo que permite volver a crear el bucle T. Este ciclo de acortamiento y prolongación protege el extremo del telómero.

Los telómeros tienen varias funciones destinadas a conservar la estabilidad de los cromosomas, como:

- Evitar la fusión anómala entre los extremos terminales de los cromosomas.
- Proteger los extremos de los cromosomas de la degradación.
- Asegurar que la replicación del ADN es completa.
- Participar en el emparejamiento cromosómico durante la meiosis.

Las ADN polimerasas requieren un cebador de ARN (v. págs. 102-105). Esto plantea un problema

potencial en los extremos de los cromosomas eucariotas, porque no hay ningún sitio para que se una el cebador de la cadena retrasada a fin de facilitar la replicación de la secuencia terminal. Por tanto, podría suceder que el cromosoma se hiciese cada vez más corto tras ciclos sucesivos de replicación, lo que daría lugar a la pérdida de información genética. Para evitar esto, la célula utiliza la adición de ADN no codificante al extremo de la cola 3' mediante la enzima telomerasa (v. pág. 105).

## Genes nucleares

Los genes son secuencias de ADN que codifican proteínas y están compuestos por una región transcrita y una secuencia reguladora. La hipótesis de «un gen, un polipéptido» afirma que la secuencia básica de ADN determina la secuencia de aminoácidos de un único polipéptido correspondiente. Por convención, las secuencias de genes se describen en dirección 5'-3', pues ésta es la dirección de la síntesis de ácidos nucleicos in vivo.

Los genes se sitúan entre segmentos de «ADN no codificante» al que, hasta hace poco, no se atribuía ninguna función. Las investigaciones más recientes sugieren que hasta el 50% del ADN no codificante se transcribe y produce ARN no codificante (ARNnc) que supuestamente tiene papeles esenciales en la regulación de la estructura del ADN, la expresión del ARN, la traducción de proteínas y las funciones de las proteínas.

## Estructura del gen eucariota

El gen eucariota típico consta de varios elementos conservados (fig. 6.17).

### Promotores

La región promotora se sitúa en el extremo 5' del ADN, justo antes de un gen, y en ocasiones se denomina «región del flanco 5'». Los estudios de análisis de secuencias han mostrado la presencia de secuencias «consenso» tanto en procariotas como en euca-

riotas, que son vitales para la función del promotor. La secuencia más conservada en el promotor de *Escherichia coli* es la caja TATAAT, que forma el sitio de unión inicial para la enzima de transcripción ARNP (cap. 1). La situación es más compleja en eucariotas, donde se han detectado múltiples secuencias consenso, incluida la caja GC (5'-GGGCGGG-3'), la caja TATA (5'-TATAAAAA-3'), localizada a unas 25 pb en dirección 5' del sitio de inicio de la transcripción, y la caja CAAT (5'-GGCCAATCT-3'), localizada a unas 75 pb en dirección 5' del sitio de inicio, que actúan como sitios de unión de factores de transcripción específicos.

Los genes eucariotas también pueden requerir secuencias potenciadoras para la expresión fisiológica que pueden situarse a muchas kilobases del inicio de la transcripción (v. págs. 105-109).

### Intrones y exones

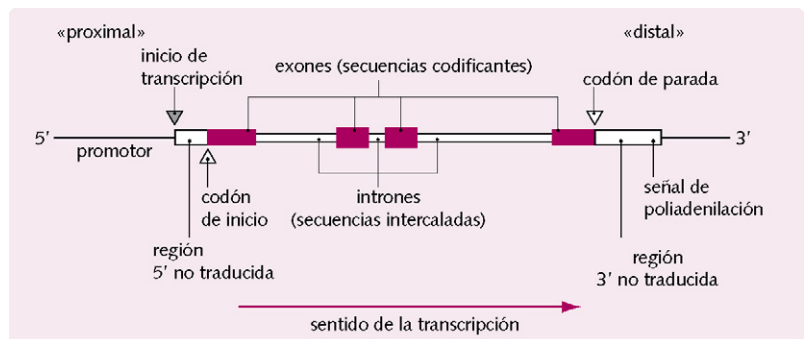
El gen eucariota típico contiene tanto exones como intrones (fig. 6.17). Los exones son secuencias transcritas (es decir, están representadas en el ARNm final). La mayoría de los exones codificarán aminoácidos, pero en los exones también hay UTR 5' o 3'. Los intrones son las secuencias interpuestas no codificantes. La longitud de un exón típico es de unos cientos de pares de bases, mientras que los intrones suelen tener una longitud de varios kilobases. Los intrones son:

- Escasos en los genes procariotas.
- Poco habituales en los eucariotas inferiores, como la levadura.
- Abundantes en los eucariotas superiores (los genes estructurales de los vertebrados pocas veces carecen de intrones).

### Secuencias 3'

La secuencia UTR 3' se define como aquella que se extiende desde el codón de terminación de la región codificante hasta el punto de su extremo 3' donde se escinde el transcrito, y se cree que influye en la traducción, la localización y la estabilidad del ARNm. En concreto, la señal de poliadenilación (5'-AATAAA-3')

**Fig. 6.17** Estructura de un gen eucariota típico. Los exones primero y último incluyen secuencias que se transcriben y presentan en el ARNm, pero no se traducen. Se denominan regiones 5' y 3' no traducidas (UTR) respectivamente. Nótese que este esquema no es a escala y en realidad la media de los intrones es muy superior a la de los exones. (Adaptada de Nussbaum, McInnes y Willard, 2001.)



determina el sitio de poliadenilación de la molécula de ARNm resultante, que a su vez protege a la molécula de la acción de enzimas (exonucleasas) y es relevante para la terminación de la transcripción, la exportación del ARNm fuera del núcleo y la traducción.

## Cromatina activa

Si se tratan núcleos aislados de células de diferentes vertebrados con ADNasa I, presentarán diferentes patrones de degradación. Esto se debe a que los genes de transcripción activa (que son distintos en cada tipo de célula) son más sensibles a la enzima, lo que sugiere que la cromatina activa y la cromatina inactiva están empaquetadas de distinto modo. Por el contrario, la cromatina inactiva y la activa presentan las siguientes características:

- La histona H1 está unida con menos fuerza.
- Las histonas de los nucleosomas están muy acetiladas.
- La histona H2B está menos fosforilada.
- Son ricas en un tipo de H2A.

Las diferencias entre la cromatina activa e inactiva sugieren que la estructura de la cromatina es importante para la regulación de la expresión de los genes. Se cree que grandes regiones del genoma pueden estar silenciadas desde el punto de vista transcripcional durante la diferenciación como resultado del empaquetado especializado. Aunque se desconocen los detalles precisos, se piensa que el estado de metilación puede influir en la estructura de la cromatina.

## Metilación

El dinucleótido CpG suele estar poco representado en el genoma. Sin embargo, se encuentra en niveles esperados en las regiones promotoras. En los promotores de los genes inactivos, la posición 5' de la citosina está frecuentemente metilada, mientras que en los genes activos no suele estarlo. Las proteínas de unión a metil-CpG se unen a regiones metiladas y reclutan desacetilasa de histonas, que puede desencadenar la formación de la cromatina inactiva. De este modo, la metilación puede actuar para determinar dónde se inactiva la cromatina, aunque los factores que lo inducen no están claros.



La causa de varios trastornos del neurodesarrollo como los síndromes de Rett, X frágil e ICF (inmunodeficiencia, centrómero inestable y anomalías faciales) se atribuye a un defecto de la metilación.

## Evolución de los genes

### Redistribución de los intrones

Los genes eucariotas contienen intrones, mientras que los de los procariotas no. Los exones suelen codificar dominios funcionales de las proteínas. Si éstos están separados por intrones grandes, cualquier rotura cromosómica tiene probabilidades de producirse en la región no codificante. Tales roturas pueden producir recombinación entre los genes, «barajando» nuevas combinaciones de exones para producir nuevas proteínas potencialmente más ventajosas. Si este proceso se produjese en ausencia de intrones, es probable que las nuevas proteínas estarían fuera del marco de lectura y que los dominios funcionales se perderían.

### Duplicación de los genes y familias multigénicas

La duplicación de genes es una consecuencia rara de los procesos de recombinación normal. Los genes duplicados son libres para mutar y evolucionar adquiriendo nuevas funciones y patrones de expresión, dado que no son imprescindibles para la supervivencia del organismo. El mecanismo de los acontecimientos de duplicación de genes implica que algunas proteínas relacionadas funcionalmente, como las de la familia de los genes de la globina  $\beta$  y el complejo de antígenos leucocitarios humanos (HLA), se agrupan juntos en el mismo cromosoma.

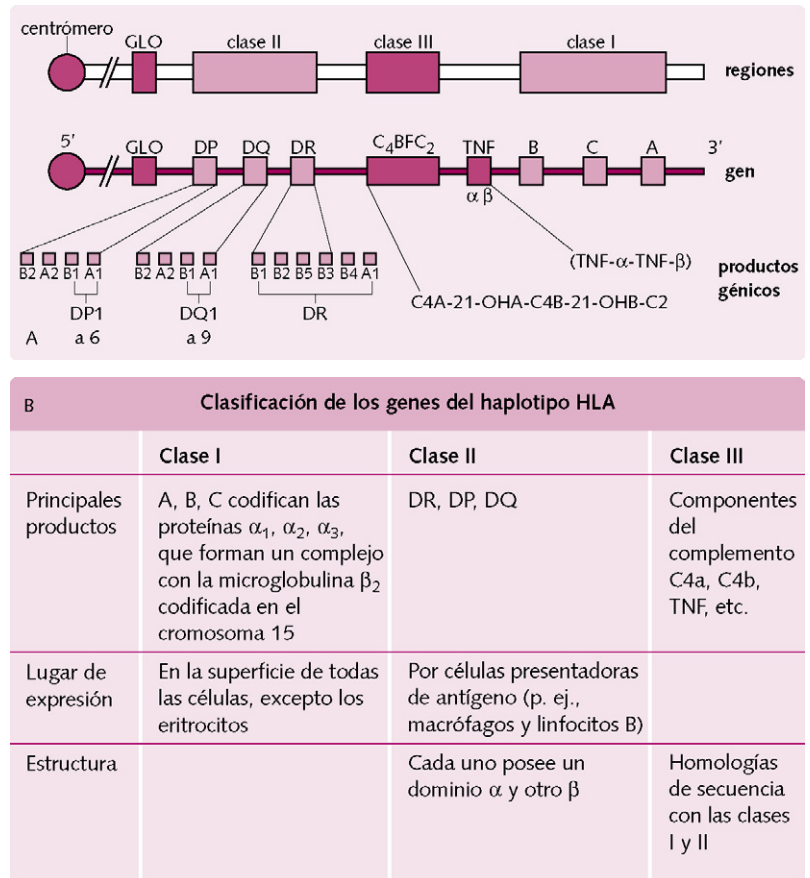
### Complejo HLA

El complejo de antígenos leucocitarios humanos (HLA) (denominado también complejo principal de histocompatibilidad, o MHC por su acrónimo inglés) situado en el brazo corto del cromosoma 6 es un ejemplo de agrupamiento de genes. Los genes HLA:

- Son en su mayoría miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas: una familia de centenares de genes situados a lo largo del genoma humano que están implicados en el reconocimiento de la superficie celular.
- Se caracterizan por la presencia de «dominios» (o pliegues) de inmunoglobulina constituidos por 110 residuos de aminoácidos, estabilizados por un puente disulfuro.
- Comparten grupos de exones relacionados, lo que indica que han evolucionado por duplicación desde un gen ancestral.

Existen tres clases de genes HLA (fig. 6.18A). Las clases I y II codifican proteínas implicadas en la presentación de antígenos peptídicos a los linfocitos T. Esto suele suceder en el contexto de antígenos extraños procedentes de patógenos infecciosos, pero también se produce con antígenos «ajenos» introducidos por un trasplante de órganos, lo que explica su participación en el rechazo del órgano (fig. 6.18B).

**Fig. 6.18** A) Complejo principal de histocompatibilidad (región HLA), donde se observan las regiones, genes y productos génicos en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21.1 a p21.3). GLO, glioxalasa; TNF, factor de necrosis tumoral. (Adaptada de Kumar y Clark, 2005). B) Características de distintas clases de genes HLA.



Los genes de la clase III codifican proteínas que modulan o regulan las respuestas inmunitarias de otras formas. Entre ellos, puede citarse el factor de necrosis tumoral (TNF) y las proteínas del complemento (C2, C4) (fig. 6.18B).

Con el término haplotipo se describe un grupo de alelos que se presentan juntos en un segmento de ADN y se heredan juntos. Los niños reciben un haplotipo HLA de cada progenitor. En el trasplante renal, se evalúa el grado de concordancia para los loci HLA A, B y DR (fig. 6.18A) para reducir el riesgo de rechazo del órgano.

### Seudogenes

Los pseudogenes son secuencias de ADN que se parecen mucho a los genes estructurales, pero que no se pueden traducir en una proteína funcional. La presencia de pseudogenes en el genoma humano proporciona datos sobre la evolución génica, sobre todo porque muchos genes funcionales tienen pseudogenes equivalentes. Se cree que han surgido de varias maneras: como fenómenos de duplicación incompleta, silenciamiento de genes redundantes desde el punto de vista funcional y como resultado de la inserción de secuencias complementarias de ADN producidas por

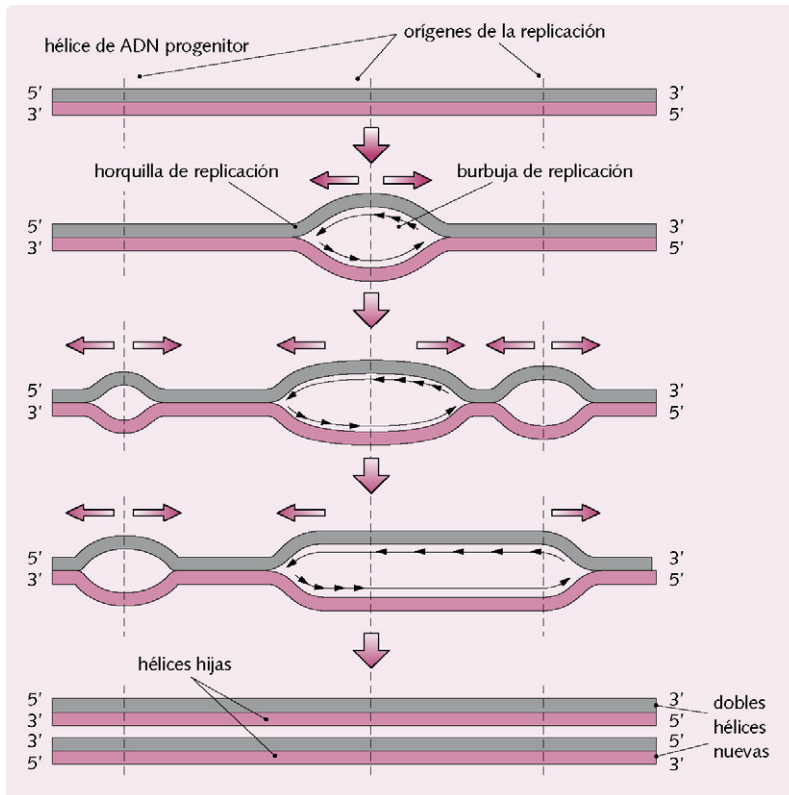
la acción de la transcriptasa inversa en un transcrito de ARN surgido de forma natural (retrotransposición).

## REPLICACIÓN DEL ADN

Como se ha descrito en el capítulo 1, la replicación del ADN es el proceso mediante el cual las células duplican su ADN nuclear como preparación para la división celular. La replicación se produce en dirección 5' a 3', de modo que los nuevos nucleótidos se unen en el extremo 3' OH de la molécula en crecimiento. Una cadena (la cadena adelantada) se sintetiza de forma continua, moviéndose en el sentido de la horquilla de replicación, mientras que la otra (la cadena retrasada) se forma en secuencias cortas de 1.000-5.000 nucleótidos denominadas fragmentos de Okazaki, que después se unen entre sí por vía enzimática (v. fig. 6.21).

### Replicación del ADN eucariota

La síntesis del ADN eucariota es muy parecida a la descrita en procariotas (v. cap. 1). Sin embargo, los



**Fig. 6.19** Replicación del ADN en los eucariotas. Existen múltiples orígenes de la replicación, pero ésta se inicia en puntos y momentos específicos para asegurar que la totalidad del genoma se replica una única vez. (Adaptada de Jorde y cols., 1997.)

eucariotas tienen muchos más orígenes de replicación (fig. 6.19), que se activan de forma simultánea durante la fase S del ciclo celular (v. págs. 115-118), lo que permite una replicación rápida de todos los cromosomas. El complejo de reconocimiento del origen, junto con los factores de licencia, proporciona la señal que desencadena el comienzo de la replicación del ADN en un origen de replicación, y evita que se produzca una replicación excesiva. La replicación se produce en ambas direcciones a partir de cada origen de replicación y continúa hasta que las horquillas vecinas se fusionan. La velocidad de síntesis de ADN en las células eucariotas es mucho más lenta que en las procariotas, con un valor de tan sólo 75 nucleótidos/s, lo que supone alrededor de la décima parte que la velocidad de síntesis del ADN bacteriano.

La heterocromatina se replica más tarde en la fase S que la eucromatina. El genoma se replica sólo una vez y se cree que la cromatina queda marcada después de la replicación para evitar que se replique una segunda vez, posiblemente por metilación del ADN.

### Polimerasas del ADN

Se han identificado más de 19 polimerasas en eucariotas y las enzimas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$  son clave para mantener la integridad del genoma eucariota. Dos de ellas ( $\alpha$  y  $\delta$ ) son fundamentales para la replicación de los cromosomas.

### Horquillas de replicación

Después de producirse el paso de la horquilla de replicación, la estructura de la cromatina se vuelve a formar mediante la adición de nuevas histonas. Se cree que la presencia de proteínas histónicas en los cromosomas eucariotas explica la mayor lentitud de la replicación eucariota y la menor longitud de los fragmentos de Okazaki, en comparación con la replicación en procariotas (fig. 6.20).

### Proteínas adicionales implicadas en la replicación del ADN

#### Antígeno nuclear de células proliferantes

Este antígeno (PCNA) es la contrapartida eucariota de la proteína abrazadera deslizante regulada de *E. coli* (v. figs. 1.8 y 6.21). Actúa como cofactor para la ADN polimerasa  $\delta$  en la fase S y también durante la síntesis de ADN asociada con los mecanismos de reparación de la lesión del ADN.

#### Proteína A de replicación

Esta proteína (RPA) es el equivalente eucariota de las proteínas de unión al ADN monocatenario (v. fig. 1.8). Las moléculas de RPA facilitan el desenrollamiento de la hélice para crear dos horquillas de replicación. Los experimentos in vitro han

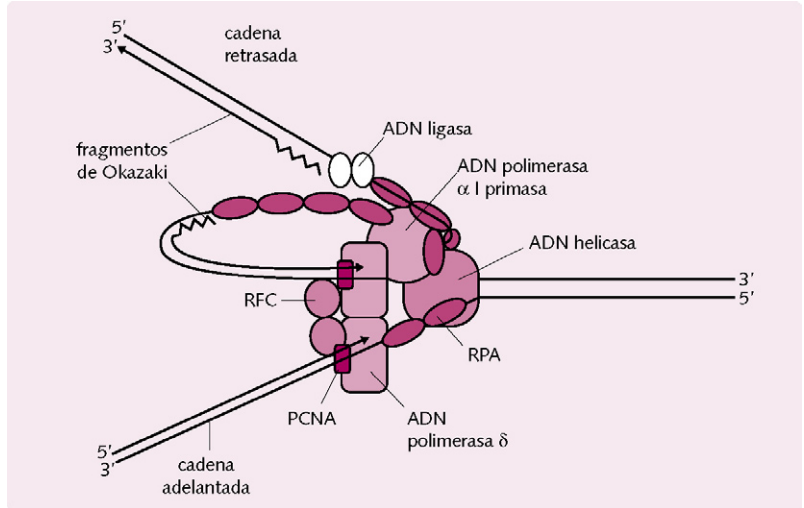


**Fig. 6.20** Comparación de la replicación del ADN en procariotas y eucariotas

|                                | <i>E. coli</i> (procariotas)                                                      | Mamíferos (eucariotas)                                                                                 |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Lugar                          | Citoplasma                                                                        | Núcleo (y mitocondria)                                                                                 |
| Número de proteínas implicadas | 30                                                                                | Cientos                                                                                                |
| ADN polimerasa                 | Pol I: fidelidad y reparación<br>Pol III: síntesis del ADN                        | Identificadas cuatro enzimas, la polimerasa $\alpha$ es la principal polimerasa nuclear                |
| Iniciación                     | Origen único de la replicación (OriC)                                             | Replicación con múltiples orígenes (separados espacial y temporalmente durante la replicación del ADN) |
| Velocidad de replicación       | $10^3$ nucleótidos/s                                                              | $10^2$ nucleótidos/s                                                                                   |
| Posreplicación                 | Cebadores de ARN eliminados de la cadena retrasada por la Pol I 5'-3' exonucleasa | Cebadores de ARN eliminados por la exonucleasa 5'-3' (NO asociada con la polimerasa $\alpha$ )         |
| Período de replicación         | Síntesis continua de ADN entre las divisiones celulares                           | Síntesis de ADN y división celular separadas por las fases (intervalos) G1 y G2                        |
| Fragmentos de Okazaki          | Grandes (1.000-2.000 pb)                                                          | Pequeños (100-200 pb)                                                                                  |
| ADN polimerasa                 | Misma para las cadenas adelantada y retrasada                                     | Diferente para las cadenas adelantada y retrasada                                                      |

**Fig. 6.20** Replicación del ADN en procariotas y eucariotas.

**Fig. 6.21** Replicación del ADN en eucariotas. La síntesis de la cadena adelantada comienza con la actividad primasa de la ADN polimerasa  $\alpha$  que sintetiza un cebador de ARN, al que se añade un segmento de ADN. La RFC une el PCNA en el extremo del ADN. RFC une el PCNA al final del cebador, tras lo que la ADN polimerasa  $\alpha$  se desplaza. La ADN polimerasa  $\delta$  se une al PCNA en los extremos 3' de la cadena de ADN en crecimiento para realizar una síntesis muy elaborada de ADN. La síntesis de la cadena retrasada comienza del mismo modo que la de la cadena adelantada. Los cebadores de ARN se sintetizan por la ADN polimerasa  $\alpha$  cada 50 nucleótidos. El desplazamiento de la polimerasa crea fragmentos de Okazaki que, al final, se unen entre sí por la ADN ligasa.



demostrado que la replicación es 100 veces más rápida cuando estas proteínas están unidas al ADN monocatenario. La RPA también es necesaria para la reparación de la escisión de nucleótidos y la recombinación homóloga (fig. 6.21).

### Factor C de replicación

El factor C de replicación (RFC) es necesario, en presencia de ATP, para cargar la abrazadera deslizante PCNA en el ADN, de modo que se recluten las ADN polimerasas al sitio de síntesis del ADN (fig. 6.21).

### Síntesis de la cadena adelantada

La síntesis de la cadena adelantada (fig. 6.21) progresa del siguiente modo:

- La ADN polimerasa  $\alpha$  tiene actividad primasa que le permite sintetizar un ARN cebador.
- La ADN polimerasa  $\alpha$  añade un segmento de ADN al ARN cebador.
- El RFC ensambla el PCNA al final del cebador.
- El PCNA desplaza a la ADN polimerasa  $\alpha$ .
- La ADN polimerasa  $\delta$  se une al PCNA para realizar una síntesis de ADN de un modo muy elaborado.

## Síntesis de la cadena retrasada

La síntesis de la cadena retrasada (fig. 6.21) comienza de un modo similar a la de la cadena adelantada:

- La ADN polimerasa  $\alpha$  sintetiza ARN cebadores cada 50-75 nucleótidos.
- El desplazamiento de la polimerasa mediado por PCNA prolonga los cebadores de ARN-ADN para crear fragmentos de Okazaki.
- La ADN polimerasa  $\delta$  extiende su actividad hacia el ARN cebador del fragmento de Okazaki de dirección 3', momento en el cual varias enzimas (ARNasas y exonucleasas) eliminan el ARN cebador.
- La ADN polimerasa  $\delta$  rellena el espacio que queda al eliminar el ARN cebador.
- La ADN ligasa une los fragmentos de Okazaki a la cadena en crecimiento.

## Telomerasa

Los telómeros están predispuestos a acortarse de forma progresiva con cada ciclo de replicación del ADN (v. págs. 99-100). La telomerasa soluciona este problema añadiendo secuencias protectoras a los extremos de cada cromosoma. Aunque la telomerasa está activa en las células de la línea germinal, normalmente no está activa en las células somáticas. Se ha propuesto que el acortamiento progresivo de los telómeros en las células somáticas es un importante factor de envejecimiento. Además, las células inmortales del cáncer frecuentemente recuperan la actividad telomerasa.

## TRANSCRIPCIÓN Y SÍNTESIS DE ARN EN EUCARIOTAS

### Definición de transcripción

La transcripción es el proceso por el que se sintetiza ARN a partir de un molde de ADN. El proceso está catalizado por ARN polimerasas dependientes de ADN, que desenrollan el ADNbc para exponer bases no emparejadas sobre las que se forman híbridos ADN-ARN. El ARN se sintetiza en sentido 5'-3'. El molde de ADN presenta cierta polaridad, de forma que sólo una cadena puede actuar como molde (denominada «cadena molde»). La cadena no transcrita se denomina cadena codificante, ya que tiene la misma composición de bases que el ARN, excepto que las timinas (T) se sustituyen por uracilos (U).

Para que la cadena molde se transcriba, se identifica por la ARN polimerasa, que se une a secuencias específicas de ADN que incluyen al promotor. La transcripción puede estar influida y regulada por factores que actúan tanto en *cis* como en *trans*:

- Los factores que actúan en *cis* son secuencias específicas de ADN que se localizan en la misma molécula de ADN del gen que regulan.
- Los factores que actúan en *trans* son proteínas que se unen a los elementos que actúan en *cis*. Son transcritas por genes distintos a los que regulan.

## Transcripción en eucariotas

Los eucariotas tienen tres ARN polimerasas codificadas a nivel cromosómico, que reconocen distintos promotores y por tanto transcriben diferentes tipos de moléculas de ARN. La caja TATA (Hogness-Goldberg) se encuentra en los promotores de los genes transcritos por la ARN polimerasa II. Estas polimerasas pueden identificarse porque difieren en su sensibilidad a una micotoxina, la  $\alpha$ -amanitina (fig. 6.22).

El síndrome de Gilbert (SG) es una hiperbilirrubinemia no conjugada benigna y levemente sintomática que afecta a alrededor del 10% de la población. La actividad de la bilirrubina UDP glucuronosiltransferasa 1 (UGT1A1) en los pacientes con SG está reducida alrededor de un 30% respecto a lo normal, lo que provoca una captación insuficiente de la bilirrubina unida a albúmina por parte de los hepatocitos. La gran mayoría de las mutaciones que se asocian al SG consisten en una expansión de la caja TATA en UGT1A1, lo que provoca la reducción de su expresión y, en última instancia, una disminución de la actividad del producto enzimático.



Los eucariotas tienen tres tipos distintos de ARN polimerasas:

1. La ARN polimerasa I transcribe el ARN ribosómico en el nucléolo.
2. La ARN polimerasa II transcribe el ARN mensajero en el nucleoplasma.
3. La ARN polimerasa III transcribe el ARN de transferencia (y un tipo de ARNr) en el nucleoplasma.

## Secuencia de acontecimientos

### Iniciación

La transcripción en eucariotas es más complicada que en procariotas y requiere la presencia de varios factores de transcripción (proteínas necesarias para iniciar o regular la transcripción en eucariotas). Todos los genes que se transcriben y se expresan a

**Fig. 6.22** ARN polimerasas de eucariotas. Éstas se diferencian en cuanto a su especificidad de molde, localización y sensibilidad a la amanitina  $\alpha$  (el componente activo de la *Amanita phalloides*, una seta venenosa). (Adaptada de *Biochemistry*, 3.<sup>a</sup> ed., por L. Stryer, W.H. Freeman y Company, 1988.)

**Fig. 6.22** ARN polimerasas en eucariotas

| ARN polimerasa | Localización | Transcritos celulares       | Efecto de la amanitina $\alpha$      |
|----------------|--------------|-----------------------------|--------------------------------------|
| I              | Núcleo       | ARNr de 18S, 5,8S y 28S     | Insensible                           |
| II             | Nucleoplasma | Precursores de ARNm y ARNhn | Intensa inhibición                   |
| III            | Nucleoplasma | ARNt y ARNr 5S              | Inhibición por altas concentraciones |

través del ARNm son transcritos por el complejo ARN polimerasa II, que contiene al menos 6 factores de transcripción basal (TFII), A, B, D, E, F y H. Se cree que su ensamblaje y el inicio de la transcripción se producen del siguiente modo (fig. 6.23):

- TFIID reconoce y se une a la caja TATA. TFIID consta de TBP (proteína de unión a TATA) y de numerosos TAF (factores asociados a TBP).
- TFIIA se une al TFIID y al ADN, lo que estabiliza la interacción.
- TFIIB se une al TFIID y se recluta el complejo TFIIF-ARN Pol II.
- Se cree que TFIIF, que tiene actividad helicasa, ayuda a exponer la cadena molde del ADN.
- TFIIE se une y recluta a TFIIH para formar parte del complejo.
- TFIIH fosforila a la Pol II.
- Pol II se libera del complejo y comienza la transcripción.

Si el complejo de transcripción únicamente contiene los seis factores de transcripción basales señalados anteriormente, el nivel de transcripción es bajo. Los niveles fisiológicos de transcripción requieren la presencia de potenciadores. Se trata de elementos que actúan en *cis* que pueden localizarse a muchas kilobases de distancia del inicio de la transcripción en sentido 5' o 3'. Los potenciadores se unen mediante proteínas transactivadoras que actúan en *trans*, que son entonces capaces de asociarse con el complejo de la polimerasa para aumentar el nivel de transcripción (fig. 6.24).

Dado que la expresión de los transactivadores es específica de tejido, los amplificadores facilitan el control específico de tejido de la expresión de los genes en los organismos pluricelulares. De forma similar, la transcripción de un gen puede ser disminuida de modo específico de tejido por la presencia de silenciadores (elementos que actúan en *cis*) y proteínas represoras (elementos que actúan en *trans*).

### Elongación

La ecuación general es igual que la descrita para la extensión en procariotas.



Sin embargo, el transcrito es modificado mientras todavía se está transcribiendo, mediante la adición de una cubierta en posición 5' (v. después), lo que no se produce en procariotas.

La longitud media del transcrito primario de ARN (ARNhn) es de unos 7.000 nucleótidos y es mucho mayor que la media de los transcritos de procariotas y, además, es mayor que los predichos 1.200 nucleótidos necesarios para codificar una proteína media de 400 aminoácidos. Esta discrepancia refleja la presencia de intrones, que no se encuentran en los transcritos de procariotas.

### Terminación

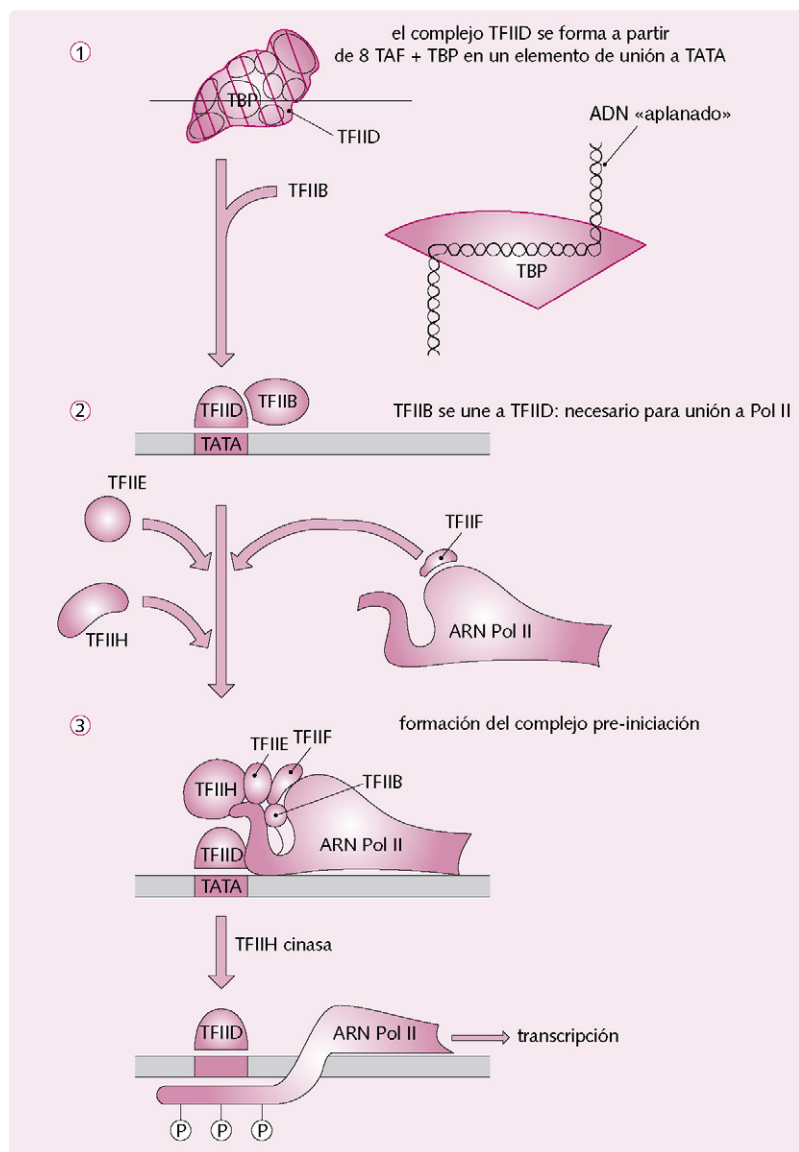
A diferencia de los procariotas, los genes eucariotas no tienen secuencias de terminación evidentes. En su lugar, la ARN polimerasa continúa transcribiendo hasta 1.000-2.000 nucleótidos más respecto al punto en el que estará el extremo 3' del ARNm maduro. El extremo 3' real está determinado por la escisión del transcrito en una secuencia AAUAAA muy conservada, que puede producir el extremo 3' del mensaje en el que se añadirá una cola poliA (v. pág. 108). Se cree que esta secuencia es relevante, pues cuando se elimina la secuencia correspondiente del ADN molde, no se produce un ARNm maduro.

### Procesamiento postranscripcional en eucariotas

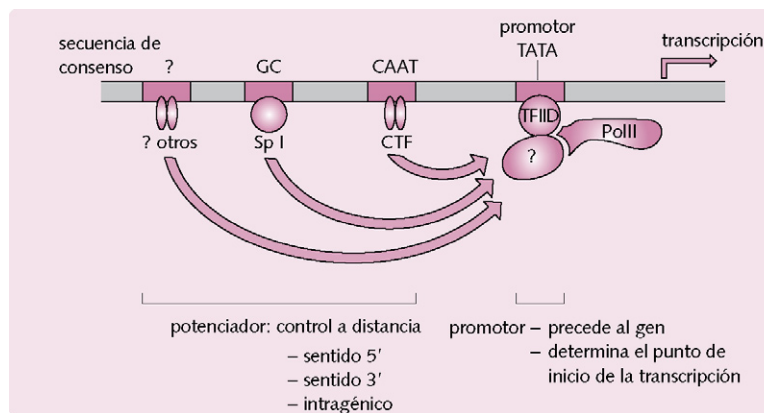
#### Adición de una cubierta en 5'

Es una modificación muy precoz que se produce poco después del inicio de la transcripción. Se añade enzimáticamente una cubierta, una 7-metilguanósina, al extremo 5' de la molécula de ARN mediante un enlace específico 5'-5' (fig. 6.25). Se cree que tiene cuatro funciones principales:

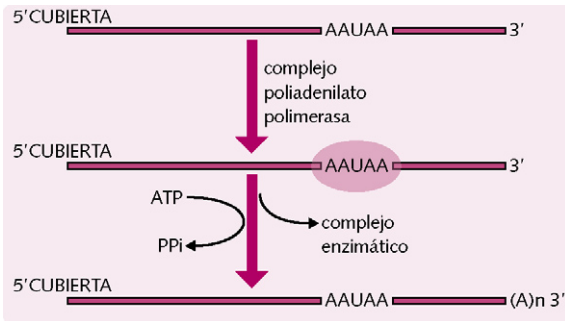
1. Protege el ARNm de ataques enzimáticos.
2. Ayuda en el corte y empalme de los fragmentos (es decir, en la retirada de los intrones del ARNhn).



**Fig. 6.23** Iniciación de la transcripción con la ARN polimerasa II de los eucariotas. En el estadio final, TFIIF fosforila aminoácidos en la cola de la ARN Pol II, que reduce su afinidad por TAF y libera ARN Pol II para la transcripción. A, adenina; T, timina; TAF, factor asociado a TATA; TBP, proteína de unión a TATA: una proteína en forma de «silla de montar» que desenrolla la hélice de ADN; TF, factor de transcripción.



**Fig. 6.24** Control jerárquico de la expresión génica en eucariotas. Los niveles fisiológicos de expresión dependen de la interacción entre la polimerasa y las proteínas transactivadoras y represoras. Existe homología entre las secuencias TATAAT y TATA de eucariotas. Ambas forman el sitio del complejo de iniciación de la transcripción. A, adenina; C, citosina; G, guanina; T, timina.



**Fig. 6.25** Poliadenilación del ARNm. La escisión se produce en el lugar de la poliA, que suele estar 10-35 nucleótidos en sentido 3' respecto a la señal 5' poliA (AAUAAA). A continuación, la poliA polimerasa añade varios cientos de nucleótidos A al extremo 3' del ARNm.

3. Estimula la traducción del ARNm.
4. Regula la exportación nuclear (mediante el complejo de unión a la cubierta).

### Poliadenilación

Aunque la ARN polimerasa continúa la transcripción del ADN, el transcrito es cortado por la actividad endonucleasa de la poliadenilato polimerasa unos 10-30 nucleótidos en dirección 3' respecto a la señal de poliadenilación (AAUAAA). El corte proporciona una terminación bien definida. A partir del adenosintrifosfato (ATP), el complejo poliadenilato polimerasa (fig. 6.25) genera una cola poli A de 50-250 nucleótidos. El grado de poliadenilación se correlaciona con la semivida de la molécula de ARNm. Por lo general, cuanto más larga es dicha cola, más estable es el ARNm y mayor será su semivida.

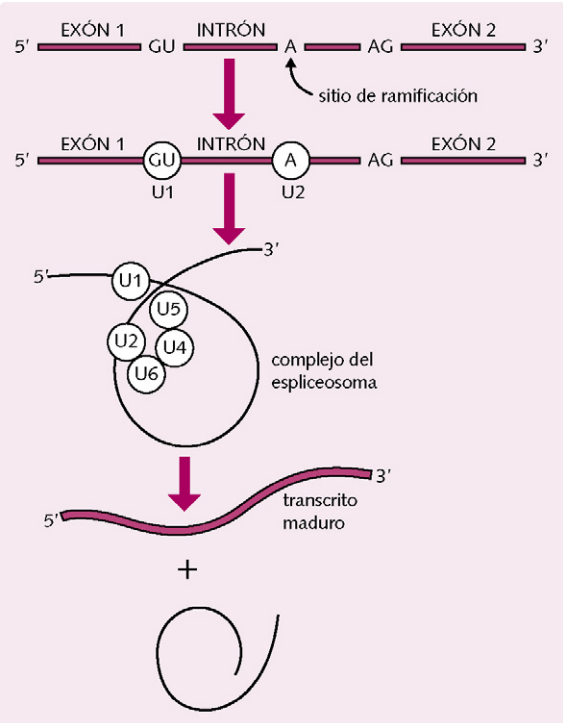
### Corte y empalme

Los ARNhn son los transcritos primarios del ADN genómico. La producción de ARNm maduro en eucariotas a partir de ARNhn implica un proceso denominado corte y empalme de genes. Consiste en la retirada de los intrones no codificantes y en la unión de los exones intercalados, proceso facilitado por un complejo de ribonucleoproteína denominado espliceosoma, que se ensambla inmediatamente después de que la secuencia de intrones haya sido transcrita. El espliceosoma consta de:

- Una estructura central constituida por tres subunidades denominadas ribonucleoproteínas nucleares pequeñas o snRNP, formadas por ARN y proteínas. Hay 4 clases principales de snRNP que se denominan según su ARNsn asociado, U1, U2, U5 y U4/U6.
- Factores de corte y empalme no snRNP y un ARNhn.

Los autoanticuerpos contra las proteínas snRNP se han implicado en varias enfermedades autoinmunitarias. Los componentes de las snRNP U1, U2 y U4-U6 son objetivos antigénicos de la respuesta del antígeno anti-Smith (Sm), presente en alrededor del 30% de todos los pacientes con lupus eritematoso sistémico. Los autoanticuerpos contra las proteínas específicas de snRNP U1 (anti-nRNP) se observan de forma específica en la enfermedad mixta del tejido conjuntivo. Tanto los antígenos Sm como los nRNP son necesarios para el procesamiento postranscripcional normal del ARN premensajero, con el fin de escindir los intrones.

El proceso de corte y empalme depende de la existencia de secuencias consenso en los intrones del ARNhn que son reconocidas por los componentes del espliceosoma (fig. 6.26):



**Fig. 6.26** Corte y empalme del ARN mediados por espliceosoma. La primera etapa de la reacción produce la rotura del enlace fosfato en el límite del exón-intrón en 5' y su unión con la adenina en el sitio de ramificación. En la segunda etapa, el enlace fosfato del límite exón-intrón 3' se escinde, tras lo que vuelve a formarse un enlace fosfato entre el nucleótido terminal del primer exón y el primer nucleótido del segundo exón.



- Los dos primeros nucleótidos del intrón son siempre GU, a los que se une U1 para formar el sitio donante del empalme.
- Un nucleótido «A» localizado aproximadamente a 30 nucleótidos desde el extremo 3' del intrón se une a U2 y forma el punto de ramificación.
- Los dos últimos nucleótidos del intrón son siempre AG, y se unen a U5 para formar el sitio aceptor del empalme.

Hay que indicar que las secuencias de ARN contienen muchas secuencias GU y AG que no se usan en el corte y empalme. El motivo de esto no se comprende del todo.

La unión de snRNPs al intrón provoca la formación de un bucle. La reacción de corte y empalme se produce entonces en dos etapas, la primera es la liberación del primer exón y la segunda la liberación del segundo exón (fig. 6.26):

- El nucleótido del sitio de ramificación ataca al sitio donante y lo corta, de modo que el extremo 5' del intrón queda unido covalentemente al nucleótido adenina en el sitio de ramificación, formando una estructura con forma de bucle.
- El extremo 3'-OH del primer exón (generado en la reacción anterior) se añade al comienzo de la secuencia del segundo exón, cortando el ARN en el sitio que acepta el empalme.

Finalizada la reacción, los dos exones se unen y la secuencia intrónica se libera en forma de lazo.

## Comparación de la transcripción en procariotas y eucariotas

En la figura 6.27 se compara la transcripción en procariotas y en eucariotas.

## Regulación de la transcripción en eucariotas

La regulación transcripcional en eucariotas es mucho más compleja que la de los procariotas (v. cap. 1). Aunque la dotación de ADN en todos los tipos celulares eucariotas es la misma, los genes que se expresan varían enormemente. Las diferencias en la estructura de la cromatina entre los distintos tipos celulares determinan la expresión de los activadores y represores transcripcionales específicos. Éstos se unen a los potenciadores y silenciadores respectivamente, e influyen en los niveles de transcripción de los genes individuales, de forma específica de tejido.

Incluso en la eucromatina activa, la expresión de los genes está regulada según las necesidades

del organismo en su totalidad. De este modo, las cascadas de transmisión de señales iniciadas por las hormonas en respuesta a cambios en el ambiente externo modificarán en última instancia la expresión de los genes. De forma parecida, los cambios en el ambiente celular interno pueden variar la expresión de genes (p. ej., la acumulación de daños del ADN desencadenará la expresión de genes de apoptosis).

### Mecanismos epigenéticos

Cuando un tipo celular específico se replica, las células hijas conservan las características estructurales de los progenitores celulares. Esto sugiere que los cambios de la estructura de la cromatina iniciados durante la diferenciación pueden ser transmitidos. Los mecanismos epigenéticos son aquellos que ejercen una influencia heredable sobre la actividad de un gen y que no se acompañan de cambios en la secuencia del ADN. Los ejemplos incluyen la modificación y la metilación de histonas (v. pág. 101).

## TRADUCCIÓN Y SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN EUCARIOTAS

La traducción es la biosíntesis de polipéptidos dirigida por el ARNm. Es un proceso complejo que implica varios cientos de macromoléculas.

### El código genético

En el proceso de traducción del ARNm a la proteína, los aminoácidos están codificados por grupos de tres bases llamados codones. Como los ácidos nucleicos contienen cuatro bases, hay  $4^3$  (64) codones posibles. En la mayoría de los organismos vivos se observa el mismo código genético no solapante (fig. 6.28), por lo que se dice que es universal. De los 64 codones posibles, el código genético consta de 61 codones codificantes de aminoácidos y de tres codones de terminación, que interrumpen el proceso de traducción.

Puesto que hay 61 codones codificantes de aminoácidos y sólo 20 aminoácidos utilizados habitualmente en la síntesis de los polipéptidos, una gran proporción de los codones podría considerarse redundante. Sin embargo, el código genético está degenerado, lo que significa que cada aminoácido está codificado por más de un codón. Por ejemplo, los codones GGU, GGC, GGA y GGG codifican el aminoácido glicina.

Los codones del transcrito de ARNm son reconocidos por las moléculas de ARNt «anticodón» de 3 nucleótidos cargadas con el aminoácido

**Fig. 6.27** Comparación de la transcripción en procariotas y eucariotas. A, adenina; C, citosina; G, guanina; T, timina; U, uracilo.

| <b>Fig. 6.27</b> Comparación de la transcripción en procariotas y eucariotas |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                              | <b>Procariota</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                      | <b>Eucariota</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Lugar de la transcripción                                                    | Citoplasma                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Núcleo:<br>5,8S/18S/28S ARNr en el nucléolo<br>5S ARNr, ARNt, ARNm en el nucleoplasma                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| ARN polimerasa                                                               | Especie única: ARNP ( <i>E. coli</i> ); gran holoenzima; la enzima central consta de cuatro subunidades: $\alpha 2\beta\beta'$                                                                                                                                                                         | Tres ARN polimerasas en el núcleo: Pol I transcribe el ARNr; Pol II, el ARNm; Pol III, el ARNr y el ARNt; consta de dos grandes subunidades con homología respecto a las subunidades $\beta$ procariotas y de un complejo grupo de aproximadamente 12 pequeñas subunidades (p. ej., el empalme de Pol II se inicia con la unión de TFIID al promotor) |
| Iniciación                                                                   | La subunidad S se asocia con la enzima central y facilita la unión al promotor                                                                                                                                                                                                                         | Empalme complejo de proteínas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Terminación                                                                  | El ARN forma una horquilla estable, entre la región rica en A–T y la región con abundante G–C; a continuación, el emparejamiento débil de bases entre ARN poli(U) y el ADN favorece la disociación; el factor $\rho$ es una enzima que facilita la terminación de la transcripción con o sin horquilla | La finalización es imprecisa y se desconoce su señal                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Procesamiento postranscripcional                                             | El ARNm requiere poca o ninguna modificación                                                                                                                                                                                                                                                           | ARNhn = precursor de ARNm: cubierta metil 5' añadida durante la transcripción; extremo 3' escindido en el punto AAUAAA y adición de una cola poli(A); intrones eliminados por escisión                                                                                                                                                                |
| ARNm                                                                         | Policistrónico: cada copia puede codificar más de un polipéptido                                                                                                                                                                                                                                       | Monocistrónico: puede codificar sólo un polipéptido                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

apropiado. Los codones que difieren en la tercera base pueden ser reconocidos por el mismo ARNt, mientras que los que difieren en la primera o segunda bases no. La hipótesis del «bamboleo» trata de explicar esto sugiriendo que la tercera base en los anticodones del ARNt permite un cierto juego (o «bamboleo»), y de este modo puede unirse a varias bases.

Tres codones (UAA, UAG y UGA) no son reconocidos por los ARNt y se denominan codones de parada. Marcan el final de un polipéptido y la señal para que el ribosoma cese la síntesis.

### ADN mitocondrial y código genético

La mitocondria contiene su propio ADN, que es diferente al del resto de la célula. El ADN de la mitocondria humana consta de 16kb de ADNbc circular. Codifica lo siguiente:

- 22 tipos de ARNt mitocondrial (mt).
- Dos tipos de ARNr mt.
- 13 proteínas sintetizadas por la propia maquinaria de síntesis proteica de la mitocondria. Todas ellas son subunidades de la vía de la fosforilación oxidativa.

**Fig. 6.28** Código genético estándar

| Primera base (5') | Segunda base |         |          |          |  |  | Tercera base (3') |
|-------------------|--------------|---------|----------|----------|--|--|-------------------|
|                   | U            | C       | A        | G        |  |  |                   |
| U                 | UUU phe      | UCU ser | UAU tyr  | UGU cys  |  |  | U                 |
|                   | UUC phe      | UCC ser | UAC try  | UGC cys  |  |  | C                 |
|                   | UUA leu      | UCA ser | UAA stop | UGA stop |  |  | A                 |
|                   | UUG leu      | UCG ser | UAG stop | UGG trp  |  |  | G                 |
|                   |              |         |          |          |  |  |                   |
|                   |              |         |          |          |  |  |                   |
| C                 | CUU leu      | CCU pro | CAU his  | CGU arg  |  |  | U                 |
|                   | CUC leu      | CCC pro | CAC his  | CGC arg  |  |  | C                 |
|                   | CUA leu      | CCA pro | CAA gln  | CGA arg  |  |  | A                 |
|                   | CUG leu      | CCG pro | CAG gln  | CGG arg  |  |  | G                 |
|                   |              |         |          |          |  |  |                   |
|                   |              |         |          |          |  |  |                   |
| A                 | AUU ile      | ACU thr | AAU asn  | AGU ser  |  |  | U                 |
|                   | AUC ile      | ACC thr | AAC asn  | AGC ser  |  |  | C                 |
|                   | AUA ile      | ACA thr | AAA lys  | AGA arg  |  |  | A                 |
|                   | AUG met      | ACG thr | AAG lys  | AGG arg  |  |  | G                 |
|                   |              |         |          |          |  |  |                   |
|                   |              |         |          |          |  |  |                   |
| G                 | GUU val      | GCU ala | GAU asp  | GGU gly  |  |  | U                 |
|                   | GUC val      | GCC ala | GAC asp  | GGC gly  |  |  | C                 |
|                   | GUA val      | GCA ala | GAA glu  | GGA gly  |  |  | A                 |
|                   | GUG val      | GCG ala | GAG glu  | GGG gly  |  |  | G                 |
|                   |              |         |          |          |  |  |                   |
|                   |              |         |          |          |  |  |                   |

**Fig. 6.28** Código genético estándar. A, adenina; C, citosina; G, guanina; T, timina; U, uracilo. Para encontrar qué codón codifica un aminoácido concreto, primero selecciona la base 5' (columna de la izquierda). Posteriormente, selecciona la columna que corresponde a la segunda posición de la base. Lee hacia abajo buscando la base del extremo 3' (columna de la derecha) y localiza el aminoácido en la columna correspondiente. (Adaptada de Nussbaum, McInnes y Willard, 2001.)

En la figura 6.29 se muestran las diferencias entre el código del ADN de la mitocondria y del ADN nuclear. El emparejamiento codón/anticodón muestra un mayor «bamboleo» que en el proceso que se origina en el núcleo. Esto es posible gracias a secuencias poco frecuentes de ARNt mt, tales como ARNt<sup>ser</sup> mt, que carece de un brazo D.

## Síntesis de proteínas en eucariotas

La síntesis de proteínas es muy similar a la de procariotas (v. cap. 1), pero hay más factores involucrados. En la figura 6.30 se compara la traducción en eucariotas y en procariotas.

**Fig. 6.29** Variaciones entre el código genético estándar y el de la mitocondria

|         | Estándar | Mitocondria de los mamíferos |
|---------|----------|------------------------------|
| UGA     | Stop     | Trp                          |
| AUA     | Ile      | Met (señal de inicio)        |
| CUN     | Leu      | —                            |
| AGA/AGG | Arg      | Stop                         |
| CGG     | Arg      | —                            |

**Fig. 6.29** Resumen de las variaciones entre el código genético estándar y el de la mitocondria. N, uno de los cuatro nucleótidos.

## Iniciación

El mecanismo que subyace a la iniciación de la traducción en las células eucariotas no se conoce en detalle. Por lo general, hay dos formas por las que las subunidades ribosómicas pueden alcanzar el codón AUG de iniciación.

1. Iniciación dependiente de cubierta mediante un ribosoma de rastreo (fig. 6.31).
2. Iniciación independiente de cubierta por la presencia de un sitio interno de entrada del ribosoma (IRES) en la UTR 5' (fig. 6.31).

Se cree que la mayoría de la iniciación de la traducción en eucariotas es dependiente de cubierta e implica el rastreo ribosómico de la región no traducida 5' (UTR-5') en busca de un codón AUG de comienzo de la iniciación. Tanto la proximidad a la cubierta como los nucleótidos que rodean al codón AUG de iniciación pueden influir en la eficacia del reconocimiento del sitio de iniciación durante el proceso de rastreo. Si el sitio de reconocimiento es de mala calidad, la subunidad ribosómica de rastreo (40S) ignorará y pasará por alto un posible AUG de iniciación, fenómeno denominado escape del rastreo (*leaky scanning*). Por tanto, la iniciación no siempre se restringe al codón AUG más cercano al extremo 5'. Como los procariotas, el ARNt iniciador eucariota lleva un residuo metionina. Sin embargo, a diferencia de ellos, este residuo no está formilado.

**Fig. 6.30** Comparación entre la traducción en los procariotas y en los eucariotas

|                      | Procariotas                                                                                                                                                                                                                                                        | Eucariotas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ribosoma             | Subunidad grande 50S, subunidad pequeña 30S, ribosoma completo 70S                                                                                                                                                                                                 | Subunidad grande 60S, subunidad pequeña 40S, ribosoma completo 80S                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Iniciación           | Tres factores de iniciación llamados IF-1, 2, 3; el ARNt iniciador lleva f-Met (metionina formilada); codón de inicio AUG; la secuencia Shine-Dalgarno precede al punto de inicio en el ARNm; se une a una secuencia complementaria en la subunidad S del ribosoma | Más de diez factores de iniciación con múltiples subunidades llamadas eIF («e» de eucariota); el ARNt iniciador transporta Met (no N-formilada); el codón de comienzo es AUG; ausencia de secuencia Shine-Dalgarno; la cubierta de ARNm 5'-metilada puede tener un punto de unión en la subunidad S del ribosoma que guía al complejo de traducción hasta el punto de inicio |
| Tipo del código ARNm | Policistónico (el ARNm codifica a menudo más de una proteína)                                                                                                                                                                                                      | Monocistónico (el ARNm siempre codifica una sola proteína)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Elongación           | Factores de elongación denominados EF-Tu, EF-Ts y EF-G                                                                                                                                                                                                             | EF-Tu y EF-Ts son reemplazados por un solo factor, eEF-1; EF-G es reemplazado por eEF-2                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Terminación          | Tres factores liberados RF-1, 2, 3: RF-3 se une a GTP y el complejo formado estimula la unión de RF-1 y 2 al ribosoma; la hidrólisis del GTP desencadena el desempalme del complejo                                                                                | Factor de liberación único, eRF, que se une al ribosoma con GTP; la hidrólisis del GTP desencadena la liberación de RF del ribosoma                                                                                                                                                                                                                                          |

**Fig. 6.30** Comparación entre la traducción en los procariotas y en los eucariotas.

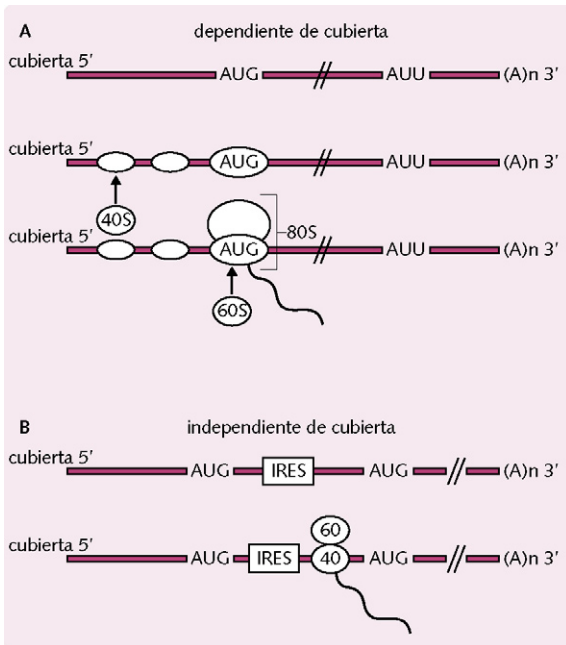
## Elongación

Al igual que en los procariotas, el ciclo de elongación de la traducción añade un aminoácido cada vez a un polipéptido en crecimiento según la secuencia de codones que se encuentra en el ARNm. Este proceso requiere factores de elongación eucariotas (eEF).

La toxina de la difteria es una exotoxina bacteriana, codificada por un gen de un bacteriófago. Se segrega como un único polipéptido y se escinde en dos fragmentos. Un fragmento es necesario para la unión de la toxina a la membrana de la célula huésped, mientras que el otro contiene actividad enzimática (ADP-ribosilación) para la inhibición del factor-2 de elongación (EF-2), lo que inactiva la transferencia de aminoácidos del ARNt a la cadena polipeptídica en crecimiento e inhibe la síntesis proteica. La toxina de la difteria es muy potente en su acción; una única molécula en una célula es mortal, al inactivar millones de moléculas de EF-2.

## Terminación

Los tres codones de terminación (UAA, UGA y UAG) son reconocidos por el mismo factor específico de liberación de eucariotas (eRF), que consta



**Fig. 6.31** Iniciación de la traducción. A) Dependiente de cubierta. La subunidad ribosómica 40S se une al ARNm de forma dependiente de la cubierta 5' y rastrea al ARNm hasta que reconoce el codón de inicio (secuencia AUG). A continuación, la subunidad 60S se une a la 40S de forma dependiente de GTP. B) Independiente de cubierta. La iniciación está mediada por la unión de la subunidad ribosómica 40S a los elementos del sitio interno ribosómico de entrada (IRES).



de dos proteínas (eRF1 y eRF3). La unión de eRF a un codón de terminación produce la liberación del ARNm del ribosoma. A continuación, el ribosoma se disocia en sus dos subunidades constituyentes (40S y 60S) y está listo para reensamblarse en otra molécula y empezar un nuevo ciclo de síntesis proteica (fig. 6.30).

## CONTROL DE LA EXPRESIÓN GÉNICA Y DE LA SÍNTESIS PROTEICA

El control de la síntesis de proteínas es sinónimo del control de la expresión génica. En los procariotas, el control puede producirse al nivel de la transcripción o de la traducción (v. cap. 1). En los eucariotas la situación es más compleja y se ha identificado un total de seis sitios de control (fig. 6.32).

### Enzimas constitutivas, inducibles y reprimibles

Las enzimas constitutivas están presentes en la célula a concentraciones fijas, con independencia de los cambios producidos en el ambiente celular.

Son algunos ejemplos de productos de genes constitutivos de los organismos pluricelulares.

El nivel de expresión de las enzimas sujetas a inducción/represión se ve alterado por el propio ambiente celular. Un determinado agente químico puede inducir la expresión de un gen, mientras que otro puede reprimirla.

Muchas enzimas hepáticas que metabolizan fármacos se inducen o se inhiben por fármacos terapéuticos y por otros compuestos. La subfamilia CYP3A de la enzima P450 es la más abundante de las enzimas citocrómicas hepáticas. Puede inducirse (p. ej., por la fenitoína y la rifampicina) o inhibirse (p. ej., por la eritromicina y la fluoxetina). La inducción de estas enzimas puede aumentar la degradación de los fármacos y disminuir la ventana terapéutica, mientras que la inhibición produce una mayor actividad de los fármacos con la posible toxicidad asociada.

## PROCESAMIENTO POSTRADUCCIONAL DE LAS PROTEÍNAS

### Conceptos

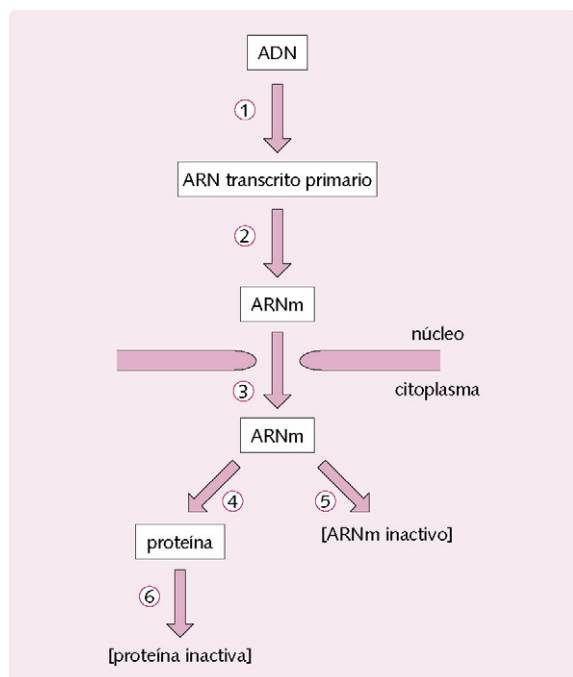
El procesamiento postraduccion es la modificación de las proteínas después de la traducción. Estas modificaciones dotan a la proteína madura de actividad funcional e incluyen la escisión de fragmentos peptídicos y las modificaciones covalentes como glucosilación, fosforilación, carboxilación e hidroxilación de residuos específicos.

Una proteína recién sintetizada puede destinarse a la secreción extracelular, al citoplasma o a los orgánulos, así como a la membrana plasmática, al núcleo o a los lisosomas. Las proteínas son dirigidas a sus destinos apropiados mediante:

- Motivos de la secuencia de aminoácidos conservados (p. ej., el péptido señal y la señal de guiado nuclear).
- Moléculas añadidas por procesamiento postraduccion (p. ej., manosa-6-fosfato para la orientación hacia el lisosoma).

### Péptido señal

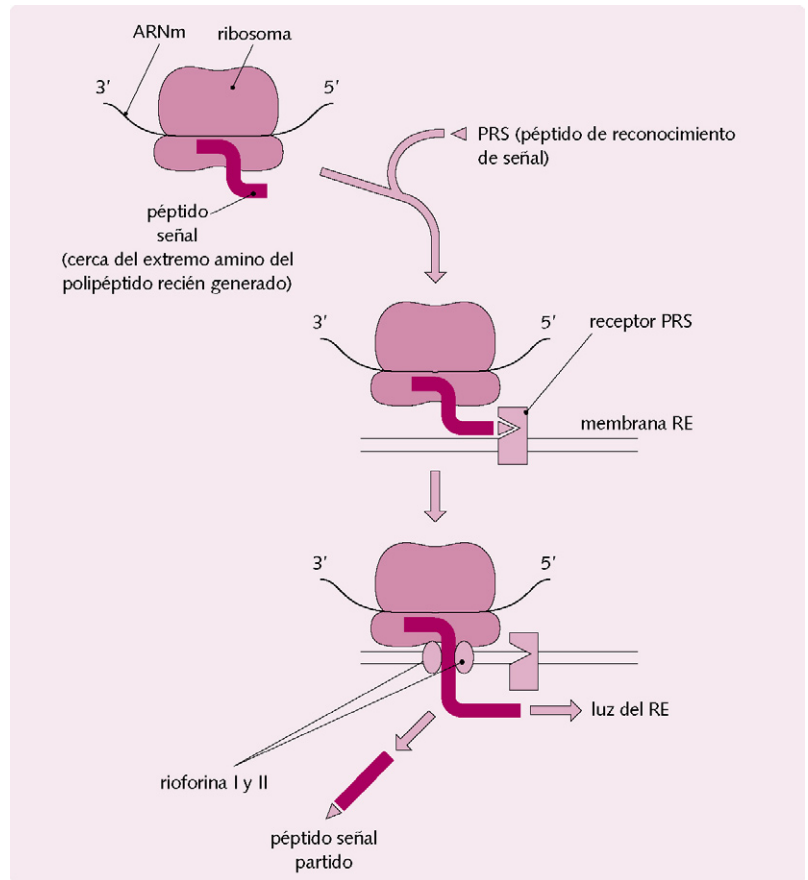
El péptido señal (o secuencia directora) es una secuencia característica de 18-30 aminoácidos hidrófobos, próxima al extremo amino terminal del polipéptido que dirige los polipéptidos no



**Fig. 6.32** Control de la expresión génica en los eucariotas. 1) Control de la transcripción. 2) Procesado de la transcripción. 3) Control del transporte. 4) Control de la traducción por selección de los ribosomas por el ARNm. 5) Control de la degradación del ARNm. 6) Control de la actividad proteica y modificación postraduccion.



**Fig. 6.33** Papel del péptido señal en la translocación dentro de la luz del retículo endoplásmico (RE). El péptido señal se encuentra cerca del extremo amino del polipéptido recién generado. Se asocia con un péptido citoplasmático de reconocimiento de la señal (PRS) y a continuación con un receptor PRS («proteína de atraque») en la membrana del ER. El ribosoma se enclava entonces entre dos proteínas asociadas a la membrana, rioforina I y II, que conducen al polipéptido en desarrollo hasta la luz del RE.



citoplasmáticos a la luz del RE a medida que van siendo traducidos (fig. 6.33).

En el interior de la luz del RE, el polipéptido puede experimentar procesamiento postraduccional específico para cada proteína. Las proteínas destinadas a la secreción extracelular se transportan al aparato de Golgi en vesículas que brotan hacia fuera desde el RE. Aquí puede tener lugar alguna modificación adicional y la proteína de secreción se empaqueta en vesículas que se funden con la membrana plasmática celular, liberando su contenido al exterior.

## Glucosilación de las proteínas

Se produce en la luz del RE o en el aparato de Golgi e implica la adición de un oligosacárido a residuos de aminoácidos específicos. Hay dos tipos de glucosilación, denominadas N-ligada y O-ligada, que emplean glucosiltransferasas específicas:

- **N-ligada:** el oligosacárido se añade al polipéptido por medio de un enlace  $\beta$ -N-glucosídico unido a un residuo de aspartato.
- **O-ligada:** el oligosacárido se añade por medio de un enlace  $\alpha$ -O-glucosídico unido a un residuo de serina o treonina.

La enfermedad de la célula I (mucopolisidosis de tipo II) es una enfermedad por almacenamiento lisosómico secundaria a una deficiencia de manosa-6-fosfato glucosiltransferasa, que es responsable de la glucosilación de las enzimas destinadas al lisosoma. Dado que las enzimas lisosómicas celulares carecen de sus marcadores de reconocimiento para la captación lisosómica, se segregan a la matriz extracelular y los sustratos no digeridos se acumulan en los lisosomas con unas consecuencias patológicas graves, como un retraso del crecimiento rápidamente progresivo y un retraso grave del desarrollo, deformidades esqueléticas y fallecimiento precoz.

La glucosilación es importante para el funcionamiento de algunas proteínas y la correcta compartimentación de otras:

- La glucosilación O-ligada participa en la producción de los antígenos de los grupos sanguíneos.
- La glucosilación N-ligada interviene en el transporte de hidrolasa ácida a los lisosomas y en la producción de anticuerpos maduros.

Otras modificaciones de las proteínas

Las proteínas pueden ser modificadas por (fig. 6.34):

- Fosforilación de los residuos Ser o Tyr, lo que tiende a regular la actividad enzimática (Ser) o de la proteína (Tyr). Las cinasas transfieren grupos fosfato desde el ATP a su residuo correspondiente.
- Sulfatación, que afecta al residuo Tyr. Es importante para la compartimentación (p. ej., al marcar las proteínas que serán exportadas) y para la actividad biológica.
- Hidroxilación de los residuos Lys y Pro. Es fundamental en la producción del colágeno (y de la proteína de la matriz extracelular). La hidroxilación de los residuos Lys y Pro se produce durante la traducción y es esencial para la formación de la triple hélice del colágeno.
- Adición de lípidos a los residuos Cys y Gly, que son necesarios para el anclaje de las proteínas,

como es el caso de los receptores de anticuerpos en la membrana.

- Acetilación de Lys, que puede modificar la carga eléctrica del residuo. En la histona H4, esto altera sus propiedades de unión al ADN.
- Escisión de la molécula, lo que activa algunas enzimas y hormonas.

CICLO CELULAR

Concepto del ciclo celular

El ciclo celular es una serie controlada de fenómenos que culminan en el crecimiento y la división de la célula para dar lugar a dos células hijas. Los fenómenos de este ciclo están ordenados en vías en las que la iniciación de los fenómenos finales, como la división celular, dependen de que se completen con éxito los fenómenos iniciales, como la síntesis de ADN. El ciclo celular consta de cuatro fases distintas (fig. 6.35):

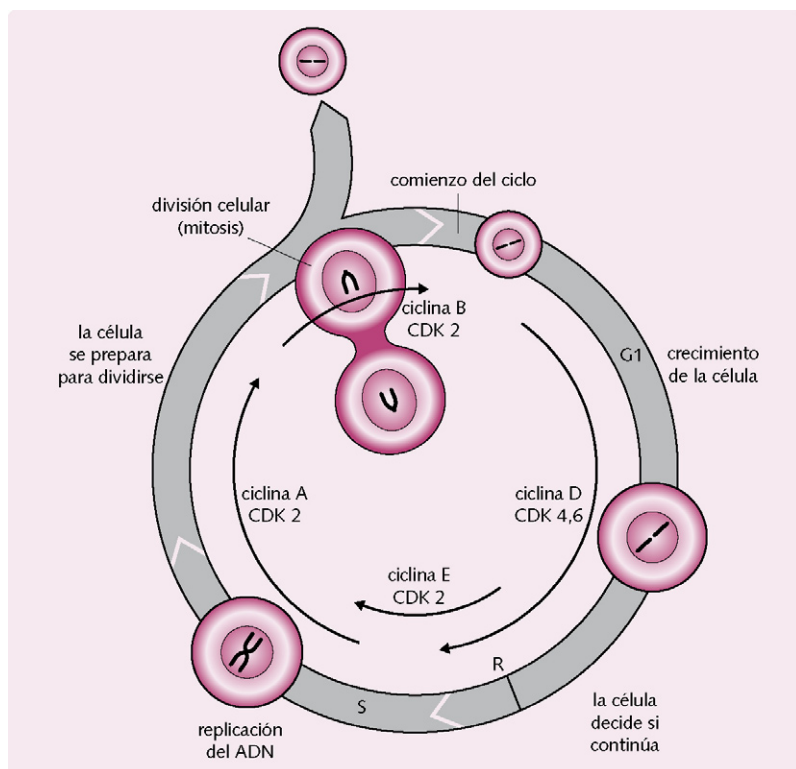
1. La fase G<sub>1</sub> es el intervalo entre la mitosis del ciclo celular previo y la fase de síntesis del ADN del ciclo actual. Contiene el punto de restricción, que indica el inicio del ciclo celular.
2. La fase S es la de síntesis de ADN, durante la que los cromosomas de la célula se replican como preparación para la división celular.

Fig. 6.34 Resumen de algunas modificaciones postraduccion

| Destino    | Función de la proteína | Modificación             | Residuo            | Ejemplo                            |
|------------|------------------------|--------------------------|--------------------|------------------------------------|
| Secreción  | Estructural            | Hidroxilación            | Lys/Pro            | Colágeno                           |
|            | Enzima                 | Rotura por hidrólisis    | (enlace peptídico) | Pepsinógeno → pepsina              |
|            | Hormona                | Rotura por hidrólisis    | (enlace peptídico) | Proinsulina → insulina             |
|            | Factor de coagulación  | Carboxilación            | Glu                | Protrombina → trombina             |
|            | Anticuerpo             | Glucosilación (N-ligada) | Asp                | IgG                                |
| Membrana   | Receptor               | Formación de lípidos     | Gly/Cys            | Receptores de anticuerpos          |
|            | Reconocimiento celular | Glucosilación (O-ligada) | Ser                | Antígenos de los grupos sanguíneos |
|            | Activación de receptor | Fosforilación            | Tyr                | Receptor del factor de crecimiento |
| Citoplasma | Enzima                 | Fosforilación            | Tyr/Ser            |                                    |
| Lisosoma   | Enzimas hidrolíticas   | Glucosilación (N-ligada) | Asp                | Hidrolasas ácidas                  |

Fig. 6.34 Resumen de algunas modificaciones postraduccion.

**Fig. 6.35** Ciclo celular. Véase el texto para la explicación de cada fase.



3. La fase  $G_2$  es el período entre la finalización de la síntesis de ADN y la decisión de dividirse.
4. La fase M, o mitosis, es la de división celular y da lugar a la producción de dos células hijas.

En su conjunto, las fases  $G_1$ , S y  $G_2$  constituyen la interfase, o intervalo entre las divisiones durante las que la célula realiza sus funciones y se prepara para la mitosis. Las células que no se dividen, como las neuronas, no experimentan este ciclo y permanecen en estado de reposo, denominado  $G_0$ .

## Regulación del ciclo celular

La progresión a través del ciclo está regulada por la actividad de las ciclinas, que son proteínas que controlan la transición de una fase a otra (fig. 6.35). La actividad de las ciclinas está modulada por los cambios de sus concentraciones intracelulares, que a su vez están controladas a nivel de la expresión del ARNm y a nivel proteico. Si hay un daño del ADN y problemas estructurales, intervienen unas proteínas denominadas «proteínas de punto de control» para detener el ciclo celular y permitir la reparación del ADN, lo que evita la propagación de las mutaciones.

## Cinasas dependientes de ciclinas

La progresión anterógrada del ciclo celular está controlada por una serie de proteincinasas, cuya actividad aumenta y disminuye en distintas fases del ciclo. Estas proteincinasas son complejos no covalentes de una proteína activadora denominada ciclina y de una subunidad catalítica, denominada cinasa dependiente de ciclina (CDK). Las CDK activadas son serin/treonincinasas que estimulan la progresión del ciclo celular fosforilando proteínas específicas de la célula, necesarias para el paso al siguiente estadio. Por ejemplo:

- En el comienzo de la profase de la mitosis, se inicia una ruptura de la membrana nuclear por la fosforilación de las láminas que forman parte del esqueleto nuclear.
- La condensación del cromosoma al principio de la mitosis se inicia por la fosforilación de la histona H1, una proteína asociada al núcleo.
- La transición  $G_1$ -S se inicia por la fosforilación dependiente de CDK de la proteína Rb. Esta proteína no fosforilada forma un complejo con el factor de transcripción E2F. Tras la fosforilación de Rb se libera E2F, que activa la transcripción de los genes necesarios para la transición  $G_1$ -S.

Las ciclinas humanas se designan con las letras A, B, D y E. Cada una se acumula en un momento diferente del ciclo celular (fig. 6.36).

El factor promotor de la maduración (MPF) es un ejemplo de complejo ciclina-CDK. Inicia la transición desde  $G_2$ -M y está controlado por la ciclina B. Un pequeño aumento de los niveles de ciclinas produce un gran aumento en la actividad de MPF cinasa, que promueve la condensación del cromosoma.

Las CDK están sujetas a un control negativo por inhibidores de CDK (CKI). Cuando las concentraciones de ciclinas superan un umbral, los CKI ya no pueden ejercer su efecto. También se utilizan para detener de forma temporal el ciclo en respuesta al daño del ADN y a las condiciones ambientales desfavorables. Algunos ejemplos de familias de inhibidores de CDK son:

- INK4: inhibe a CDK4 y CDK6.
- CIP/KIP: inhibe las CDK de  $G_1$ /S y las CDK de la fase S además de activar la ciclina D-CDK4.

La actividad de las CDK, y por tanto la progresión a través del ciclo celular, está influida además por varias vías de transmisión de señales extracelulares que facilitan la división celular coordinada en los organismos pluricelulares.

## Regulación extracelular del ciclo celular

Un mitógeno es un agente que induce la mitosis. Además de la actividad de las ciclinas, el ciclo celular está influido por otros muchos factores que activan las vías de la proteincinasa activada por mitógenos (MAPK), entre los que se incluyen:

- Factores de crecimiento.
- Hormonas.
- Interacciones intercelulares.

La enorme variedad de factores implicados permite que el crecimiento y la replicación celulares se controlen de forma muy precisa, respondiendo a cam-

bios en el medio. Los factores de crecimiento son sustancias solubles que pueden actuar localmente o a mucha distancia y afectan al crecimiento celular. Los factores de crecimiento, al igual que las hormonas y las interacciones intercelulares, ejercen su función mediante la unión con sus correspondientes receptores diana específicos de la superficie celular. A su vez, esto inicia la fosforilación de sus correspondientes proteínas celulares en una cascada que, finalmente, provoca cambios en la expresión de los genes.

## Puntos de control

El ciclo celular tiene muchos puntos de control donde se puede regular la progresión a lo largo del mismo. Entre otros, pueden citarse:

- El punto de restricción, que se produce durante  $G_1$ . En este punto, la célula se vuelve independiente de los estímulos mitógenos externos y se compromete a completar un ciclo de división. La célula no progresará de este punto si dispone de una cantidad inadecuada de nutrientes o de factores de crecimiento.
- El punto de control de la integridad del ADN en  $G_1$ -S asegura que el ciclo previo de división se ha completado y que cualquier daño resultante se ha reparado antes de que se sintetice ADN. Este punto de control es principal lugar de acción de p53 (v. pág. 118).
- El punto de control de la integridad del ADN en  $G_2$ -M se asegura de que la síntesis de ADN y cualquier daño del ADN se haya reparado antes de que se produzca la mitosis.
- El punto de control del ensamblaje del huso asegura que se hayan cumplido los prerequisites para la segregación cromosómica antes de realizar dicha segregación.

## Ciclo celular y cáncer

El cáncer se caracteriza por un crecimiento celular incontrolado. Las células normales están en equilibrio y existe un balance entre la proliferación, la quiescencia y la muerte. Las células malignas pueden tener la capacidad de crecer de forma autónoma y no están sujetas a los controles normales que regulan la división celular.

Los tumores malignos se producen como consecuencia de mutaciones del ADN que provocan un aumento o disminución de la expresión de genes asociados con el control del ciclo celular. Las causas más comunes de alteración de la expresión de los genes son:

- Daño de origen químico (p. ej., por benceno, nitrosaminas).
- Radiación (p. ej., luz ultravioleta).

**Fig. 6.36** Ciclinas y CDK involucradas en la progresión del ciclo celular

| Ciclina | Cinasa     | Función                                                       |
|---------|------------|---------------------------------------------------------------|
| D       | CDK4, CDK6 | Progresión tras el punto de restricción en el límite $G_1$ /S |
| E, A    | CDK2       | Iniciación de la síntesis de ADN al comienzo de la fase S     |
| B       | CDK1       | Transición de $G_2$ a M                                       |

**Fig. 6.36** Ciclinas y cinasas dependientes de ciclinas (CDK) involucradas en el ciclo celular. La ciclina C se ha descubierto recientemente y, junto con CDK8, se cree que regula la transcripción del ARN durante el ciclo celular.

- Integración de ADN vírico en el genoma del huésped.
- Anomalías hereditarias.

El cáncer representa la expansión clonal de una célula en la que se ha producido el suficiente cambio en el ADN genómico como para transformar su fenotipo, desde el normal al de una célula maligna. Habitualmente, en la progresión al cáncer existe una acumulación de mutaciones que, juntas, producen la transformación maligna (v. cap. 8).

Los genes que al mutar se asocian con cáncer pueden clasificarse en cuatro categorías:

1. Los oncogenes (p. ej., *Ras*, *Fos*, *Myc*) son versiones mutadas o activadas de genes celulares normales (protooncogenes) que inducen un crecimiento incontrolado. Con frecuencia, los protooncogenes son componentes de las vías de transmisión de señales celulares (v. cap. 3).
2. Los genes supresores de tumores (p. ej., *p53*, *Rb*, *GAP*) son genes expresados en células normales, cuya pérdida de actividad produce un crecimiento sin inhibición. Muchos de estos genes codifican proteínas que suelen estar implicadas en la regulación de la división y diferenciación celulares.
3. Los genes reguladores de la apoptosis (p. ej., *BCL2*, caspasas) se expresan en las células normales y tienen la función de controlar el proceso apoptótico. Los genes antiapoptosis activados de forma inadecuada pueden estimular el cáncer, al igual que la pérdida de los genes proapoptóticos.
4. Los genes de reparación del ADN (p. ej., *XPA*, *BRCA1*) son necesarios para la integridad del genoma. La incapacidad de reparar el daño del ADN permite que las mutaciones se transmitan a las generaciones celulares posteriores, lo que da lugar a su inmortalización. La inestabilidad genómica es una característica clave de las células tumorales.

Los genes supresores de tumores se encargan de detener el ciclo celular si hay un daño del ADN, para dar tiempo a su reparación. Pueden considerarse como los frenos de un coche.

Los protooncogenes suelen ser responsables de indicar a la célula que se puede dividir. Cuando están mutados o alterados, favorecen de forma inadecuada la división y supervivencia celulares. Pueden considerarse como el acelerador.

Para que se desarrolle un cáncer, se deben quitar los frenos (es decir, mutar un gen supresor tumoral, como *p53*) y después pisar el acelerador (es decir, activar/estimular un gen mitógeno o antiapoptótico, o desactivar/inhibir un gen proapoptótico).



## p53

La proteína p53 es un importante supresor de tumores que ha sido bautizada «guardián del genoma». Su función básica es restringir la entrada de células con daño celular en fase S (es decir, regula la progresión del ciclo celular pasado el punto de restricción). Las células con mutación de p53 no se detienen en fase G<sub>1</sub> y progresan a lo largo del ciclo celular y de la división con el ADN dañado. El gen *p53* se localiza en el cromosoma 17 y codifica una fosfoproteína nuclear de 53 kDa. Se han identificado tres acciones principales de p53:

1. Activador de la transcripción: regulando ciertos genes implicados en la división celular.
2. Como punto de control de G<sub>1</sub> ante un deterioro del ADN: si ha habido una alteración excesiva del ADN (p. ej., daño por luz ultravioleta), este gen inhibe la división celular, dando tiempo para la reparación.
3. Participación en el inicio de la apoptosis (muerte celular programada).

## MITOSIS Y MEIOSIS

### Descripción general de la división celular

La división celular es el proceso por el que una célula, incluido el núcleo, se replica y se divide para producir dos células hijas. Muchos tipos de células somáticas se reponen de forma continua por división celular. Para que cada célula hija sea viable, debe contener una dotación completa de material genético, de modo que se puedan expresar todas sus proteínas en las concentraciones adecuadas.

Además de su papel en la dirección de la síntesis proteica, el ADN permite el paso de información genética entre generaciones sucesivas. Por tanto, en los organismos pluricelulares con reproducción sexual, las células deben tener dos mecanismos de división celular para dar lugar a células hijas diploides y haploides:

- La mitosis es el tipo de división celular que se produce en las células somáticas y da lugar a dos células hijas genéticamente idénticas.
- La meiosis se produce durante la formación de los gametos (esto es, espermatozoides y óvulos). Cada célula hija contiene la mitad de la información genética de la célula progenitora y el entrecruzamiento asegura una redistribución del material genético entre los cromosomas homólogos de cada par.

### Mitosis

Como resultado de una mitosis se forman dos células hijas diploides idénticas.



Mitosis:  $2n \rightarrow 2n$

En la mitosis hay seis fases diferentes (fig. 6.37).

## Profase

La cromatina celular se condensa en la estructura clásica de los cromosomas y cada cromosoma duplicado es identificable como un par de cromátidas hermanas unidas por el centrómero duplicado, pero sin separar. Los centriolos se duplican y migran hacia los polos opuestos de la célula. De forma simultánea, se forma un huso de microtúbulos. Los nucléolos se dispersan.

## Prometáfase

Se caracteriza por la desintegración de la envuelta nuclear y la formación de los cinetocoros, que son puntos de unión entre el cromosoma y el huso, en los centrómeros de los cromosomas.

## Metafase

Los cromosomas se adhieren al huso mitótico en el cinetocoro y se disponen a lo largo del huso, formando la placa ecuatorial. En este momento, los cromosomas muestran la máxima condensación y su mayor grado de visibilidad.

## Anafase

Las cromátidas se separan por los centrómeros y el huso tira de ellas hacia polos opuestos. El final de la anafase está marcado por el agrupamiento de una dotación completa de cromosomas en los polos opuestos de la célula.

## Telofase

Los cromosomas comienzan a desenrollarse, adoptando el estado extendido típico de la interfase. Se rehace la membrana nuclear y reaparecen los nucléolos.

## Citocinesis

Alrededor de la zona media de la célula entre los polos se forma un surco de escisión que divide el citoplasma en dos y, al final, da lugar a la formación de dos células hijas, cada una con una dotación completa diploide de cromosomas.

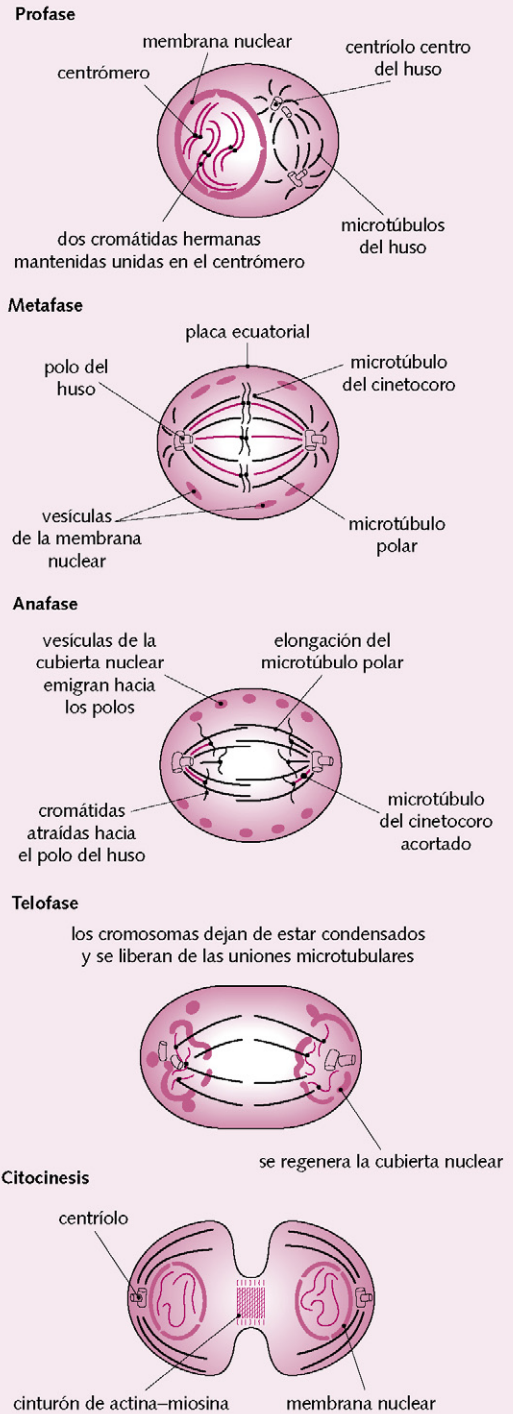


Fig. 6.37 Mitosis. (Adaptada de Stevens y Lowe, 1997.)



Cada cromátida hija de un cromosoma en metafase es una doble hélice, porque ambas cadenas se replicaron en la fase S previa. Por tanto, después de la separación en la anafase mitótica, cada célula hija recibe una copia completa del genoma. (Es un error habitual considerar que las cadenas de la doble hélice se separan en la anafase, en cuyo caso el genoma sólo estaría completo después de la fase S.)

## Meiosis

En la primera división de la meiosis se forman dos células haploides genéticamente diferentes (fig. 6.38). En la segunda división, se duplica cada célula haploide.

Meiosis:  $2n \rightarrow n$

### Profase I

Existen cinco pasos durante los cuales los cromosomas homólogos se aparean e intercambian regiones mediante recombinación homóloga:

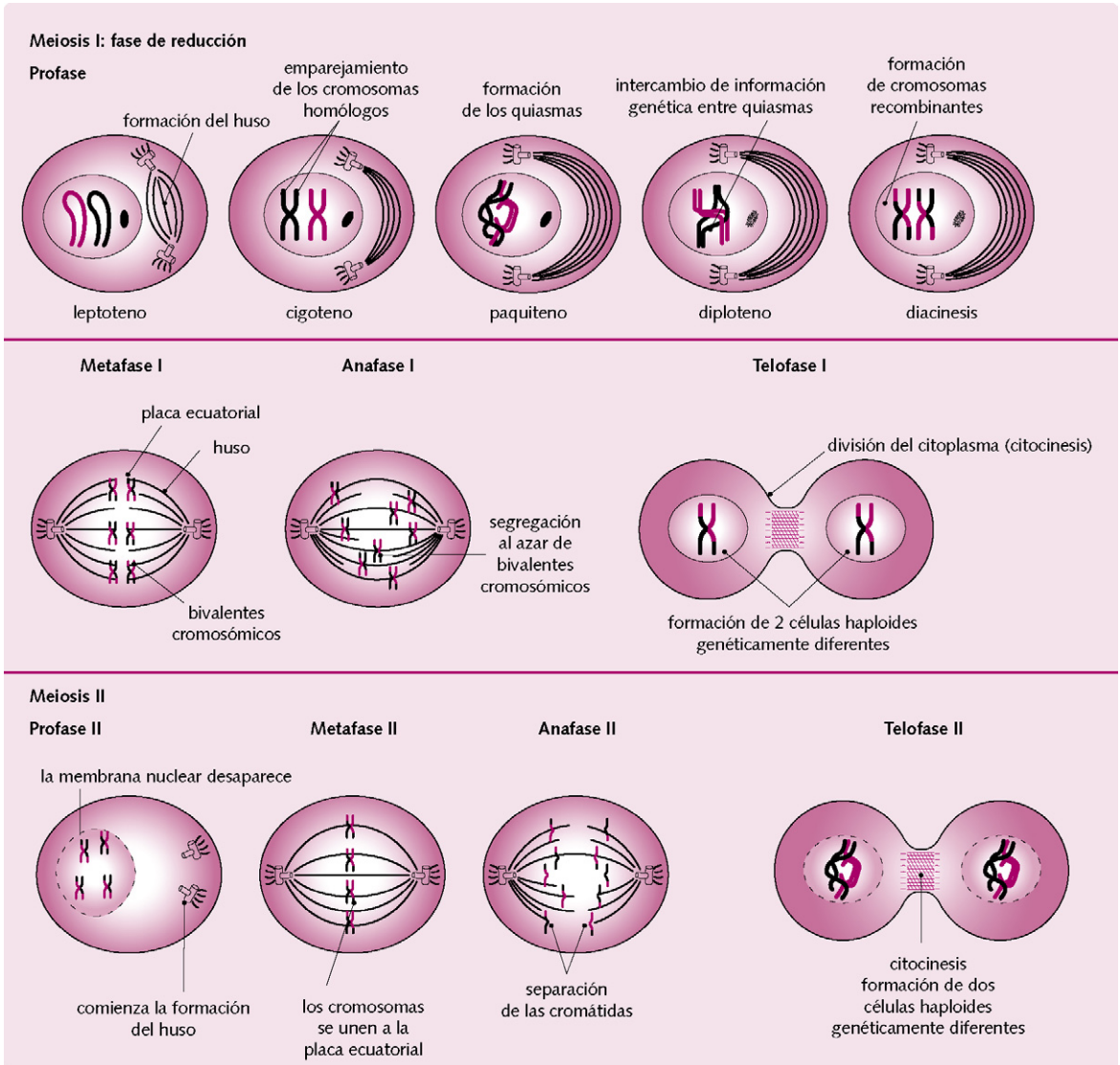


Fig. 6.38 Meiosis. Véase el texto para la explicación de cada fase.

- Leptoteno: se forma el huso.
- Cigoteno: los cromosomas homólogos se aparean, se acortan, se engruesan y forman bivalentes (pares de cromosomas homólogos).
- Paquiteno: comienzan a formarse los quiasmas, que son los puntos en los que las cromátidas no homólogas se asocian entre sí por apareamiento de bases. Se convertirán en los puntos de «sobrecruzamiento» entre las cromátidas.
- Diploteno: intercambio de material genético en los quiasmas y desaparición de la membrana nuclear.
- Diacinesis: se forman los cromosomas recombinantes.

### Metafase I

Los cromosomas se unen al huso (v. metafase mitótica).

### Anafase I

Las cromátidas no se separan y los cromosomas enteros emigran a polos opuestos del huso, de ahí el nombre «división reduccional».

### Telofase I

Se forman dos células haploides genéticamente diferentes.

### Segunda división

La segunda división es como la mitosis, pero implica sólo un número haploide de cromosomas. Las cromátidas se separan en la anafase II.

### Diversidad genética y gametogénesis

En la meiosis existen dos procesos que son vitales para la generación de la diversidad genética:

1. Formación de los quiasmas («sobrecruzamiento»), lo que permite un intercambio aleatorio de material genético entre cromosomas homólogos.
2. Segregación independiente de cromosomas homólogos.

Durante la anafase I, los cromosomas homólogos son segregados independientemente uno del otro. Como el ser humano posee 23 pares de cromosomas homólogos, hay  $2^{23}$  maneras posibles de que los cromosomas puedan segregarse para formar un conjunto haploide.

En el ser humano, la meiosis comienza durante la gametogénesis. En la mujer esto sucede en los ovarios. La primera división meiótica («reduccio-

nal») comienza durante el 5.º mes de la vida embrionaria, pero se detiene en la prometafase y se completa justo antes de la ovulación. La meiosis II tiene lugar después de la ovulación. Por tanto:

- Hay un número fijo de ovocitos.
- Hay un período de detención entre el inicio de la meiosis I y el final de la meiosis II de entre 12 y 45 años.

En la ovogénesis, la meiosis se detiene en prometafase de la meiosis I, con un largo período de latencia (fase de dictioteno). Es probable que este período prolongado provoque una acumulación de efectos de desgaste en el ovocito primario, que dañe la formación del huso de la célula y los mecanismos de reparación, lo que predispone a un error en la separación de los cromosomas en la meiosis I y en la separación de las cromátidas en la meiosis II (no disyunción). La no disyunción en meiosis I se ha implicado en trisomías como los síndromes de Down (trisomía 21), Edward (trisomía 18) y Patau (trisomía 13).

La ovogénesis produce un único ovocito y dos cuerpos polares (fig. 6.39).

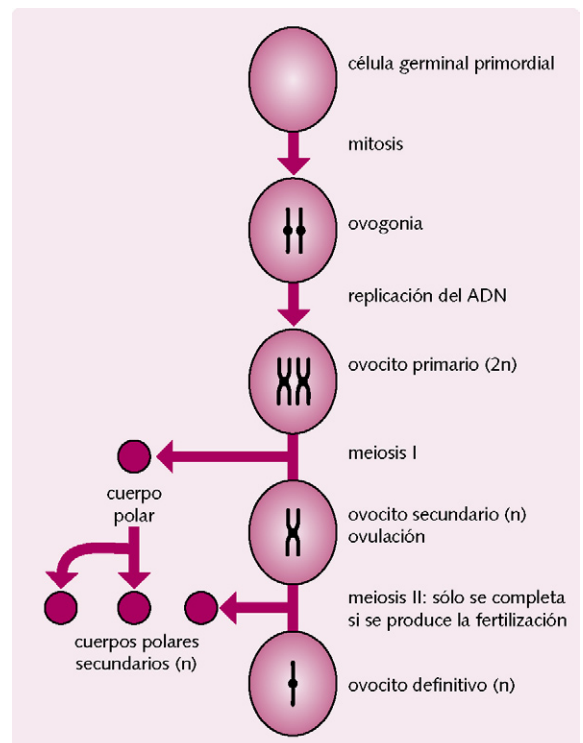


Fig. 6.39 Ovogénesis.

La espermatogénesis se produce en los túbulos seminíferos de los testículos. Tras la madurez sexual, las espermatogonias se multiplican continuamente por mitosis, y después experimentan una meiosis para producir un número ilimitado de espermatozoides (fig. 6.40).

### Endorreduplicación

La endorreduplicación (o endomitosis) es el proceso de replicación repetida del ADN en ausencia de división nuclear y citocinesis (fig. 6.41). Puede generar núcleos enormes, con hasta 16 copias de ADN.

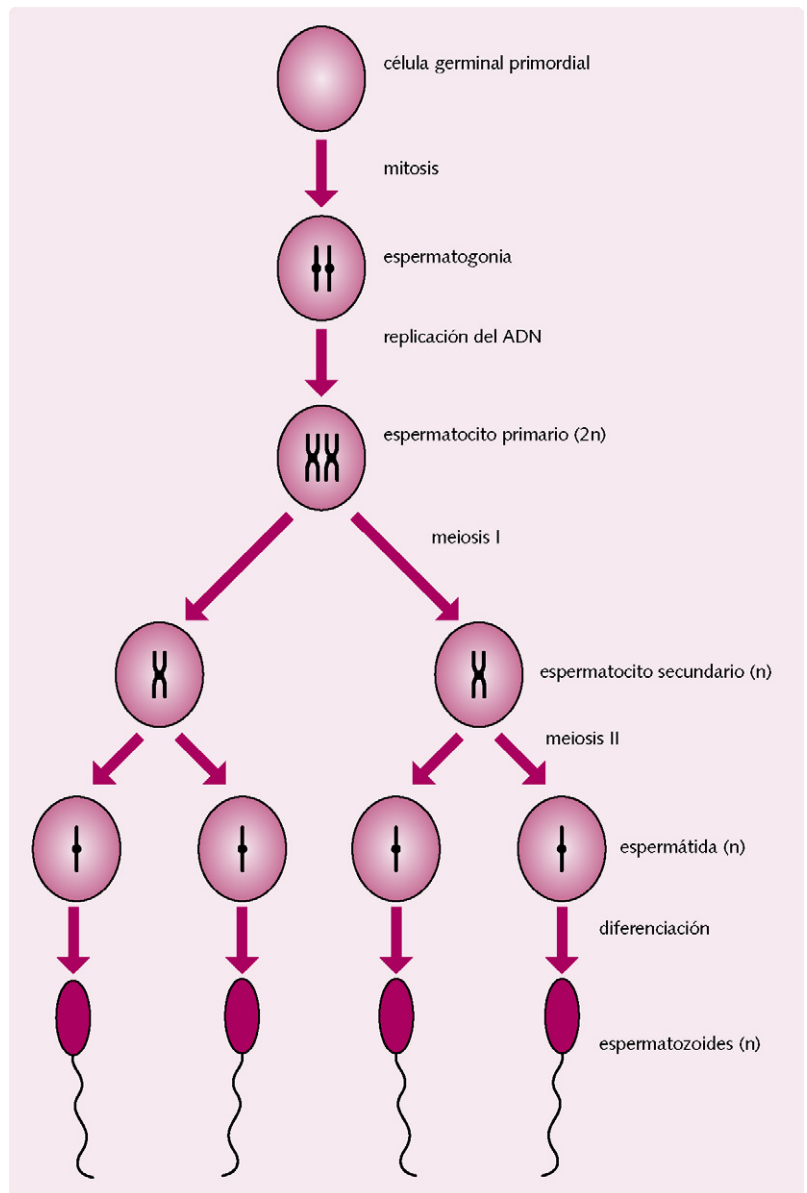
La endorreduplicación se produce en la formación de los megacariocitos, que son células de la médula ósea de las que derivan las plaquetas anucleadas.

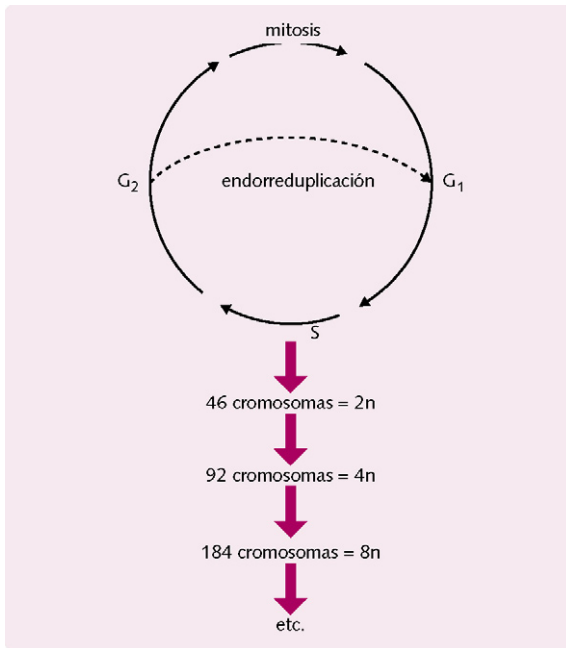
## DAÑO Y REPARACIÓN DEL ADN

### Daño del ADN

El daño del ADN es la introducción de cambios estructurales en la molécula de ADN, como distorsión conformacional de la doble hélice, que

Fig. 6.40 Espermatogénesis.





**Fig. 6.41** Endorreproducción. Duplicaciones cromosómicas sin mitosis entre ellas, lo que produce un aumento del contenido de ADN y del tamaño celular. Los megacariocitos experimentan endorreproducción, con una ploidía promedio de 16n (rango 4n-64n).

interfiere con la replicación y transcripción, y modificaciones de la secuencia, que pueden alterar las pares de bases o dar lugar a la incorporación de una base incorrecta en la cadena de ADN en replicación. El daño se produce con una frecuencia de 1.000-1.000.000 de lesiones moleculares por célula y día y se puede clasificar en dos tipos principales:

1. Endógeno, que está causado por los productos del metabolismo normal, por errores de la replicación del ADN y espontáneamente. Por ejemplo, la adenina y la citosina pueden sufrir desaminación espontánea para producir residuos de hipoxantina y uracilo.
2. Exógeno, causado por agentes externos.

## Mutágenos

Las sustancias que causan daño exógeno del ADN se denominan mutágenos y se pueden citar los siguientes:

- Radiación ionizante, como los rayos  $\gamma$  y los rayos X.
- Luz ultravioleta, que favorece el enlace químico entre dos residuos colindantes de timina en una cadena de ADN, lo que provoca la formación de un dímero de pirimidina. Estos cambios

distorsionan la doble hélice de ADN en la región del dímero.

- Mutágenos químicos, que pueden ser de tres tipos: análogos de las bases (p. ej., el 5-bromouracilo, que se parece a la timina y se empareja con la adenina), que se incorporan al ADN y originan errores de lectura; modificadores químicos (p. ej., la hidroxilamina y compuestos que contienen y propagan radicales libres, como los que se forman durante el metabolismo de los hidrocarburos aromáticos policíclicos del humo del tabaco), que reaccionan con las bases para formar derivados que provocan errores de lectura, e intercaladores (p. ej., algunos antibióticos y metales pesados), que se deslizan entre las bases adyacentes e inhiben la transcripción del ARN.
- Genomas víricos, que pueden llegar a incorporarse a la cromatina de los eucariotas. Esto puede interrumpir las regiones codificantes o promotoras, o puede afectar a los niveles de expresión de los genes existentes.

## Mutaciones

Una mutación es un cambio de la secuencia de bases del ADN:

- Si esto sucede en una región codificante y se produce un cambio en el número de bases, como una inserción o delección, puede producirse un error de marco de lectura (v. cap. 8).
- Una base alterada o una mutación puntual puede causar un error de lectura, lo que puede provocar una proteína alterada (v. cap. 8).
- Las roturas del ADN bicatenario pueden provocar una reorganización a nivel cromosómico, como una translocación (v. cap. 8).
- La mutación puede desorganizar una región reguladora y afectar al nivel de expresión de un gen concreto (v. págs. 105-106).

Un daño del ADN puede evolucionar de dos formas distintas: o bien la célula lo puede reparar, o bien, si es un daño extenso, se desencadena la apoptosis.

## Reparación del ADN

Los mecanismos de reparación del ADN constituyen un sistema de defensa fundamental contra el daño ambiental y celular del ADN. Su función es minimizar la destrucción celular, mutaciones, errores de replicación, persistencia del daño del ADN y la inestabilidad genómica. Las anomalías de estos procesos se han implicado en el cáncer y el envejecimiento. Hay varios sistemas de detección y reparación de diversos tipos de daño del ADN (fig. 6.42).



Fig. 6.42A Daño del ADN monocatenario

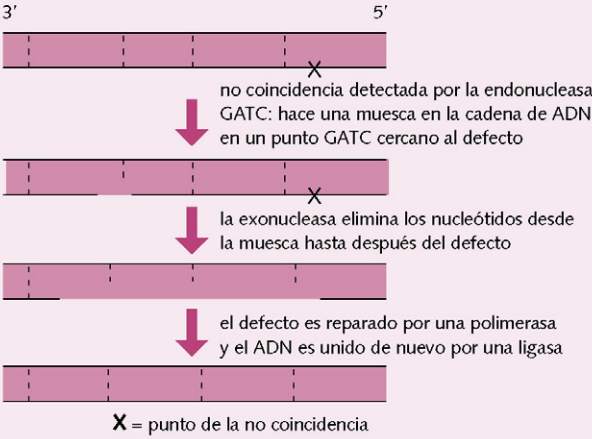
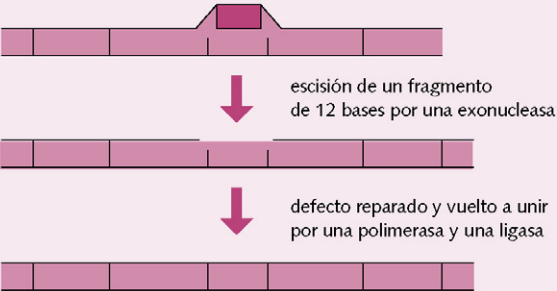
| Nombre                                | Problema                                                                                  | Mecanismo de reparación                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Enfermedad asociada con el mecanismo defectuoso                                                                                                                                                                               |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| reparación por falta de coincidencia  | errores de copiado provocan pequeños bucles no emparejados en el ADN sintetizado de nuevo |  <p>no coincidencia detectada por la endonucleasa GATC: hace una muesca en la cadena de ADN en un punto GATC cercano al defecto</p> <p>la exonucleasa elimina los nucleótidos desde la muesca hasta después del defecto</p> <p>el defecto es reparado por una polimerasa y el ADN es unido de nuevo por una ligasa</p> <p>X = punto de la no coincidencia</p> | el cáncer de colon hereditario no polipósico es uno de los cánceres hereditarios más frecuentes; se han aislado 4 defectos, todos relacionados con GATC endonucleasas                                                         |
| reparación por escisión de bases      | espontáneo, lesión química o por radiación a bases aisladas                               | enzimas específicas reconocen errores específicos; las alquiltransferasas corrigen bases alquiladas; las glucosilasas eliminan las bases alteradas, por ejemplo uracilo e hipoxantina                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                               |
| reparación por escisión de nucleótido | espontáneo, lesión química o por radiación al segmento de ADN                             | <p>ejemplo: reparación del dímero piridina</p>  <p>escisión de un fragmento de 12 bases por una exonucleasa</p> <p>defecto reparado y vuelto a unir por una polimerasa y una ligasa</p>                                                                                                                                                                      | la xerodermia pigmentosa es una enfermedad cutánea rara del ser humano, caracterizada por una sensibilidad extrema a la luz solar y lesión ocular; suele provocar un cáncer cutáneo mortal; se han implicado al menos 9 genes |

Fig. 6.42 Mecanismos de reparación de los defectos del ADN en mamíferos. La exonucleasa GATC (guanina, adenina, timina y citosina) reconoce y se une a una secuencia GATC de bases cercana al defecto de ADN y le hace una muesca en este punto.

## Reversión directa del daño del ADN

Una de las causas más frecuentes de mutación puntual en el genoma humano es la alquilación (sobre todo metilación) de las bases en sitios específicos. Si estas lesiones no se reparan, pueden dar lugar a la incorporación de bases incorrectas en el siguiente ciclo de replicación. Por ejemplo, la base guanina O<sup>6</sup>-alquilada se empareja con timina. Este daño se revierte por una clase de enzimas denominadas ADN alquiltransferasas, que son enzimas suicidas que se consumen en el proceso de desalquilación.

## Daño monocatenario

### Reparación por escisión de base

La reparación por escisión de base (REB) es un proceso por el que una base dañada o inadecuada se elimina de su enlace glucosídico y se sustituye (fig. 6.42). La reparación consta de los siguientes pasos:

- Eliminación de la base dañada por una enzima denominada glucosilasa. Esto deja un sitio sin base o AP. Existen al menos ocho glucosilasas humanas distintas y cada una de estas enzimas es responsable de la identificación y eliminación de un tipo de daño específico en las bases.

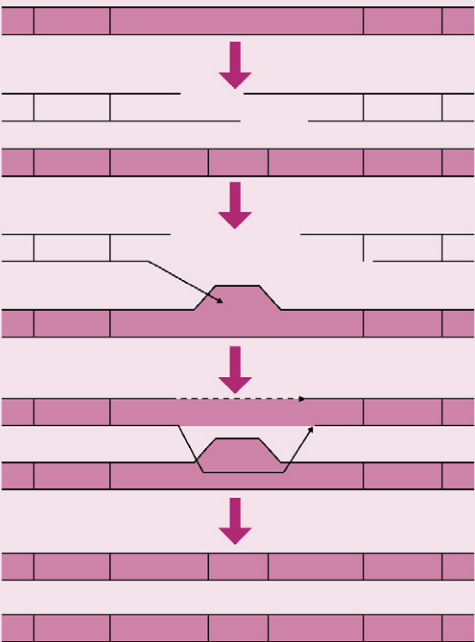
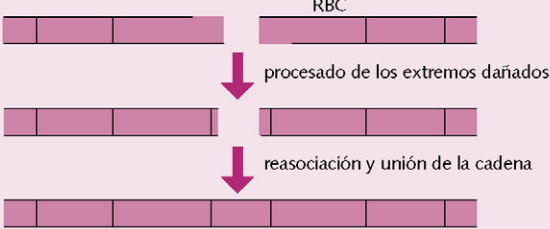
| Fig. 6.42B Daño del ADN bicatenario   |                                                                                                                                             |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                          |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nombre                                | Problema                                                                                                                                    | Mecanismo de reparación                                                             | Enfermedad asociada con el mecanismo defectuoso                                                                                                                                                                                          |
| reparación por recombinación homóloga | roturas del ADN bicatenario (RBC) inducidas y no inducidas por la replicación (espontáneas e inducidas por sustancias químicas o radiación) |   | los polimorfismos de los genes RRRH se han implicado en la LMA                                                                                                                                                                           |
| unión de extremos no homólogos        | roturas del ADN bicatenario inducidas y no inducidas por la replicación (espontáneas e inducidas por sustancias químicas o radiación)       |  | el síndrome de inmunodeficiencia combinada grave es un trastorno hereditario que se caracteriza por una reducción de la función de los linfocitos T y B. Se producen infecciones oportunistas con facilidad, que causan el fallecimiento |

Fig. 6.42 (cont.)

- Una endonucleasa y fosfodiesterasa reconocen el sitio AP y escinden el esqueleto de azúcar fosfato del ADN en el extremo 5' del sitio AP, lo que crea un extremo terminal 3'-OH.
- A continuación, la ADN polimerasa β utiliza el ADN complementario como molde para elongar el ADN desde el 3'-OH libre a fin de sustituir el nucleótido de la base dañada.
- Una ADN ligasa sella la cadena escindida.

Diversas modalidades de este mecanismo general se utilizan para reparar hasta 10 bases dañadas, el esqueleto de azúcar y las roturas del ADN mono-catenario.

Reparación por escisión de nucleótidos

La reparación por escisión de nucleótidos (REN) se utiliza para reparar daños más voluminosos y complejos del ADN, como los dímeros de timidina y las bases con modificaciones químicas a lo largo de un segmento mayor de ADN (fig. 6.42).

Los pasos implicados en la REN son:

- Reconocimiento del daño por un complejo proteico y desenrollamiento del ADN por una helicasa para producir una «burbuja».
- Realización de escisiones en los extremos 3' y 5' del área dañada y eliminación del oligonucleótido que contiene el daño.

- Utilización de la cadena complementaria de ADN como molde para rellenar el defecto resultante mediante una ADN polimerasa  $\delta$  y  $\epsilon$ .
- Unión covalente del fragmento nuevo en el esqueleto mediante una ADN ligasa.

### Reparación de desacoplamiento

Mediante la reparación de desacoplamiento (RD) se reparan sobre todo pares de bases no dañadas pero desacopladas y pequeñas inserciones o deleciones.

El proceso global de RD es similar a las otras vías de reparación por escisión. La lesión del ADN se reconoce, se escinde un fragmento con la lesión y la cadena se corrige mediante reparación del ADN por síntesis y reconexión (fig. 6.42).

### Daño bicaatenario

#### Reparación mediante recombinación homóloga

La reparación mediante recombinación homóloga (RRH) suele producirse entre secuencias de ADN con homologías extensas. Cuando se detecta una rotura del ADN bicaatenario (RBC), cada uno de los extremos 5' de la rotura se corta mediante exonucleasas para dejar secciones largas de colas de ADN monocatenario (ADNmc) terminadas en 3'. Estos extremos 3' son recombinógenos y pueden invadir una molécula molde homóloga adecuada (como la cromátida hermana o un cromosoma homólogo). Los extremos de ADNmc invasor actúan a conti-

nuación como cebadores para la síntesis de ADN utilizando la molécula homóloga invadida como molde. Por tanto, la síntesis produce la restauración de las cadenas sencillas degradadas (fig. 6.42).



Las mutaciones de los genes *BRCA1* y *BRCA2* se asocian con el cáncer de mama familiar. Se cree que las proteínas codificadas por estos genes son relevantes en la reparación del daño del ADN bicaatenario mediante reparación por recombinación homóloga.

### Unión de extremos no homólogos

La unión de extremos no homólogos (UENH) se considera una vía de reparación ilegítima. A diferencia de la RHH, la UENH no requiere una molécula homóloga no dañada y no se basa en la presencia de homologías extensas entre los dos extremos recombinantes. En la mayoría de los casos, la conexión terminal directa de una RBC no es posible, debido a la presencia de bases dañadas y de residuos de azúcar flanqueando la RBC y el ADN. La RBC requerirá algún tipo de procesamiento antes de que pueda conectarse. Esto significa que la UENH pocas veces está desprovista de errores y se suelen introducir deleciones de secuencia de varias longitudes alrededor del área de la RBC original (fig. 6.42).

# GENÉTICA MÉDICA



- 7. Genética molecular aplicada a la medicina 129
- 8. Enfermedades genéticas 153
- 9. Principios de genética médica 181





# Genética molecular aplicada a la medicina



## Objetivos

En este capítulo aprenderás a:

- Explicar cómo se utilizan las endonucleasas de restricción en la preparación de los ácidos nucleicos en el laboratorio.
- Comprender las bases de la PCR y sus aplicaciones.
- Comparar y contrastar las técnicas de hibridación de Southern, Northern y Western.
- Comprender las diferencias entre los polimorfismos de nucleótido único y las repeticiones en tándem de número variable.
- Describir tres métodos citogenéticos diferentes para estudiar la estructura cromosómica.
- Apreciar el papel destacado de la bioinformática en la era posgenómica.
- Describir los objetivos principales del proyecto genoma humano.
- Comprender los principios del ligamiento genético y su papel a la hora de identificar los genes de las enfermedades humanas.
- Definir los términos genoma, proteoma y metaboloma.
- Apreciar la diferencia entre la terapia génica somática y de la línea germinal.

## TÉCNICAS DE GENÉTICA MOLECULAR

El progreso de nuestro conocimiento sobre las bases moleculares de las enfermedades desde la década de 1950 prosigue tras el descubrimiento de la estructura del ADN y el desarrollo de nuevas tecnologías que permiten el análisis detallado de los genes normales y anómalos. Además de proporcionar las bases para los avances teóricos, las técnicas de genética molecular permiten la detección y el diagnóstico de laboratorio de la enfermedad genética. Se trata de un campo que avanza a gran velocidad en el que nuevas técnicas aparecen de forma periódica. Suele ser necesario un

acceso rápido a la información más actualizada, y la mejor forma de acceder a ella es a través de Internet.

La genética molecular es el estudio de la estructura y función de los genes desde el punto de vista molecular. Las técnicas básicas de la genética molecular se ocupan de:

- La separación de los ácidos nucleicos de otros componentes celulares.
- La caracterización de la secuencia de ADN.
- El estudio de la expresión de los genes.
- La manipulación y modificación del ADN («ingeniería»).
- La clonación y mapeo de genes.

El National Center for Biotechnology Information ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) es un portal para acceder a una serie de bases de datos públicos, entre los que se encuentra numerosa bibliografía científica (p. ej., PubMed y Online Mendelian Inheritance in Man [OMIM], que es un catálogo de todos los defectos monogénicos humanos), así como a bases de datos moleculares y a una serie de herramientas bioinformáticas.



Los genetistas moleculares se enfrentan a dos problemas principales:

1. Conseguir suficiente cantidad de ácidos nucleicos para trabajar.
2. Identificar secuencias específicas en una mezcla compleja de secuencias.

La mayoría de las técnicas de genética molecular afrontan uno de estos problemas o ambos.



## Aislamiento y preparación de ácidos nucleicos

Los principales componentes de cualquier tipo celular son las proteínas, los lípidos, los hidratos de carbono, el ADN y el ARN. Existen muchos métodos diferentes para separar estos componentes, dependiendo del tipo de células empleadas, del material necesario y del objetivo para el que se van a utilizar. La mayoría de las estrategias para extraer los ácidos nucleicos de las células aprovechan su solubilidad diferencial en relación con la de otros componentes celulares, o se basan en las resinas sintéticas que se unen a ellos de modo reversible.

## Enzimas de restricción

Las enzimas de restricción son un tipo de endonucleasas producidas por microorganismos y escinden el ADN después de reconocer una secuencia específica.

Las enzimas de restricción se denominan por lo general según la especie bacteriana de la que se aislaron, seguida de un número. Por ejemplo, EcoRI se aisló de *E. coli* RY13, mientras que SmaI se aisló de *Serratia marcescens*.



Las enzimas de restricción funcionan rastreando la longitud de una molécula de ADN hasta que encuentran su secuencia de reconocimiento específica, en cuyo punto se unen a la doble hélice del ADN y realizan un corte en cada uno de los dos esqueletos de azúcar fosfato de la doble hélice.

Hay tres tipos de enzimas de restricción y las que se emplean para las tecnologías de ADN recombinante son las de tipo II, que realizan el corte en unas secuencias de reconocimiento cortas y a menudo palindrómicas, o cerca de ellas, para producir unos

extremos romos o cohesivos (fig. 7.1). La mayoría de las enzimas de restricción de tipo II poseen sitios de reconocimiento que constan de cuatro, seis u ocho pares de bases. Asumiendo una distribución aleatoria de las bases en un fragmento de ADN de doble cadena, una secuencia concreta de ocho pares de bases se producirá con mucha menor frecuencia que una de seis pares de bases (fig. 7.2).

## Electroforesis en gel

Los fragmentos producidos por digestión mediante enzimas de restricción se separan mediante electroforesis en gel. Los productos de digestión se sitúan en un pocillo de un gel de agarosa, a través del cual se aplica un campo eléctrico:

- El ADN está cargado negativamente de modo que migra hacia el polo positivo.
- Los fragmentos pequeños de ADN migran más deprisa que los grandes, de modo que los fragmentos quedan ordenados según el tamaño.
- Al final de la electroforesis, los fragmentos pequeños se localizan en los puntos más alejados de los pocillos.

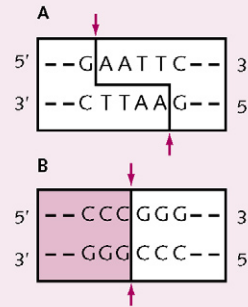


Fig. 7.1 Extremos cohesivos y romos tras digestión con enzimas de restricción. A) EcoRI corta produciendo extremos escalonados (cohesivos). B) Small corta produciendo extremos romos. (Adaptada de Mueller y Young, 2001.)

Fig. 7.2 Tamaño de los fragmentos y frecuencia de corte de las enzimas de restricción

| Secuencia reconocida por la enzima de restricción | Longitud media de los fragmentos de restricción | Número medio de cortes en un plásmido de 10 kb | Número medio de cortes en <i>S. cerevisiae</i> ( $1,4 \times 10^4$ kb) | Número medio de cortes en el genoma humano haploide ( $3 \times 10^6$ kb) |
|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| 4 pb                                              | $4^4$ pb (0,2 kb)                               | 50                                             | $7 \times 10^4$                                                        | $1,1 \times 10^7$                                                         |
| 6 pb                                              | $4^6$ pb (4,1 kb)                               | 2                                              | $3,4 \times 10^3$                                                      | $7,3 \times 10^5$                                                         |
| 8 pb                                              | $4^8$ pb (65,5 kb)                              | 0                                              | $2,1 \times 10^2$                                                      | $4,5 \times 10^4$                                                         |

Fig. 7.2 Tamaño de los fragmentos producidos y frecuencia de corte del ADN humano, de *Saccharomyces cerevisiae* y plasmídico con enzimas de restricción que reconocen secuencias de cuatro, seis y ocho pares de bases.

El ADN se visualiza en geles de agarosa bajo luz ultravioleta tras ser teñidos con bromuro de etidio. El tamaño de los fragmentos producidos por la digestión con la enzima de restricción puede determinarse tomando como referencia el carril correspondiente a un marcador que contiene fragmentos de tamaño conocido.

### Electroforesis de ADN digerido

La digestión del ADN humano con enzimas de restricción que reconocen seis pares de bases produce múltiples fragmentos de un tamaño medio de 4 kb (fig. 7.2). Sin embargo, dado que la secuencia de bases en gran parte del genoma es aleatoria, el tamaño de los fragmentos varía alrededor de esta media y se generan fragmentos de múltiples tamaños. Aparecen como una «mancha» en un gel de agarosa adecuadamente tratado (fig. 7.3A).

Los geles de agarosa normales están limitados por el tamaño del fragmento que pueden separar, con una resolución máxima de alrededor de 30 kb. Los fragmentos de mayor tamaño pueden separarse con una técnica denominada electroforesis en gel con campo pulsado (PFGE por sus siglas en inglés). Si se alterna la dirección del campo eléctrico, la PFGE permite separar fragmentos mucho mayores de 10 Mb (fig. 7.3B). Sin embargo, esta técnica requiere un tiempo de recorrido del orden de días, en lugar de las horas que se necesitan en una electroforesis en gel estándar.

La digestión de un plásmido de 10 kb con una enzima de restricción que reconozca fragmentos de

6 pares de bases seccionará dicho plásmido dos veces como promedio, lo que dará lugar a dos bandas (fig. 7.2). Una enzima que realice un corte en un plásmido circular lo convertirá en lineal, produciendo una única banda. Por tanto, los productos de digestión del ADN del plásmido darán lugar a bandas diferentes que las que se pueden visualizar directamente en geles de agarosa tratados de forma adecuada (fig. 7.4).

### Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

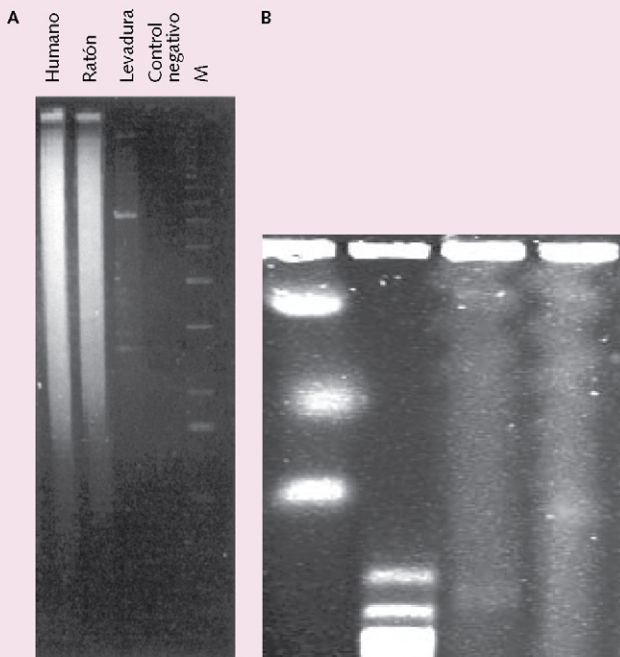
La PCR se utiliza para amplificar fragmentos pequeños de ADN (2-3 kb empleando métodos estándar) y es una técnica que ha revolucionado la genética molecular. Sus múltiples usos son:

- Preparación de sondas.
- Clonación (v. págs. 142-147).
- Genotipificación de marcadores polimórficos (v. págs. 137-139).
- Detección diagnóstica de mutaciones.

La PCR se basa en la manipulación de las condiciones, de modo que la ADN polimerasa replica de forma repetida secuencias específicas de ADN (fig. 7.5). Hay cinco reactivos esenciales en la PCR:

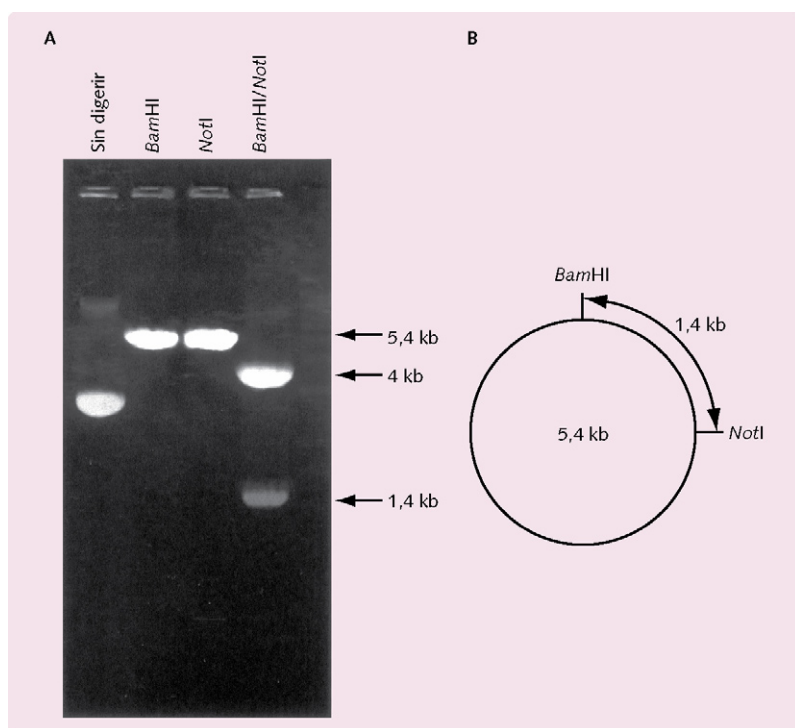
### Molde de ADN

Es la secuencia que se va a amplificar, que actúa como un molde para el primer ciclo de replicación.



**Fig. 7.3** Electroforesis del ADN humano. A) ADN genómico humano, de ratón y de levadura (*S. cerevisiae*) cortado con enzimas de restricción que reconocen una secuencia de seis pares de bases (*HindIII*). El carril del marcador presenta fragmentos de ADN de tamaño conocido. (Por cortesía del Dr. Steve Howe.) B) Resolución de grandes fragmentos de ADN mediante electroforesis en gel con campo pulsado.

**Fig. 7.4** A) ADN plasmídico cortado con enzimas de restricción. Los pocillos están marcados con la enzima empleada para la digestión del plásmido. Tanto *Bam*HI como *Not*I cortan una vez en el plásmido y lo linealizan. La digestión con ambas enzimas produce dos bandas. El carril marcado como «sin digerir» contiene el ADN del plásmido que no ha sido digerido. Éste contiene dos bandas que corresponden a las formas circulares abierta y superenrollada del plásmido y estas formas migran de distinto modo al plásmido linealizado. El tamaño de los fragmentos de restricción se calcula comparándolo con un carril que contiene fragmentos de tamaño conocido (no mostrado). B) Mapa de restricción del plásmido basado en la digestión de las enzimas de restricción. (Por cortesía del Dr. Ajay Mistry.)



Se requiere muy poco ADN para una reacción de PCR. Si se pretende determinar si el paciente es portador de una mutación específica, puede extraerse suficiente cantidad de ADN de células de la boca, conseguidas mediante cepillado indoloro del interior de la mejilla. También puede obtenerse el ADN a partir de leucocitos de sangre periférica mediante venopunción.



como la polimerasa Pfu (obtenida de *Pyrococcus furiosus*).

### Desoxinucleótidos trifosfato

Los desoxinucleótidos trifosfato (dNTP) son los sustratos de la polimerasa Taq a partir de los cuales se sintetizan las nuevas cadenas de ADN. La reacción debería incluir cantidades idénticas de dATP, dTTP, dCTP y dGTP.

### Cebadores

Cada reacción incluye cebadores 5' y 3' que flanquean las secuencias del molde y que se reasocian con las secuencias complementarias en las cadenas de ADN opuestas. Los cebadores suelen ser oligonucleótidos de síntesis de alrededor de 17-26 bases de longitud. Su diseño es clave, pues es la secuencia del cebador la que confiere a la PCR su especificidad para la amplificación de las regiones diana. También es esencial que ambos cebadores de oligonucleótidos tengan unas temperaturas de fusión similares y una composición de bases de un 45-55% de GC, pero que carezcan de PoliG o PoliC, pues estas secuencias estimulan la reasociación inespecífica.

### Tampón

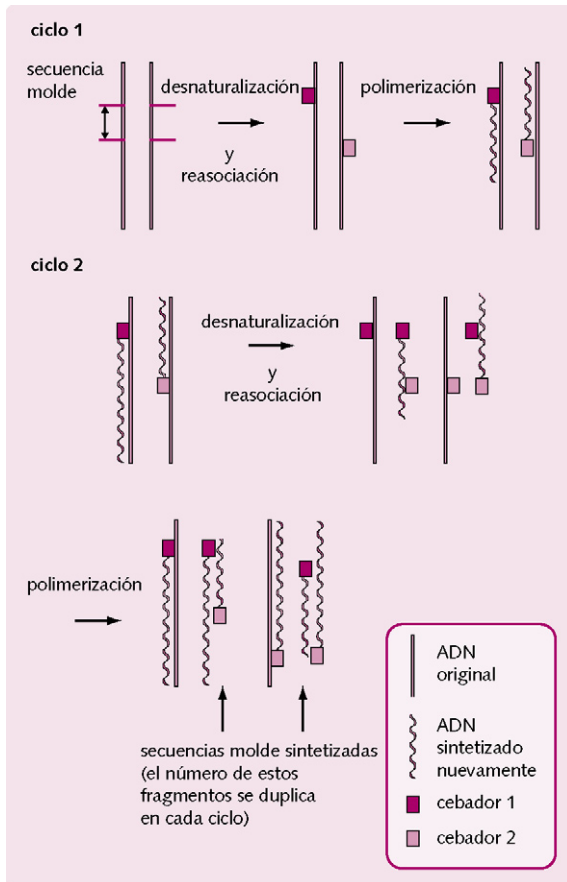
El tampón mantiene las condiciones óptimas de pH y ambiente químico para la polimerasa.

### Polimerasas para la PCR

La Taq es una ADN polimerasa termoestable que se aisló originariamente de *Thermus aquaticus*, una bacteria termófila que habita en los géiseres. Al igual que todas las ADN polimerasas (v. también pág. 102), la polimerasa Taq:

- Requiere un cebador para iniciar la síntesis.
- Sintetiza el ADN en sentido 5'-3'.

Dado que la polimerasa Taq carece de actividad exonucleasa 3'-5', si se tiene una mutación en la región de 1-10 kb, en el caso de que la fidelidad de la secuencia sea clave, se puede utilizar una polimerasa con actividad exonucleasa 3'-5',



**Fig. 7.5** Mecanismo de acción de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Cada cebador es complementario a la secuencia de la cadena opuesta y flanquea la secuencia molde. La *Taq* polimerasa cataliza la adición de dNTP al extremo 3' de ambos cebadores, de modo que cada ciclo de PCR duplica la cantidad de ADN molde.

## PCR en la práctica

Los tubos que contienen los reactivos se colocan en un termociclador. Éste calienta y enfría con rapidez los tubos de reacción de forma cíclica, y cada ciclo

consta de calentamiento y enfriamiento a tres temperaturas distintas.

En teoría, cada ciclo duplica la cantidad de ADN, aunque la reacción se vuelve menos eficiente cuando las cantidades residuales de los reactivos como los dNTP se convierten en factores limitantes. Por lo general, se desarrollan 30 ciclos, tras los cuales se obtienen unas  $10^5$  copias del molde. Este ADN es suficiente para ser visualizado en un gel de agarosa. En la figura 7.6 se resumen los pasos de cada ciclo de PCR.

## Visualización de los productos de PCR

Los productos de la reacción de PCR pueden visualizarse directamente en un gel de agarosa con luz ultravioleta, tras ser teñidos con bromuro de etidio (fig. 7.7). Aparecen como bandas definidas cuyo tamaño corresponde al número de pares de bases entre los extremos 5' y 3' de los dos cebadores. El molde original de ADN no se ve debido a la escasa cantidad empleada en la reacción de PCR.

## Controles

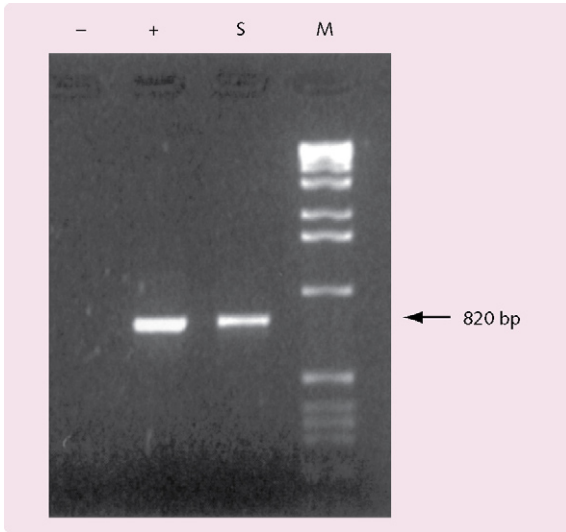
Comparada con la técnica de Southern (v. págs. 134-135), la PCR es un método rápido de genotipificación de marcadores polimórficos o de identificación de mutaciones patógenas, adecuada para la automatización (fig. 7.8). Sin embargo, es muy sensible a la contaminación y pequeñas cantidades de ADN molde en cualquiera de los reactivos generarán resultados erróneos. Además, por razones a menudo difíciles de determinar, los artefactos (p. ej., bandas inesperadas) son frecuentes o la amplificación puede fallar por completo. Por este motivo, cada experimento debe incluir un mínimo de dos controles. El control negativo (o «en blanco») contiene todos los reactivos, salvo el ADN molde. Una banda en el carril que corresponde a esta reacción sugiere contaminación. El control positivo contiene ADN con la secuencia molde y que, en un experimento previo, ha proporcionado la banda

**Fig. 7.6** Resumen de una reacción típica de PCR, con una escala temporal aproximada

| Reacción en cadena de la polimerasa |                            |                                    |
|-------------------------------------|----------------------------|------------------------------------|
| Paso 1                              | 95 °C durante 4 minutos    | Paso inicial de desnaturalización  |
| Paso 2                              | 94 °C durante 1 minuto     | Período de desnaturalización corto |
| Paso 3                              | 55 °C durante 1 minuto     | Paso de reasociación del cebador   |
| Paso 4                              | 72 °C durante 1 minuto     | Paso de elongación                 |
| Paso 5                              | Volver al paso 2, 30 veces | Pasos de ciclado                   |
| Paso 6                              | 72 °C durante 10 minutos   | Paso final de elongación           |
| Paso 7                              | Mantener a 4 °C            |                                    |

**Fig. 7.6** Resumen de una reacción típica de PCR, con una escala temporal aproximada.





**Fig. 7.7** Productos de una reacción de PCR. Se produce una banda de 820 pb porque los cebadores están separados por una secuencia de este tamaño. El carril identificado con «-» es el control negativo que contiene todos los componentes necesarios para la PCR, salvo el ADN. El carril identificado con «+» es el control positivo, que se sabe que contiene una secuencia con la que se reasocian los cebadores. La banda de 820 pb se observa en la muestra del carril (S), que sugiere que este clon también incluye la secuencia con la que se reasocian los cebadores. «M» representa el carril marcador que contiene los fragmentos de ADN de tamaño conocido. (Por cortesía del Dr. Steve Howe.)

esperada en la misma reacción de PCR. Si en el carril que corresponde a la reacción no hay banda o existen bandas inesperadas, el experimento debe repetirse.

### PCR con transcriptasa inversa

Es una modificación de la PCR que se emplea en los estudios de expresión génica. El ARN no puede usarse directamente en la PCR, ya que la polimerasa Taq no puede reconocerlo como molde. Sin embargo, la enzima vírica transcriptasa inversa (RT, del inglés *reverse transcriptase*) puede emplear el ARN como molde para la producción de una cadena de ADN. En el primer

paso de la RT-PCR se incuba el ARN con esta enzima en presencia de dNTP y de un cebador apropiado que permite la síntesis de una cadena de ADNc («reacción de la primera cadena»). Los productos de esta reacción se emplean directamente en la reacción de PCR descrita con anterioridad («reacción de la segunda cadena»).

### Hibridación de ácidos nucleicos

Las técnicas de hibridación aprovechan la capacidad de dos moléculas complementarias de ADN monocatenario para formar una molécula de ADN bicatenario. Esto permite identificar secuencias individuales de ADN (o ARN) en una mezcla que contenga muchas secuencias, utilizando sondas específicas. Requiere en primer lugar que tanto la secuencia molde como la sonda se desnaturalicen (es decir, que se conviertan en monocatenarias). A continuación, se mezclan entre sí bajo condiciones estrictas que sólo permitan el emparejamiento de cadenas complementarias de ADN. Por tanto, la secuencia sonda marcada se une de forma específica con la secuencia molde complementaria para formar un híbrido, pero no se une a las secuencias no complementarias. La presencia de estos híbridos puede detectarse:

- Mediante autorradiografía, utilizando sondas radiomarcadas (fig. 7.9).
- Por detección cromógena, utilizando sondas fluorescentes desarrolladas más recientemente para evitar los riesgos para la salud y de seguridad asociados con el uso de compuestos radiactivos.

### ADN

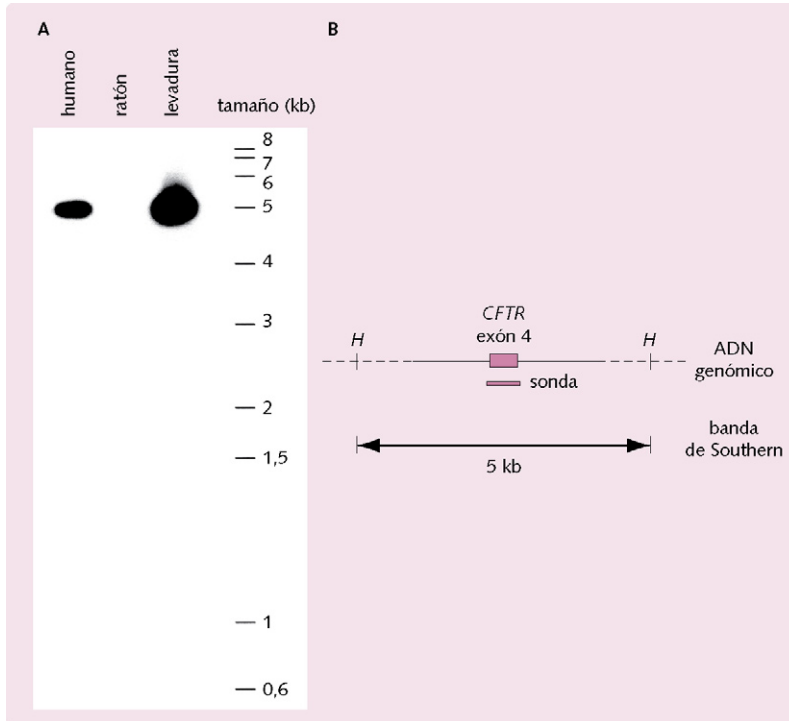
#### Transferencia de Southern

Aunque el ADN de los geles de agarosa puede hibridarse directamente, sólo es posible hacerlo una vez debido a la fragilidad de los geles. La transferencia de Southern es la técnica por la que se transfiere el ADN desde el gel de agarosa a una

**Fig. 7.8** Ventajas e inconvenientes relativos de la PCR y de la hibridación de Southern.

**Fig. 7.8** PCR comparada con la hibridación de Southern

| Consideraciones                | PCR                       | Hibridación de Southern |
|--------------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Cantidad de ADN necesario      | Pequeña cantidad (100 ng) | Mayor cantidad (5 µg)   |
| Tiempo medio                   | 1-2 días                  | 4-5 días                |
| Adecuación a la automatización | Sí                        | No                      |
| Resultados erróneos            | Frecuente                 | Infrecuente             |
| Problemas de contaminación     | Normal                    | Raro                    |



membrana de nailon o nitrocelulosa (fig. 7.10). Disponer los productos de digestión de una enzima de restricción sobre una membrana de nailon ofrece múltiples ventajas, dado que puede emplearse en muchos experimentos de hibridación consecutivos, sin necesidad de repetir los tediosos pasos de la digestión y de la electroforesis. Aunque la transferencia de Southern se utiliza en el contexto de la investigación, pocas veces se emplea en clínica. A pesar de que desde el punto de vista histórico las pequeñas variaciones de la secuencia de ADN (RFLP, v. págs. 138-139) se analizaron mediante el análisis de Southern del ADN genómico digerido con enzimas de restricción, en la actualidad lo más habitual es la tipificación mediante PCR (v. págs. 131-134).

## ARN

### Transferencia de Northern

La transferencia de Northern es una técnica empleada para estudiar la expresión de los genes. Es similar a la transferencia de Southern, salvo que son moléculas de ARN y no de ADN las que se separan por electroforesis y se transfieren a una membrana de nailon o nitrocelulosa, que puede usarse después en experimentos de hibridación.

## Proteínas

### Transferencia de Western

Aunque la transferencia de Western no se aplica directamente a los ácidos nucleicos, es el equivalente en las proteínas de las técnicas de hibridación explicadas con anterioridad. La electroforesis en gel separa proteínas desnaturalizadas en función de la masa, tras lo que se transfieren a una membrana de nitrocelulosa y se exponen a una sonda para utilizar anticuerpos marcados con fluorescencia específicos contra la proteína que se está estudiando.

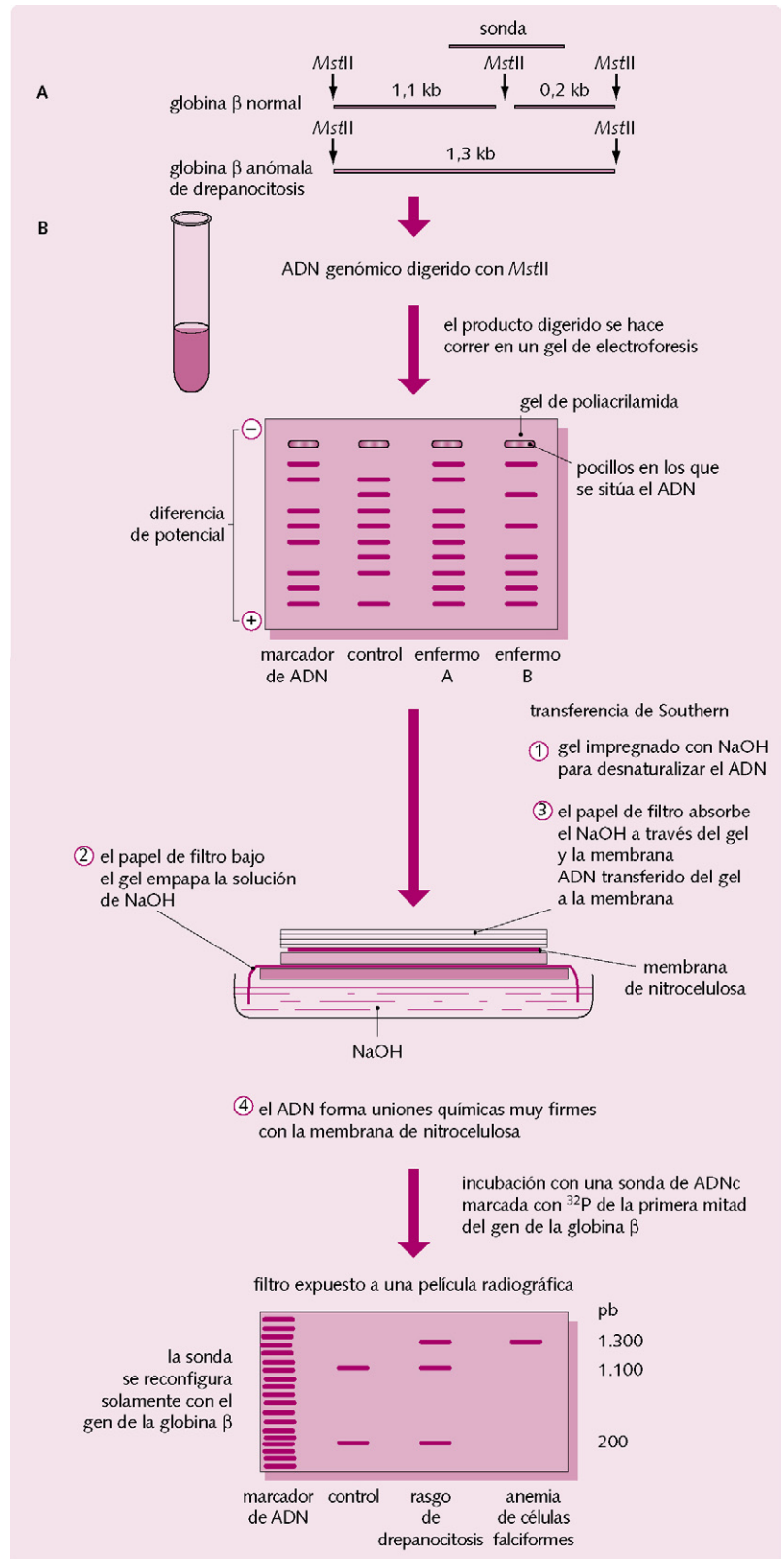


La técnica de Southern debe su nombre a su creador, Ed Southern. Las técnicas de Northern y Western se denominaron así por los puntos cardinales, según un juego de palabras en inglés (Southern significa «del sur»).

## Secuenciación de ADN

La secuenciación determina el orden de las bases en un fragmento de ADN. Existen distintos métodos que pueden emplearse para la secuenciación:

**Fig. 7.10** Mapa de restricción (A) y técnica de Southern (B), utilizando un ejemplo clínico para el diagnóstico de la drepanocitosis, una mutación puntual en el gen de la hemoglobina  $\beta$  que hace que se pierda una zona de restricción para *MstII*. El ADN genómico se digiere con *MstII* y se hace correr sobre un gel de electroforesis. El gel separa los fragmentos de ADN, haciendo que los pequeños lleguen más lejos. El ADN se tiñe con bromuro de etidio y se observa bajo luz ultravioleta. El ADN puede pasarse por transferencia de Southern a una película de nitrocelulosa. 1) Gel impregnado en NaOH para desnaturalizar el ADN. 2) El papel de filtro bajo el gel empapa la solución de NaOH. 3) El papel de filtro absorbe el NaOH a través del gel y la membrana, con lo que transfiere el ADN desde el gel hasta la membrana. 4) El ADN forma una unión química muy firme con la membrana de nitrocelulosa. Las sondas marcadas con isótopos en la transferencia de Southern pueden usarse para detectar el gen de la globina  $\beta$ . La mutación se detecta por un único fragmento grande de *MstII*. (Los genes normales tienen dos fragmentos de *MstII* más pequeños porque la sonda abarca el lugar de restricción.)



- Rotura química (método de Maxam y Gilbert).
- Terminación de la cadena (secuenciación de Sanger).
- Secuenciación cíclica térmica.

La secuenciación automatizada de Sanger es el método más utilizado.

## Secuenciación de Sanger

El principio de la secuenciación de Sanger se basa en que la ADN polimerasa no puede añadir nucleótidos a una cadena de ADN en crecimiento, una vez que se incorpora un análogo nucleotídico (un ddNTP) que carece del grupo hidroxilo en posición 3' (fig. 7.11).

Desde el punto de vista histórico, la secuenciación de Sanger se logró utilizando dNTP radiomarcados. Utilizando este método, para cada fragmento de ADN secuenciado se desarrollan cuatro reacciones en paralelo que difieren en cuál de los cuatro dideoxinucleótidos trifosfato (ddNTP) se incluye:

- Un molde de ADN (el ADN que se va a secuenciar).
- El cebador de secuenciación.
- dNTP (dATP, dTTP, dGTP y dCTP, uno de ellos marcado con radiactividad).
- ddNTP (ddATP, ddTTP, ddGTP o ddCTP).
- ADN polimerasa.

La extensión de la cadena de ADN continúa hasta que se incorpora un ddNTP, denominado «terminador de la cadena». Dado que cada reacción contiene los cuatro dNTP (sobre los que se pueden añadir las bases), se produce una población de cadenas de ADN sintetizadas nuevamente que variará en longitud según lo rápido que se haya encontrado un ddNTP. Éstas pueden separarse mediante electroforesis en un gel de poliacrilamida y las bandas marcadas con radiactividad pueden visualizarse exponiendo una película radiográfica (fig. 7.11).

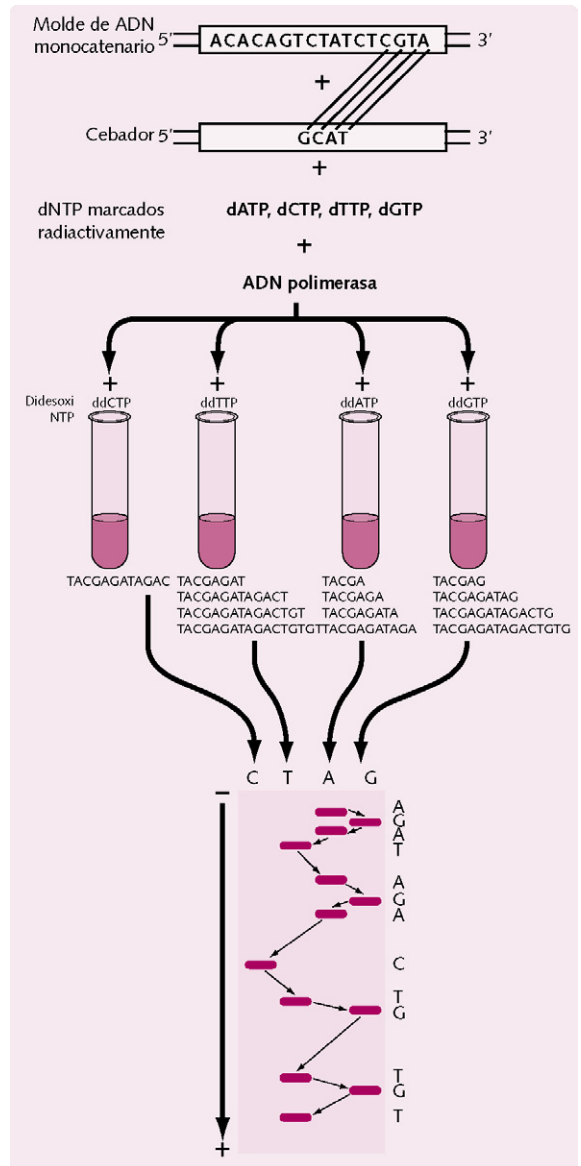


Fig. 7.11 Método de Sanger para determinar la secuencia de nucleótidos de un fragmento de ADN clonado. (Adaptada de Mueller y Young, 2001.)

na marcados con fluoróforos en lugar de utilizar radiactividad, con la ventaja de que los fluoróforos pueden diferenciarse mediante un sistema de detección láser, lo que permite realizar la secuenciación completa en una única reacción (fig. 7.12).

## Análisis de polimorfismo de secuencias de ADN

### Polimorfismos de nucleótido único

Los polimorfismos de nucleótido único (SNP por sus siglas en inglés), denominados también polimorfismos de la longitud del fragmento de res-

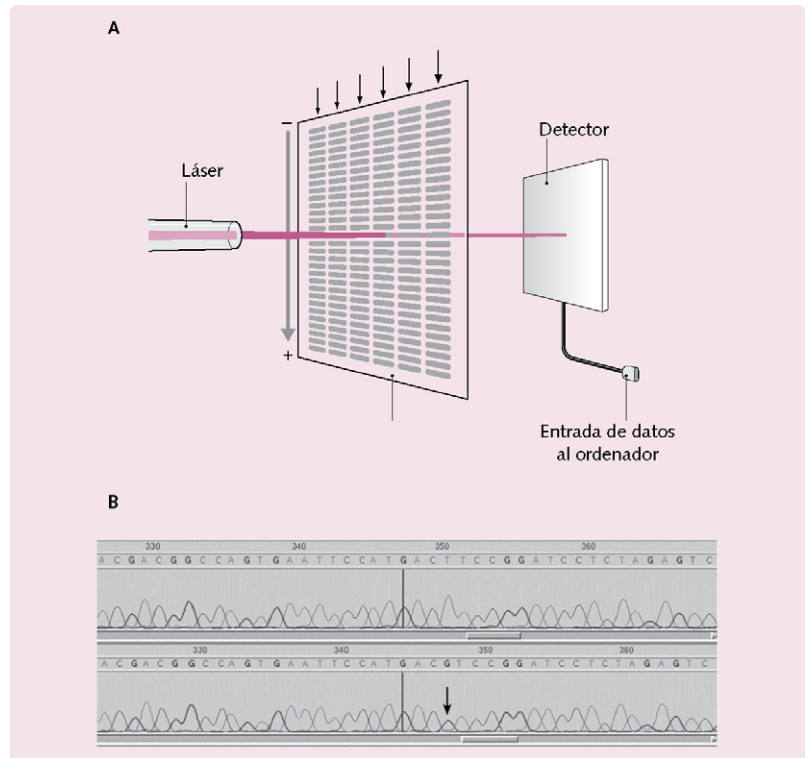
Aunque se utiliza poco, la metodología en la que se basa la secuenciación de Sanger de cuatro reacciones es una pregunta frecuente en los exámenes preclínicos. Al igual que con la mayoría de las técnicas, comprender el enfoque originario es clave para entender sus aplicaciones modernas.



En la actualidad, la secuenciación radiactiva de Sanger se utiliza pocas veces, pues es muy laboriosa y requiere mucho tiempo cuando se precisa una capacidad de procesamiento muy elevada de muestras, como en el proyecto genoma humano o con fines diagnósticos. Se utilizan terminadores de cade-

**Fig. 7.12** Secuenciación automática de ADN empleando cebadores fluorescentes.

A) Un rayo láser detecta los cuatro fluorocromos diferentes que se emplean para cada ddNTP a medida que los fragmentos de ADN migran. B) Un ejemplo de ideograma de la secuencia de ADN fluorescente (sólo se muestra la secuencia G). Los dos trazados son dos secuencias diferentes de ADN para la misma posición de un gen. La flecha señala un alelo que es diferente en las dos secuencias. En el trazado superior, en esta posición hay una T, por lo que la secuencia superior no incluye el pico señalado en la secuencia inferior, que contiene una G en este alelo. (Reproducida de Mueller y Young, 2001.)



tricción (RFLP), son variaciones de la secuencia de ADN que se producen cuando se cambia un único nucleótido en la secuencia del genoma. Se producen alrededor de una vez en cada 200-500 nucleótidos, la mayoría de las cuales están en regiones no codificantes del genoma y se cree que son silentes. Para que una variación se considere un verdadero polimorfismo, debe estar presente al menos en el 1% de la población.

Por lo general, los SNP se han detectado utilizando un análisis de transferencia de Southern en ADN digerido con enzimas de restricción. Ésta era la técnica laboriosa utilizada para los primeros mapas físicos del genoma humano. Esta técnica se ha visto desbancada por varios métodos de genotipificación y micromatrices basados en PCR de alto rendimiento.

### Repeticiones en tándem de número variable

Las repeticiones en tándem de número variable (VNTR) son secuencias cortas de nucleótidos de hasta 100 pb de longitud que se organizan en grupos de «repeticiones en tándem».

Hay dos familias principales de repeticiones en tándem:

1. Microsatélite de ADN.
2. Minisatélite de ADN.

El microsatélite de ADN, que se encuentra en todo el genoma, consta de secuencias repetidas en tándem, por lo general de 1-6 pb. Las repeticiones microsatélites pocas veces aparecen en las secuencias codificantes, pero hay repeticiones de trinucleótidos en genes o cerca de ellos que se asocian con algunas enfermedades hereditarias (v. págs. 154-155).

El minisatélite de ADN consta por lo general de repeticiones ricas en GC con una unidad de repetición de 15-100 pb a lo largo de una longitud de 0,5-30 kb. El término «minisatélite de ADN» engloba:

- El ADN telomérico (v. págs. 99-100).
- El ADN minisatélite hipervariable.



Las repeticiones en tándem de número variable (VNTR) (minisatélites) son muy polimórficas y hay muchas de ellas dispersas por todo el genoma. La hibridación con una sonda que se une a estas secuencias es la base de las «huellas dactilares genéticas», que se usan en las pruebas de paternidad y en medicina forense.



Las VNTR se detectan mediante digestión del ADN con enzimas de restricción y electroforesis de los fragmentos resultantes (los fragmentos menores con menos repeticiones recorren un mayor trayecto), que después se transfieren a una membrana de nitrocelulosa. A continuación, se añaden sondas específicas para la región de los microsatélites concreta que se esté estudiando y se determina el número de repeticiones.



La visualización de cromosomas individuales se logra mediante la manipulación del ciclo celular utilizando sustancias químicas que detienen de forma específica dicho ciclo en metafase, pero sin inducir un daño del ADN. Algunas de estas sustancias son la demecolcina y la colchicina.

## Citogenética

La citogenética se ocupa del estudio de los cromosomas y sus anomalías. Los cromosomas derivados de células en metafase tratadas de forma especial pueden visualizarse directamente con el microscopio. Las técnicas como el bandeo G y la hibridación mediante fluorescencia in situ (FISH) permiten identificar los cromosomas individuales, o secuencias específicas existentes en ellos, mientras que la hibridación genómica comparativa (CGH) permite la detección de la pérdida o amplificación de regiones cromosómicas específicas.

## Bandeo G

Es la técnica de tinción cromosómica más empleada y es el pilar del diagnóstico citogenético. Los cromosomas se digieren con tripsina de forma controlada y se tiñen con Giemsa. El resultado es un patrón de bandas claras y oscuras que es específico de cada cromosoma y que, por tanto, permite identificarlos (fig. 7.13). Se emplea en el diagnóstico de:

- Monosomías y trisomías.
- Translocaciones.
- Deleciones e inserciones grandes.

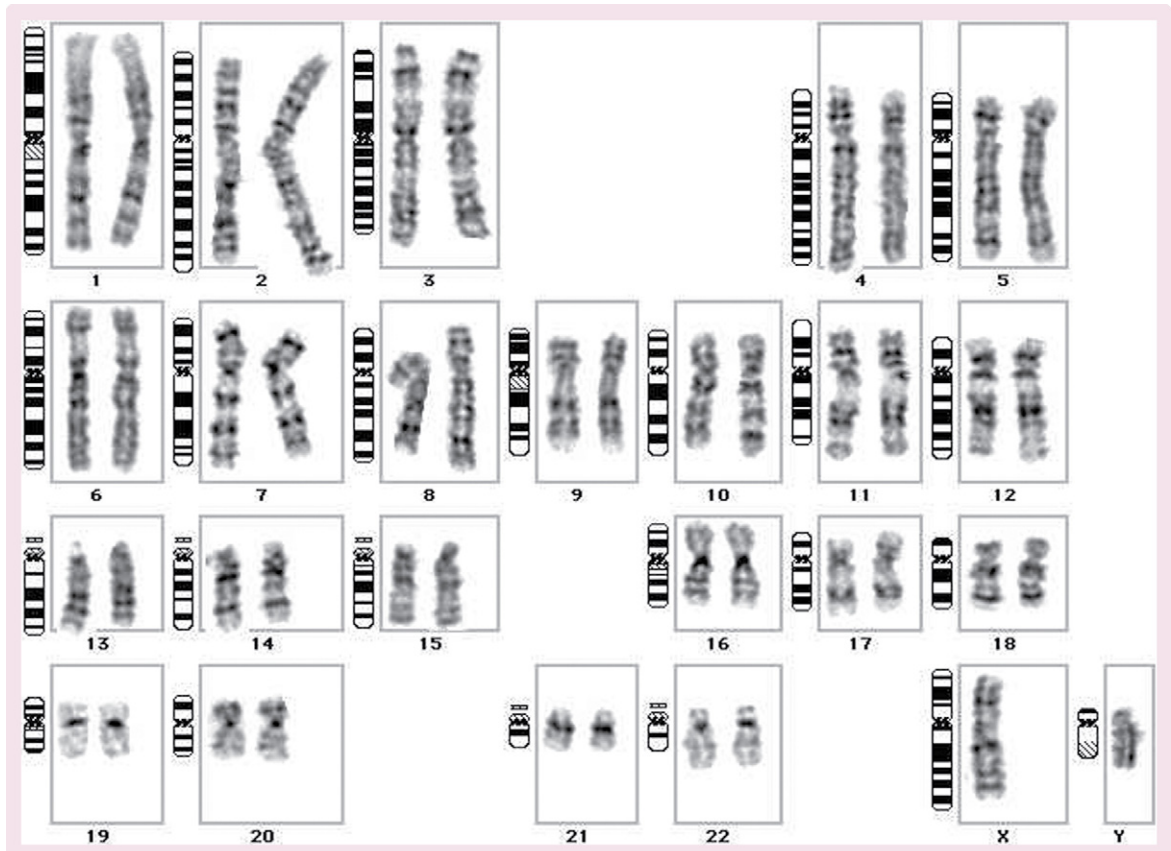


Fig. 7.13 Bando G: cariotipo de células normales de un varón. (Por cortesía de la Dra. Linda E. Ritter.)

En muchas aplicaciones, la técnica del bandeo G está siendo sustituida por la FISH.

### Hibridación in situ con fluorescencia (FISH)

La FISH es un método que permite visualizar regiones específicas de los cromosomas en interfase y metafase. El ADN que constituye los cromosomas se fija a un portaobjetos y se desnaturaliza. Posteriormente se hibrida con una sonda de ADN marcada con fluorescencia, que se une de modo específico a la secuencia complementaria. La región del cromosoma en la que se produce la hibridación puede visualizarse con un microscopio de fluorescencia. Las sondas de FISH pueden unirse a una secuencia genómica específica (fig. 7.14), pueden teñir el cromosoma completo (sondas de «pintado cromosómico») o, en la cariotipificación espectral (SKY) y en la hibridación in situ con fluorescencia múltiple (M-FISH), permiten visualizar cada cromosoma individual de un color diferente. Además de utilizarse en laboratorios de investigación para ayudar al mapeo genético, la FISH se usa con fines diagnósticos para identificar una amplia variedad de anomalías cromosómicas que incluyen:

- Monosomías y trisomías.
- Translocaciones.
- Microdeleciones e inserciones.



**Fig. 7.14** Hibridación in situ con fluorescencia (FISH) empleando una sonda monocatenaria. Aunque la sonda es monocatenaria se refiere a un genoma haploide. En la metafase mostrada se observan dos pares de puntos que se corresponden con la hibridación de sondas marcadas con biotina, en ambas cromátidas del par de cromosomas homólogos. (Por cortesía del Dr. Paul Scriven, GSTT.)

La técnica de FISH es más sensible que el bandeo G y puede emplearse para identificar microdeleciones que no pueden detectarse con esta última.

### Hibridación genómica comparativa

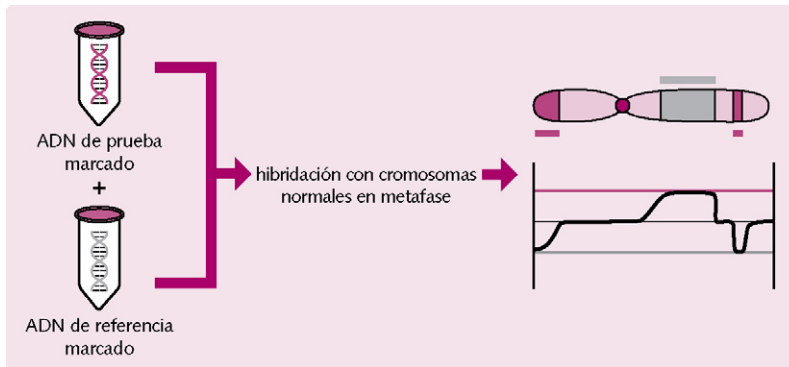
La hibridación genómica comparativa (CGH) es una técnica de FISH bicromática que permite cuantificar las pérdidas y duplicaciones cromosómicas. Se realiza una mezcla con cantidades iguales del ADN genómico de prueba marcado con fluorescencia (por lo general, ADN tumoral) y ADN normal de referencia, y se hibridan hasta la dispersión normal de la metafase. Las áreas de duplicación cromosómica en la muestra de prueba se hibridarán, con una cantidad excesiva de su marcador, con la región correspondiente de la dispersión cromosómica en metafase. Las áreas de deleción de la muestra de prueba producirán una infrahibridación con la dispersión cromosómica en metafase, que en su lugar se hibridará con el ADN normal marcado (fig. 7.15). La CGH se utiliza en clínica para:

- Detectar cambios del número de copias de cromosomas en los genomas tumorales en un único experimento.
- Estudiar tumores que no proporcionan metafases suficientes para realizar otras formas de análisis citogenético.
- Estudiar material de archivo que permite la correlación de aberraciones cromosómicas con la evolución clínica.

Una modificación más potente de la técnica de CGH, denominada CGH en matriz, utiliza la nueva tecnología de micromatrices en las que se utilizan varios miles de sondas unidas a un portaobjetos, en lugar de cromosomas metafásicos, lo que tiene la ventaja de poder detectar áreas mucho menores de deleción y amplificación, del orden de 5-10 kb.

### Amplificación dependiente de ligasa de múltiples sondas

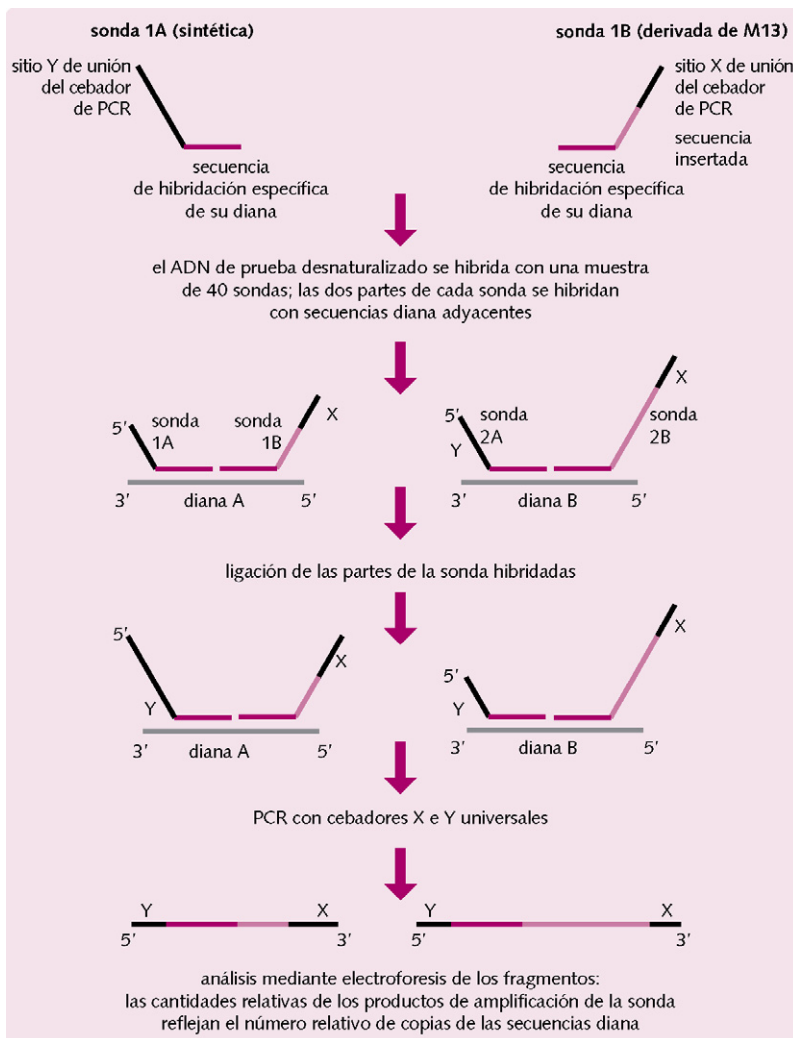
La amplificación dependiente de ligasa de múltiples sondas (MLPA) es un nuevo método que está sustituyendo a la FISH para la detección de muchos trastornos. Detecta una variación del número de copias de secuencias genómicas con alta resolución (p. ej., deleciones de exones únicos) y, a diferencia de la FISH, es fácil de aplicar la multiplexación. Para cada locus de interés, se sintetizan dos sondas de oligonucleótidos que se asocian extremo con extremo con la secuencia diana. Una ligasa une las sondas y a continuación se utiliza la PCR para amplificar el producto de unión de las sondas. La variación de la longitud de las sondas originales permite analizar



**Fig. 7.15** Hibridación genómica comparativa (CGH). El ADN de la muestra de prueba marcado con fluorescencia (teñido con FITC, en verde) y el ADN de referencia (teñido con rodamina, en rojo) se hibridan con cromosomas normales en metafase. Una cohibridación igual de las sondas verde y roja indica un número estable de copias en ese momento en el cromosoma. La pérdida de ADN en la muestra de prueba sólo se une al ADN de referencia, lo que provoca un predominio del fluoróforo rojo, mientras que una ganancia de ADN produce una unión excesiva del ADN de la muestra de prueba, que compite con el ADN de referencia, y se observa un predominio del fluoróforo verde.

hasta 40 loci en una reacción (fig. 7.16). La cantidad relativa de producto es proporcional al número de copias y, por tanto, se puede usar para detectar deleciones o trisomías. Se pueden usar sondas específicas

cas de alelos para detectar cambios de bases únicas, pues la discordancia entre la secuencia genómica mutante y la sonda de tipo salvaje introducida por el SNP impide la unión (fig. 7.16).



**Fig. 7.16** Amplificación dependiente de ligasa de múltiples sondas (MLPA). Las sondas de MLPA constan de dos oligonucleótidos: uno corto obtenido por síntesis y uno más largo derivado del fago M13. Cada oligonucleótido derivado de M13 tiene una secuencia insertada diferente. Después de la hibridación, se logra la ligación utilizando una ligasa termoestable. Sólo las sondas que coincidan a la perfección se ligarán. Dado que el producto de amplificación de cada sonda tiene un tamaño diferente, que varía de 130 a 480 pb, las cantidades relativas de cada producto de amplificación de la sonda refleja el número relativo de copias de la secuencia diana.

Reacción en cadena de la polimerasa con fluorescencia cuantitativa

La reacción en cadena de la polimerasa con fluorescencia cuantitativa (QF-PCR) es otra técnica molecular en la que se amplifican marcadores de ADN (p. ej., microsatélites) utilizando cebadores fluorescentes. Se puede aplicar para el diagnóstico de aneuploidías, para caracterizar con más detalle anomalías cromosómicas identificadas mediante bandeo G y para determinar el progenitor de origen de algunas anomalías cromosómicas. La QF-PCR es más rápida y menos laboriosa que la FISH.

MAPEO Y CARACTERIZACIÓN DE GENES DE ENFERMEDADES HUMANAS

Clonación y vectores

Desde el punto de vista histórico, la identificación de una serie de clones que abarquen la región que se está

estudiando es el primer paso para obtener un mapa genético o físico. Aunque la clonación de genes se ha visto desbancada en gran medida por las tecnologías derivadas del proyecto genoma humano, es una tecnología que ha sido fundamental para su éxito.

Necesidad de clones

El genoma humano es demasiado grande y complejo para ser caracterizado directamente. Los vectores de clonación se emplean para escindirlos en pequeños fragmentos que se solapan y que son más apropiados para las técnicas de caracterización, como el mapeo de restricción y la secuenciación.

El proceso de clonación implica la transferencia de una secuencia de ADN específica a una célula de un microorganismo. Una vez clonada, la secuencia de ADN se replica a lo largo del propio ADN complementario del huésped. En el laboratorio se pueden cultivar grandes cantidades del microorganismo, de modo que puede generarse una considerable cantidad de ADN para el análisis molecular. Los vectores varían según la cantidad máxima de ADN que pueden admitir (fig. 7.17).

Fig. 7.17 Vectores de uso habitual

| Vector   | Origen                                                                                                                                                                                                    | Características                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Tamaño de la inserción |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Plásmido | ADN circular bicatenario en el citoplasma de las bacterias; sufre replicación con el genoma bacteriano y se transmite a las sucesivas generaciones; puede ser considerado como parásitos de las bacterias | Origen de la replicación; genes de resistencia a los antibióticos; punto para las enzimas de restricción, que puede abrir el plásmido y permitir que se inserte el ADN                                                                                                                                                                                                                               | Menos de 10 kb         |
| Fago     | Virus que infectan a las bacterias                                                                                                                                                                        | Las partículas del fago pueden ser ensambladas in vitro; el ADN que interesa se fragmenta y se vincula a los puntos cos del fago; se mezcla con un extracto de empaquetamiento que contiene todas las proteínas necesarias para el ensamblaje del fago; las cabezas fágicas están llenas de ADN entre dos puntos cos, a los que se añade una cola; el fago ya ensamblado infecta a la célula huésped | 16 kb                  |
| Cósmido  | Híbrido de ingeniería genética formado por un plásmido y un fago                                                                                                                                          | Contiene el origen plasmídico de la replicación, un marcador seleccionable y el punto cos del fago                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 45 kb                  |
| BAC      | Los cromosomas bacterianos artificiales se basan en el plásmido del factor F                                                                                                                              | El vector incluye el origen de replicación del factor F, un gen de resistencia al cloranfenicol y un marcador que permite la selección positiva de recombinantes en un medio con sacarosa. Los BAC se introducen en células de <i>E. coli</i> mediante electroporación                                                                                                                               | 100-300 kb             |
| YAC      | Los «cromosomas artificiales de las levaduras» son unidades de ingeniería genética que pueden replicarse en las levaduras                                                                                 | Contiene tres secuencias de ADN esenciales para la función cromosómica de la levadura: telómeros (TEL), origen de la replicación (ARS) y centrómero (CEN)                                                                                                                                                                                                                                            | 100-1.000 kb           |

Fig. 7.17 Vectores más frecuentemente empleados en la clonación de ADN.



Una vez clonado en un vector, se pueden utilizar las herramientas de genética molecular para introducir modificaciones específicas en la secuencia clonada.

## Técnicas básicas de clonación

En el caso más simple, tanto el ADN del inserto como del vector se cortan con la misma enzima de restricción para producir moléculas de ADN que poseen extremos cohesivos compatibles (fig. 7.18). El vector se trata (fosforila) de modo que sus extremos libres no pueden volver a unirse. Las secuencias del inserto y del vector se mezclan y se incuban con ADN ligasa. Esta enzima cataliza la formación de enlaces fosfodiéster entre moléculas de ADN de doble cadena, uniendo de este modo los fragmentos de ADN.

Los productos de la reacción de ligación se incuban con células huésped «competentes», algunas de las cuales captarán el ADN (células trans-

formadas), que se siembran en medios selectivos en los que sólo pueden crecer aquellas que contienen la secuencia vector (fig. 7.18). Se emplean técnicas especiales (p. ej., «selección blanco/azul») para identificar los clones que contienen la secuencia que incluye el ADN del inserto. Además de la molécula recombinante esperada, la ligación puede producir otros elementos (p. ej., dos moléculas del vector ligadas entre sí). Para identificar los clones deseados, se siembran varias colonias individuales con el fin de producir ADN para el análisis molecular.

## Clonación por PCR

En algunos casos, la PCR se emplea para generar ADN del inserto. Los cebadores se diseñan de forma que incluyan los lugares de restricción apropiados. Tras la amplificación, el producto se digiere con la enzima de restricción y posteriormente se realiza la reacción de ligación, como se describió anteriormente.

Además de ser útil para la caracterización y manipulación de fragmentos de ADN, la clonación se ha utilizado en aplicaciones médicas, como la producción a gran escala de proteínas con utilidad terapéutica (p. ej., insulina) y la generación de modelos animales transgénicos de enfermedades humanas relevantes.

## Mapas

### Mapas genéticos

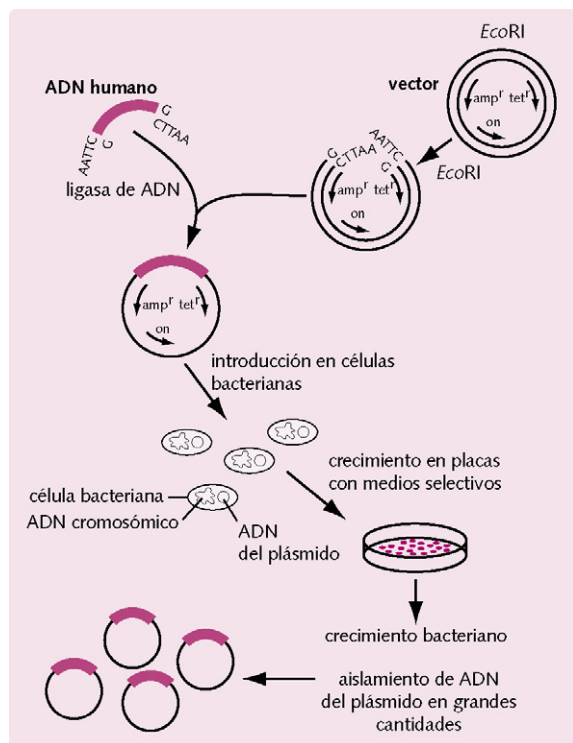
El mapa genético del genoma humano se basa en la probabilidad de recombinación entre cromosomas de origen materno y paterno durante la meiosis (v. págs. 120-121):

- Los loci se asignan a grupos de ligamiento.
- Las distancias se miden en unidades de recombinación (centimorgans).

Un centimorgan (1 cM) equivale a un 1% de probabilidad de recombinación. (Un Morgan se define como la longitud del segmento cromosómico que experimenta un intercambio con su homólogo en la meiosis.)

La recombinación es más frecuente en la meiosis femenina, por lo que los mapas femeninos y masculinos son diferentes; los marcadores aparecen más separados en la versión femenina. Algunas áreas del genoma son más proclives a la recombinación que otras, de modo que no existe una correlación perfecta entre los mapas físicos y genéticos.

Los mapas genéticos se basan en la clonación posicional (v. págs. 144-145). Los más recientes y de mayor resolución poseen marcadores polimórficos espaciados a intervalos menores de 1 cM.



**Fig. 7.18** Proceso de clonación. El ADN de los insertos y vectores se produce por la digestión enzimática con enzimas de restricción que producen extremos compatibles. Los plásmidos contienen un origen de replicación (ori) y genes de resistencia a antibióticos (amp<sup>r</sup> y tet<sup>r</sup>) que permiten la selección de transformantes (bacterias que han incorporado el plásmido). El vector y el inserto se ligan y se usan para transformar células competentes. Las células transformadas se siembran en medios con ampicilina o tetraciclina, de modo que sólo las células competentes que han incorporado la secuencia vector pueden crecer. Muchos clones diferentes se producen en este proceso; cada uno contiene un fragmento de ADN diferente. (Adaptada de Nussbaum, McInnes y Willard, 2001.)



Los mapas genéticos y físicos no se correlacionan exactamente pero, aproximadamente, 1 cM equivale a 1 Mb.



## Mapas físicos

Los mapas físicos localizan genes en posiciones definidas citogenéticamente y las distancias se miden en pb, kb o Mb. Los mapas físicos se construyeron utilizando mapeo de restricción, secuenciación y FISH para analizar clones solapados que en conjunto abarcaban casi todo el genoma humano. Estos grupos de clones están anclados en cromosomas específicos. El mapa físico último es la secuencia completa del genoma humano.

Los datos generados por el proyecto genoma humano han simplificado en gran medida la clonación posicional. La primera vez que se sugirió esta estrategia en la década de 1980, los grupos de investigación individuales tenían que identificar por sí mismos los marcadores polimórficos con los que establecer el ligamiento. Una vez que se encontraba el ligamiento, a continuación tenían que construir mapas físicos antes de poder siquiera empezar a buscar el gen causante de la enfermedad. En la actualidad, toda esta información es de libre acceso gracias al proyecto genoma humano.



## Identificación de genes de enfermedades humanas

La identificación con éxito de los genes mutados en las enfermedades monogénicas tiene diversas consecuencias:

- Diagnóstico definitivo.
- Evaluación más precisa del riesgo o pronóstico.
- Diagnóstico presintomático.
- Diagnóstico prenatal.

Además, una mayor comprensión de las bases moleculares de la enfermedad puede conducir a la identificación de nuevos objetivos farmacológicos, permitir el diseño racional de fármacos y facilitar la producción de modelos animales de enfermedad en los que puedan evaluarse esos tratamientos.

## Clonación posicional

La clonación posicional (anteriormente denominada genética inversa) es un método para identificar un gen de una enfermedad cuando no se conoce nada sobre la naturaleza de su correspondiente proteína. Este enfoque se ha empleado para identificar los genes responsables de muchas enfermedades, como la fibrosis quística y la enfermedad de Huntington.

En la clonación posicional, el gen responsable de una enfermedad se identifica a partir del conocimiento de su posición en el genoma humano. Esta información proviene del análisis de ligamiento de marcadores polimórficos, en familias en las que se segrega la enfermedad (v. «Análisis de ligamiento genético» más adelante).

## Marcadores polimórficos

Un marcador es cualquier rasgo mendeliano empleado para rastrear la transmisión de un fragmento cromosómico a través de un árbol genealógico. Los polimorfismos de ADN de los que se conoce su localización en el mapa genético del genoma humano se usan como marcadores en los estudios de ligamiento:

- Los polimorfismos de ADN son diferencias heredadas en el ADN de personas sanas normales.
- Se producen con frecuencia en regiones no codificantes del genoma.
- Entre ellos se incluyen los polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), los microsatélites y los polimorfismos de nucleótido único (SNP) (v. págs. 137-139).

## Marcadores microsatélites

Los microsatélites son muy útiles y apropiados para el análisis de ligamiento genético por distintos motivos:

- Pueden detectarse por PCR.
- Son muy polimórficos.
- Se han identificado decenas de miles de loci polimórficos microsatélites dispersos por todo el genoma.

En la [figura 7.19](#) se muestra un ejemplo de los resultados obtenidos tras la PCR, empleando un par de cebadores que flanquean un microsatélite.

Cada alelo de un microsatélite puede dar lugar a múltiples bandas en un gel de poliacrilamida, lo que hace difícil interpretar un único carril. Para identificar qué bandas forman parte del mismo alelo, debes comparar las bandas de todos los carriles (v. [fig. 7.19](#)).



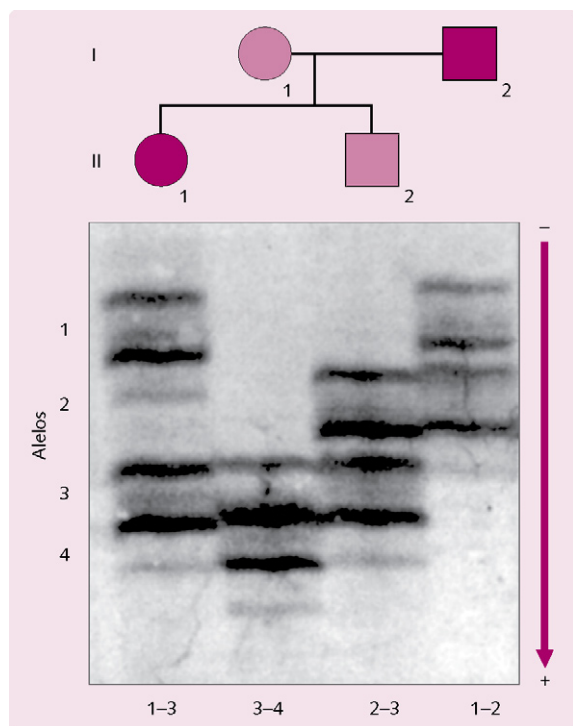


Fig. 7.19 Autorradiografía que muestra los resultados de una PCR usando cebadores que abarcan una repetición microsatélite. El microsatélite está ligado estrechamente a un gen que causa una enfermedad dominante y el alelo 1 se segrega con la enfermedad. Obsérvese que cada alelo da lugar a múltiples bandas, que se deben a un artefacto de la PCR. (Reproducida de Mueller y Young, 2001.)

## Análisis de ligamiento genético

### Ligamiento

El análisis de ligamiento utiliza los datos del árbol genealógico para determinar si los loci están ligados y para estimar la fracción de recombinación (v. más adelante). En la meiosis, los cromosomas homólogos intercambian fragmentos antes de separarse en las dos células hijas.

Los marcadores ligados se segregan juntos en la meiosis con más frecuencia de la esperable por el azar, debido a que se localizan próximos en el mismo cromosoma (fig. 7.20). Los sobrecruzamientos entre marcadores que se encuentran muy próximos son estadísticamente improbables. Sin embargo, si los marcadores se encuentran lo suficientemente alejados en un cromosoma, es probable que se formen entrecruzamientos entre ellos y que se produzca la recombinación.

### Recombinación

La recombinación se produce como resultado de la formación de los quiasmas (entrecruzamientos) durante la meiosis. Los recombinantes son hijos que heredan una combinación diferente de alelos en dos loci, comparada con la recombinación encontrada en los gametos de los progenitores.

La fracción de recombinación (FR) es la proporción de recombinantes. Para dos loci no ligados es 0,5; para loci ligados oscila entre 0 y 0,5. Las fracciones de recombinación se emplean para establecer

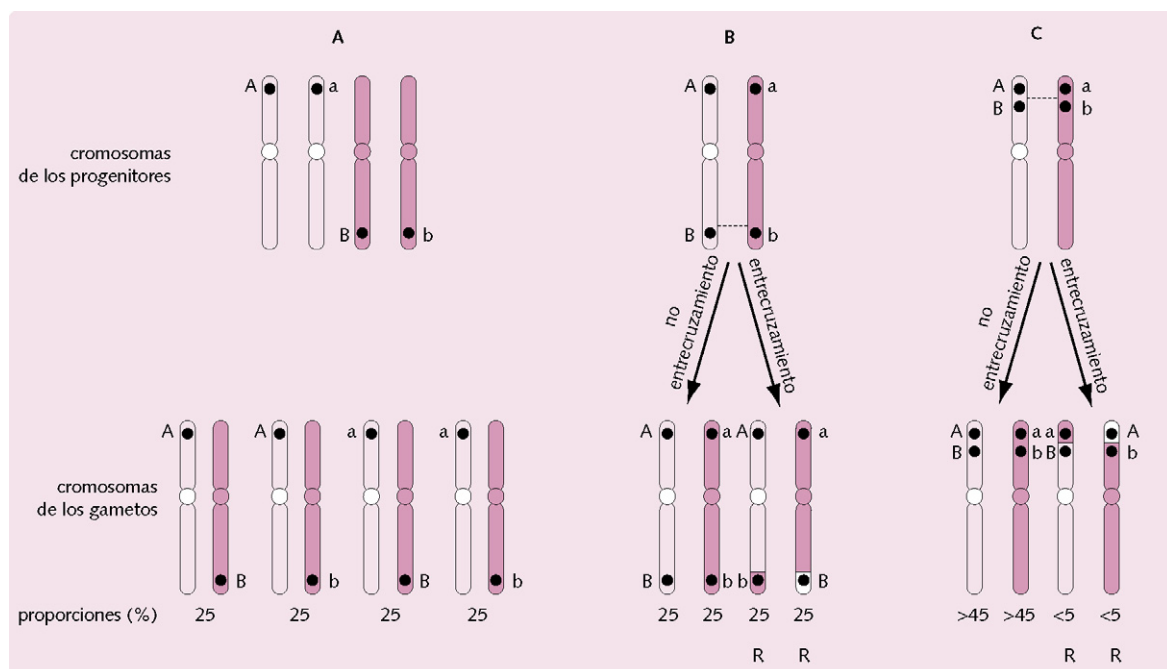
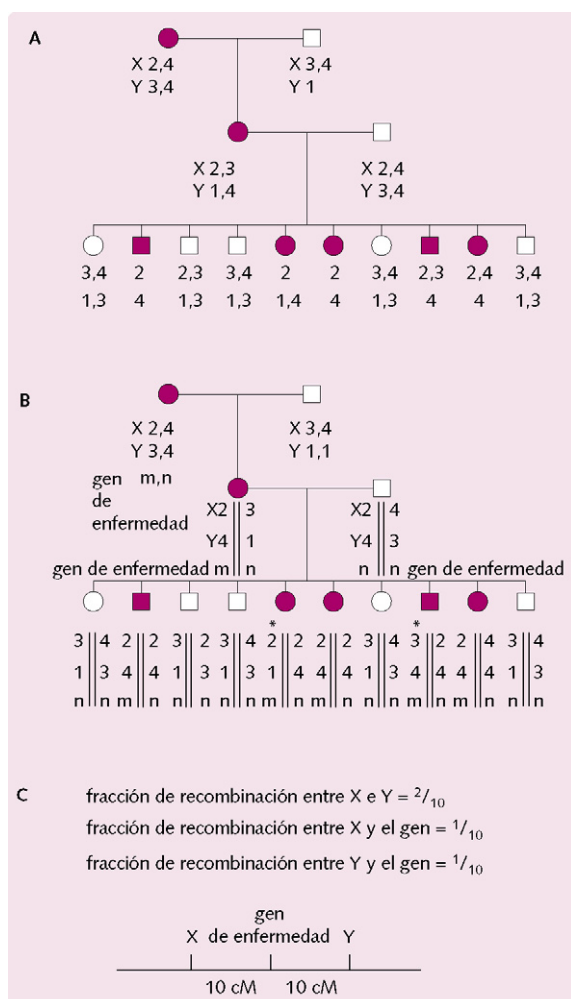


Fig. 7.20 Segregación durante la meiosis de dos alelos en dos loci. Los recombinantes están marcados (R). A) Los loci se encuentran en cromosomas diferentes. B) Los loci están en el mismo cromosoma pero muy separados (>1 M). C) Los loci están muy próximos y se segregan juntos la mayoría de las veces (es decir, están ligados). (Adaptada de Mueller y Young, 2001.)



**Fig. 7.21** Mapa genético de dos marcadores microsatélites y un gen dominante de enfermedad. A) Miembros de la familia que están genotipificados con respecto a dos marcadores microsatélites (X e Y). B) Los marcadores se reordenan según la herencia de los progenitores. C) La fracción de recombinación de cada par de marcadores se calcula por separado usando los cromosomas de los hijos y se construye el mapa genético (un 1% de fracción de recombinación es equivalente a 1 cM). \*, alelo recombinante; 1-4, tamaños de los alelos; m, gen de enfermedad mutado; n, gen de enfermedad normal; X e Y, marcadores microsatélites. (Por cortesía de la Dra. Kathy Mann.)

los mapas genéticos (fig. 7.21). (1 cM se define como una probabilidad de recombinación del 1%, que equivale a una FR de 0,01.)

### Puntuación LOD

La recombinación aleatoria de cromosomas en la meiosis implica que los alelos no ligados de cromosomas diferentes se segregarán juntos en una media del 50% de las veces. De este modo, incluso en familias grandes con muchas meiosis, los marcadores pueden aparecer ligados porque se han segregado juntos repetidas veces de modo aleatorio. La puntea-

ción LOD (acrónimo en inglés de logaritmo del *odds ratio*) es una estimación estadística de la probabilidad de que dos loci se encuentren próximos entre sí en un cromosoma y que, por tanto, sea probable que se hereden juntos. Se suele aceptar que una puntuación de tres o más indica que ambos loci están próximos.

## Selección familiar y análisis del árbol genealógico

El primer paso para identificar el gen de una enfermedad es localizar suficientes familias con el gen para detectar el ligamiento. El papel del clínico es fundamental en esta fase, ya que es imprescindible identificar a todos los miembros afectados de la familia y que todas las familias incluidas en el estudio tengan la misma enfermedad. También debe considerarse el tipo de herencia de la enfermedad (recesiva, dominante, etc.), ya que esta información es necesaria para el análisis de ligamiento.

### Asignación de ligamiento a un cromosoma

Para establecer el ligamiento en un cromosoma específico, se genotipan alrededor de 400 marcadores polimórficos en todos los miembros de la familia:

- Estos marcadores polimórficos son casi siempre microsatélites.
- Se encuentran disponibles de forma gratuita en el PGH.
- Están dispersos a lo largo de todo el genoma.
- Poseen localizaciones conocidas en los mapas genéticos y físicos.

Los datos generados se revisan para determinar si cualquiera de estos marcadores se segrega con la enfermedad (fig. 7.22).

## Mapeo genético de precisión

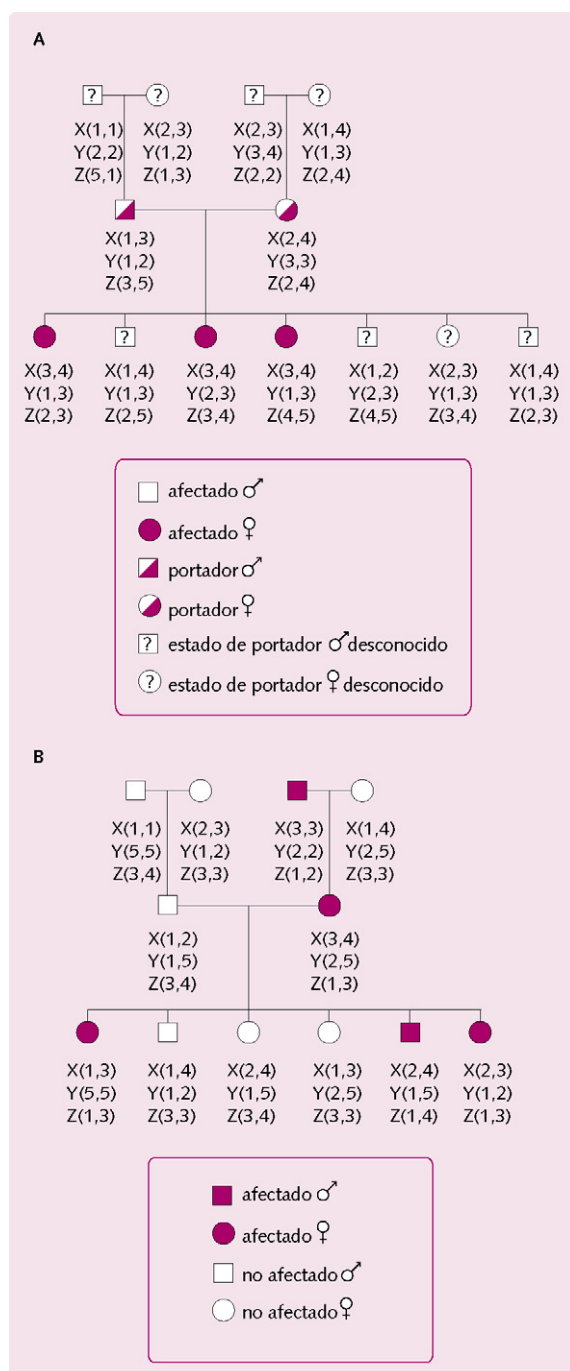
Una vez que se ha identificado el ligamiento en un cromosoma o región cromosómica específicos, se genotipifica un conjunto adicional de marcadores distribuidos más densamente en todos los miembros de una familia para mapear la región cromosómica adecuada. El objetivo es:

- Confirmar que el ligamiento es real.
- Limitar la región del mapa genético en la que puede localizarse el gen de la enfermedad.

Incluso antes de que se hayan identificado las mutaciones causantes de la enfermedad, pueden emplearse marcadores genéticos estrechamente ligados (5 cM o menos) para rastrear la herencia de un gen de enfermedad en familias concretas con fines diagnósticos.

### Del marcador genético ligado al gen clonado

La información obtenida del PGH significa que, una vez que la región genética relevante se ha identificado,



**Fig. 7.22** Identificación del ligamiento entre marcadores polimórficos y genes de enfermedad. En estos ejemplos, se emplean tres marcadores polimórficos (X, Y y Z) para localizar tres cromosomas diferentes (2, 3 y 5 respectivamente). A) En este árbol genealógico que muestra la herencia autosómica recesiva, la enfermedad se segrega con los alelos «3» y «4» del marcador X, lo que sugiere que la enfermedad se mapea en el cromosoma 2. B) En este árbol genealógico que muestra la herencia autosómica dominante, la enfermedad se segrega con el alelo «1» del marcador Z, lo que sugiere que la enfermedad se localiza en el cromosoma 5.

los investigadores y los médicos pueden ir directamente a los mapas de secuencia del PGH. A partir de aquí, se pueden identificar e investigar los genes candidatos como causa del trastorno que se está estudiando. Lo ideal sería que existieran pruebas biológicas disponibles para apoyar que las mutaciones del gen candidato fueran las responsables de la enfermedad concreta, por ejemplo que se conociese la vía bioquímica adecuada, que el gen se exprese en los tejidos afectados por la enfermedad o que exista un modelo en animales.

## Otros métodos para identificar genes de enfermedades humanas

Desde el punto de vista histórico, se han empleado otras estrategias para identificar los genes mutados en las enfermedades genéticas.

- **Clonación funcional:** es la identificación de un gen responsable de una enfermedad, basada en el conocimiento de la alteración molecular subyacente. Por ejemplo, si se conoce la naturaleza de la proteína alterada, con frecuencia es posible aislar los ARNm apropiados (o ADNc derivados de ellos) y usarlos como sondas contra el gen. Esta estrategia se empleó para definir los genes responsables de la fenilcetonuria y de la drepanocitosis.
- **Enfoque del gen candidato:** es el uso de genes previamente aislados como candidatos a ser causantes de enfermedades genéticas específicas si se sabe que desempeñan un papel en la fisiología del tejido enfermo. Este enfoque se usó para identificar las mutaciones de la rodopsina asociadas con la retinitis pigmentosa.

## Enfermedades multifactoriales

El mapeo del ligamiento ha permitido identificar con éxito la base genética de varias enfermedades monogénicas, pero no tiene la potencia adecuada para identificar los múltiples efectos génicos responsables de las enfermedades multifactoriales comunes (v. pág. 167). Sin embargo, varios avances muy recientes en la tecnología de genotipificación de SNP de alto rendimiento han permitido realizar estudios basados en poblaciones a gran escala (en lugar de en familias) que han resultado ser lo bastante potentes para identificar los genes asociados con enfermedades como la diabetes y la enfermedad intestinal inflamatoria.

## Análisis de mutaciones

Si una mutación en un gen concreto es responsable de una enfermedad genética específica, los pacientes con el trastorno deberían tener mutaciones en el gen que no se encuentren en personas sanas.



En los casos en los que la estructura y la secuencia de bases normales aún no han sido establecidas por el PGH, se determinan mediante el análisis molecular del ADNc y de los clones aislados de bibliotecas genómicas. Después de haber determinado la secuencia normal de bases, el ADN del paciente se somete a un cribado para detectar mutaciones mediante métodos como:

- Análisis de polimorfismo de conformación de cadena única (SSCP).
- Análisis heterodúplex.
- Secuenciación directa.

### Diagnóstico de ADN

Una vez que se ha identificado una mutación causante de enfermedad, se desarrollan métodos moleculares que permiten su identificación en el ADN del paciente:

- Se usan técnicas basadas en la PCR para detectar los cambios de bases siempre que sea posible.
- Se emplean técnicas citogenéticas para detectar microdeleciones, inserciones y translocaciones.
- Se utiliza la transferencia de Southern para detectar algunas expansiones de repetición de triplete.

## PROYECTO GENOMA HUMANO

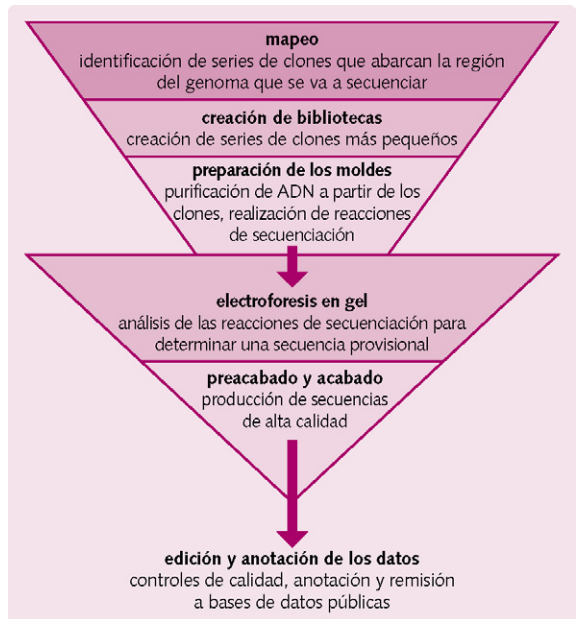
El proyecto genoma humano (PGH) es un trabajo de investigación con cooperación internacional que pretende analizar el genoma humano completo. Los seis objetivos principales del PGH son:

1. Mapeo de genes y marcadores humanos.
2. Secuenciación del genoma humano.
3. Análisis funcional y genética posgenómica.
4. Comparación del genoma humano con el de otros organismos modelo (*E. coli*, *S. cerevisiae*, *C. elegans*, etc.).
5. Desarrollo de nuevas tecnologías de ADN (p. ej., la secuenciación automática).
6. Desarrollo de la bioinformática (sistemas de recogida, almacenamiento y difusión de la información generada por el proyecto).

El PGH ha supervisado el desarrollo de varios tipos de mapas del genoma humano y del de organismos modelo.

### Secuenciación del genoma humano

La secuencia de bases del genoma constituye el tipo de mapa físico más detallado. Los objetivos finales del PGH son la producción de una secuencia de bases



**Fig. 7.23** Etapas del proyecto genoma humano. Los procesos implicados en el mapeo del genoma humano pueden considerarse como dos grandes cedazos. El primero produce clones precisos cada vez más pequeños, mientras que el segundo se ocupa de aumentar la especificidad de secuenciación.

única y continua para cada uno de los cromosomas humanos y la determinación de la ubicación de todos los genes humanos. La secuencia se determinó por pasos progresivos, como se describe en la figura 7.23.

En 2003, se completó un «borrador preliminar» del genoma humano y los últimos artículos sobre el PGH se publicaron en mayo de 2006. Es previsible que en el futuro próximo continúe la corrección de errores leves (en la actualidad, se estima la existencia de 1 error en cada 10.000 nucleótidos).

La secuenciación del genoma humano también ha permitido la construcción de mapas de SNP de alta densidad. Tales mapas harán posible que los investigadores y los clínicos:

- Busquen y aislen genes causantes de enfermedades específicas (trastornos monogénicos).
- Comparen patrones de SNP de poblaciones con una enfermedad multifactorial concreta (p. ej., cáncer, cardiopatía, diabetes de tipo II) con los de personas no afectadas, lo que permitirá establecer asociaciones.
- Guíen el desarrollo de nuevos fármacos, identificando a las personas en quienes un medicamento puede no ser tan eficaz.

### Técnicas computarizadas: bioinformática

La bioinformática es la integración de las matemáticas, la estadística y los métodos de algoritmos



computarizados para analizar los datos moleculares. Con la aparición de las técnicas automatizadas de alto rendimiento, el almacenamiento de datos en bruto en bases de datos permite un estudio exhaustivo de:

- Procesos biológicos normales.
- Procesos biológicos anómalos y relación con la enfermedad.
- Modelado de sistemas biológicos.
- Desarrollo mejorado y personalizado de fármacos.

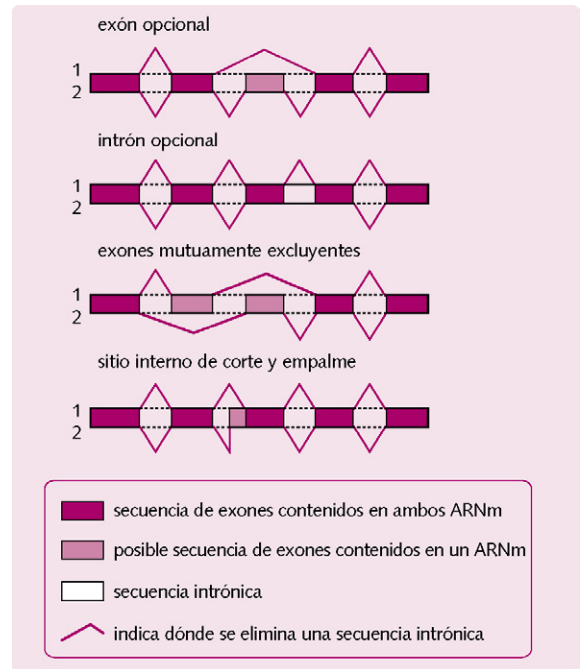
Entre los métodos usados en el campo de la bioinformática se pueden citar:

- La informática de ADN, que incluye el análisis de secuencias, el análisis del marco de lectura abierto (ORF) y el rastreo de genes.
- La genómica: aplicación de la informática de ADN para analizar todo el genoma de un organismo.
- La informática de proteínas, utilizando la secuencia de la proteína para modelar su estructura y función.
- La proteómica: aplicación de la informática de proteínas al análisis del complemento proteico del genoma.
- La metabolómica, definida como «la medición cuantitativa de todos los metabolitos de bajo peso molecular en las células de un organismo en un momento concreto bajo unas condiciones ambientales específicas», no sólo se centra en los productos finales de la expresión génica, sino que también se ocupa de un ambiente fisiológico concreto o de un estado del desarrollo específico.

## Proteoma humano

El proteoma es el conjunto total de proteínas codificadas por el genoma. Comparadas con las de los invertebrados, las proteínas de los vertebrados poseen un mayor repertorio de motivos y dominios disponibles que incluyen estructuras de dominios más complejos, así como proteínas con múltiples dominios y diversas funciones.

Una revelación sorprendente del PGH es que el ser humano al parecer sólo requiere 20.000-25.000 genes codificantes de proteínas (aunque esto podría ser una subestimación), que es sólo el doble de los que poseen las moscas y los gusanos. Sin embargo, los genes del ser humano son más complejos y se cree que procesos como el corte y empalme alternativo aumentan notablemente el número de proteínas producidas (fig. 7.24). Esto, junto con la gran complejidad de los dominios de las proteínas, puede ser suficiente para explicar el incremento de la complejidad del fenotipo de los vertebrados.



**Fig. 7.24** Corte y empalme alternativo. Los exones no consecutivos se unen en algunos pero no en todos los transcritos producidos a partir del gen. Con cada uno de los cuatro mecanismos, un único transcrito de ARN se procesa de dos formas alternativas para producir dos ARNm distintos (1 y 2).

## TERAPIA GÉNICA

El progreso de nuestro conocimiento sobre las bases moleculares de la enfermedad ha llevado a proponer la posibilidad de tratar algunas enfermedades mediante terapia génica (TG), que puede definirse como el tratamiento de una enfermedad añadiendo, insertando o reemplazando un gen o genes normales. Se han identificado muchas enfermedades, tanto congénitas como adquiridas, que podrían ser tratadas de este modo (fig. 7.25).

## Ensayos clínicos con terapia génica

Varios países han establecido comisiones reguladoras cuyo objetivo es supervisar los aspectos técnicos, terapéuticos y de seguridad de los ensayos de TG. Existen dos posibles estrategias de TG:

1. TG de línea germinal: los cambios genéticos podrían introducirse en todos los tipos celulares, incluida la línea germinal.
2. TG de células somáticas: las modificaciones genéticas se dirigen específicamente al tejido enfermo.

**Fig. 7.25** Enfermedades con posibilidades de ser tratadas mediante terapia génica. (Adaptada de Mueller y Young, 2001.)

**Fig. 7.25** Enfermedades con posibilidades de ser tratadas mediante terapia génica

| Enfermedad                                                                                                                | Defecto                                                                                                                |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Inmunodeficiencia                                                                                                         | Déficit de adenosina desaminasa<br>Déficit de fosforilasa de nucleótidos de purina<br>Enfermedad granulomatosa crónica |
| Hipercolesterolemia                                                                                                       | Alteraciones del receptor de lipoproteínas de baja densidad                                                            |
| Hemofilia                                                                                                                 | Déficit del factor VIII (A)<br>Déficit del factor IX (B)                                                               |
| Enfermedad de Gaucher                                                                                                     | Déficit de glucocerebrosidasa                                                                                          |
| Mucopolisacaridosis tipo VII                                                                                              | Déficit de glucuronidasa $\beta$                                                                                       |
| Enfisema                                                                                                                  | Déficit de $\alpha_1$ -antitripsina                                                                                    |
| Fibrosis quística                                                                                                         | Mutaciones del gen <i>CFTR</i>                                                                                         |
| Fenilcetonuria                                                                                                            | Déficit de fenilalanina hidroxilasa                                                                                    |
| Alteraciones del ciclo de la urea<br>Hiperamoniemia<br>Citruinemia                                                        | Déficit de ornitina transcarbamilasa<br>Déficit de arginino succinato sintetasa                                        |
| Distrofia muscular                                                                                                        | Mutaciones de distrofina                                                                                               |
| Talasemia/drepanocitosis                                                                                                  | Mutaciones de la globina $\alpha$ y $\beta$                                                                            |
| Cáncer<br>Melanoma maligno<br>Cáncer de ovario<br>Tumores cerebrales<br>Neuroblastoma<br>Cáncer renal<br>Cáncer de pulmón |                                                                                                                        |
| Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)                                                                            |                                                                                                                        |
| Enfermedades cardiovasculares                                                                                             |                                                                                                                        |
| Artritis reumatoide                                                                                                       |                                                                                                                        |

Existe unanimidad entre las comisiones reguladoras sobre el hecho de que sólo deben permitirse estrategias de TG con células somáticas. Las estrategias de línea germinal no se consideran éticas, ya que los cambios genéticos se transmitirían a las generaciones futuras. Antes de comenzar un ensayo de TG, se deben cumplir los siguientes requisitos:

- El gen implicado debe haber sido clonado y caracterizado.
- El tejido específico correspondiente debe identificarse y ser accesible.
- Debe definirse un sistema de vectores seguro y eficaz para el gen.
- Deben tenerse en cuenta las bases científicas de la TG y deben sopesarse los riesgos detectados frente a los beneficios potenciales.

## Sistemas de vectores

Un sistema de vectores es el medio por el que se hace llegar el ADN a las células diana. Conseguir una introducción eficaz del ADN es uno de los mayores problemas que deben superarse. El vector ideal para la TG tendría las siguientes propiedades:

- Se produciría fácilmente.
- Proporcionaría una expresión continuada y regulada del gen introducido.
- Sería inmunológicamente inerte.
- Sólo introduciría el gen en el tejido preciso.
- Sería capaz de introducir el mayor de los genes y los elementos de control necesarios para su expresión.

**Fig. 7.26** Vectores para la terapia génica en fibrosis quística: ventajas e inconvenientes

| Vector                   | Ventajas                                                                                                                                                                                                    | Inconvenientes                                                                                                                                                                                                       |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Adenovirus recombinantes | Se dirigen hacia el epitelio de las vías respiratorias; infectan las células que no se están replicando; en experimentos preliminares, el 40% de las células epiteliales respiratorias incorporan el vector | La expresión en las células a las que afecta es transitoria; puede producir una respuesta inflamatoria en el receptor; no se sabe si la readministración es segura (posibilidad de respuesta inmunitaria secundaria) |
| Liposomas                | Pueden ser introducidos directamente en el pulmón (en aerosol o mediante irrigación directa o infusión intravenosa); es raro que la readministración provoque una respuesta inmunitaria                     | Baja captación de los liposomas; en experimentos preliminares sólo el 5% de las células epiteliales se transfectan, lo que no es suficiente para provocar un efecto terapéutico                                      |

**Fig. 7.26** Ventajas e inconvenientes de los vectores adenovirus y liposomas en la terapia génica de la fibrosis quística.

- Se integraría de modo preciso en el genoma, en un lugar específico, o de lo contrario se mantendría como un episoma estable.
- Sería capaz de infectar tanto células en reposo como en división.

Existen dos tipos principales de sistemas de vectores:

1. Sistemas de vectores físicos (no víricos) (p. ej., los liposomas).
2. Vectores víricos, que pueden integrarse en el genoma (vectores asociados con retrovirus, lentivirus y adenovirus) o mantenidos como episomas (adenovirus).

Los vectores víricos derivan de virus en los que se han reemplazado los componentes genéticos esenciales para su propagación posterior con el gen terapéutico. Los liposomas son vesículas lipídicas artificiales que se funden con la membrana celular para liberar su contenido (ADN en el caso de la TG).

Ambos tipos de sistemas de vectores, con sus correspondientes ventajas e inconvenientes, se han empleado en ensayos clínicos, por ejemplo en el tratamiento de la fibrosis quística mediante TG (fig. 7.26).

# Enfermedades genéticas



## Objetivos

En este capítulo aprenderás a:

- Comprender los procesos habituales causantes de mutagénesis y conocer cómo las distintas clases de mutaciones provocan distintos efectos sobre la estructura y la función de las proteínas.
- Dibujar árboles genealógicos de ejemplo representativos de herencia autosómica dominante, autosómica recesiva, dominante ligada al X, recesiva ligada al X, holándrica y mitocondrial.
- Comprender el concepto de consanguinidad y su efecto en la incidencia de enfermedades autosómicas recesivas.
- Comprender cómo la inactivación sesgada del cromosoma X puede hacer que algunas enfermedades recesivas ligadas al X aparezcan en mujeres.
- Definir el fenómeno de anticipación y comprender su relevancia en las enfermedades por repetición de trinucleótidos.
- Comprender el concepto de heredabilidad en el contexto de las enfermedades complejas y describir el modelo de umbral de las enfermedades multifactoriales.
- Comprender la relevancia de la predisposición heterocigótica al cáncer y describir las características sugestivas de susceptibilidad heredada al cáncer.
- Definir aneuploidía, triploidía, trisomía y monosomía, con ejemplos de las enfermedades resultantes.

El término de enfermedad genética engloba no sólo los trastornos monogénicos (v. págs. 156-162) y los defectos cromosómicos (v. págs. 173-180), sino también las enfermedades multifactoriales complejas (v. págs. 164-167), en las que el impacto de la genética puede que no sea tan evidente. Aunque cada trastorno genético puede ser infrecuente por separado, si se combinan todas las enfermedades genéticas su frecuencia es elevada, pueden afectar a cualquier sistema corporal y tienen un impacto considerable sobre la morbimortalidad. Se deben tener unas nociones sólidas de genética, no sólo para el diagnóstico y el tratamiento de tales enfermedades, sino también para identificar a los «portadores» de enfermedades genéticas, con el fin de derivar a los pacientes para recibir consejo genético (v. págs. 187-190).

la patogenia de una enfermedad genética, al alterar las secuencias génicas y, en última instancia, sus productos proteicos. Las mutaciones que tienen lugar en el ADN de los gametos (espermatozoide y óvulo) se heredan y se transmiten a la descendencia.

## Mecanismos de mutación

A nivel monogénico, las mutaciones pueden ser el resultado de una:

- Sustitución (mutación puntual).
- Deleción.
- Inserción.
- Inversión.
- Expansión de repeticiones de tripletes (expansión inestable).

## MUTACIÓN

Las mutaciones son cambios permanentes de la cantidad o estructura del material genético. Pueden heredarse o producirse de modo espontáneo y se pueden dividir en mutaciones de la línea germinal o somáticas. La mutación desempeña un papel clave en

### Sustitución

La sustitución es el reemplazo de un único nucleótido por otro, sin ganancia o pérdida neta de material cromosómico. Las mutaciones puntuales pueden producirse por errores de la replicación del ADN, de la reparación que sigue al daño del ADN o (con mayor frecuencia) como resultado de desaminaciones

espontáneas de citosina metilada a timina. Las sustituciones se clasifican en:

- Transiciones: purina a purina o pirimidina a pirimidina.
- Transversiones: purina a pirimidina o viceversa (fig. 8.1).

Las mutaciones puntuales pueden ser silentes o deletéreas, según el sitio en el que se produzcan (v. pág. 155) o la localización (fig. 8.2). Pocas veces una mutación confiere ventajas y es favorecida por la selección natural.

Delección e inserción

La delección es la pérdida de ADN que va desde uno hasta muchos miles de pares de bases. Las secuencias de los extremos de las delecciones son a menudo similares, lo que predispone a errores de recombinación (fig. 8.2A).

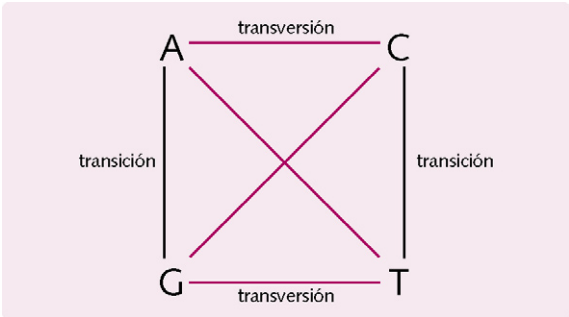


Fig. 8.1 Relación entre mutaciones de sustitución por transición y transversión. Las transiciones son intercambios de una purina por otra purina, o de una pirimidina por otra pirimidina, mientras que las transversiones consisten en un intercambio de una purina por una pirimidina o viceversa.

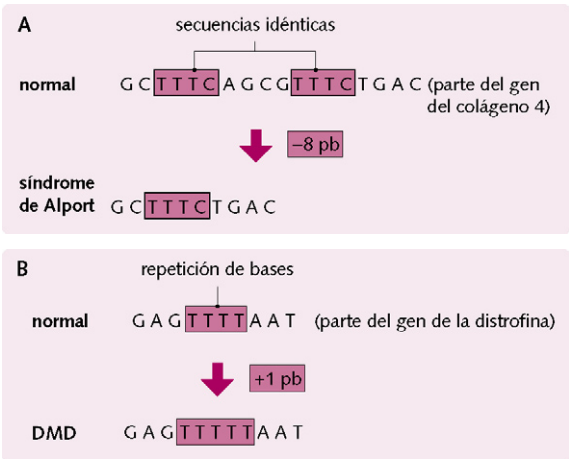


Fig. 8.2 A) Delección en el síndrome de Alport, una enfermedad hereditaria de las membranas basales, caracterizada por hipoacusia neurosensorial e insuficiencia renal. B) Duplicación en la distrofia muscular de Duchenne (DMD). A, adenina; C, citosina; G, guanina; pb, pares de bases; T, timina.

La inserción consiste en la ganancia de ADN. La duplicación es un tipo especial de inserción en el cual las repeticiones de una base o de una secuencia predisponen a la duplicación por deslizamiento de la replicación (fig. 8.2B).

Los efectos de la delección e inserción sobre la proteína dependen de:

- La cantidad de material perdido.
- Si se afecta el marco de lectura (fig. 8.3).

Si la mutación implica la inserción o delección de un número de nucleótidos que no es múltiplo de tres, se produce una mutación con desplazamiento del marco de lectura (v. pág. 155).

Inversión

Las inversiones pueden afectar a cualquier cantidad desde dos hasta muchos miles de pares de bases. Se producen en áreas de homología de secuencia (las secuencias en cada extremo del fragmento invertido a menudo son similares). En la hemofilia A, el 40% de las mutaciones se producen por una inversión de varios cientos de miles de pares de bases en el gen del factor VIII.

Expansión de repeticiones de tripletes

La expansión de repeticiones de tripletes o trinucleótidos es un tipo de repeticiones inestables

|   |                              |                                      |             |
|---|------------------------------|--------------------------------------|-------------|
| A | tipo normal                  | TACAACGTCACCATT<br>AUGUUGCAGUGGUAA   | ADN<br>ARNm |
|   |                              | met-leu-gln-trp-STOP                 | proteína    |
| B | mutación silente             | TACAATGTCACCATT<br>AUGUUACAGUGGUAA   | ADN<br>ARNm |
|   |                              | met-leu-gln-trp-STOP                 | proteína    |
| C | mutación de aminoácido       | TACAAGGTCACCATT<br>AUGUCCAGUGGUAA    | ADN<br>ARNm |
|   |                              | met-phe-gln-trp-STOP                 | proteína    |
| D | mutación de interrupción     | TACAACGTCACATTT<br>AUGUUGCAGUGAUAA   | ADN<br>ARNm |
|   |                              | met-leu-gln-STOP                     | proteína    |
| E | mutación de marco de lectura | TATCAACGTCACCATT<br>AUAGUUGCAGUGAUAA | ADN<br>ARNm |
|   |                              | ile-val-gly-val-ile-                 | proteína    |

Fig. 8.3 Efectos estructurales de las mutaciones sobre las proteínas. A) Tipo normal. B) Mutación silente. C) Mutación de aminoácido. D) Mutación de interrupción. E) Mutación de marco de lectura.



de microsatélites (v. págs. 138-139), que suele afectar a trinucleótidos con abundancia de citosina/guanina (CGG, CCG, CAG, CTG) que se producen en todas las secuencias genómicas. Pueden abarcar desde unas pocas copias hasta varios miles de repeticiones. Si estas repeticiones se encuentran en la región codificante de un gen, su expansión da lugar a un producto génico defectuoso, causante de una enfermedad (v. después). La expansión con cada generación sucesiva da lugar a un fenómeno de «anticipación» (v. pág. 162). Las expansiones de repeticiones de tripletes pueden heredarse de forma autosómica dominante o recesiva, o bien estar ligadas al cromosoma X.

En la ataxia de Friedreich, la anomalía más frecuente (FRDA1) es una expansión de la secuencia del trinucleótido GAA en el primer intrón del gen *FXN*. Mientras que una persona sana tiene 8-30 copias de este trinucleótido, los pacientes con ataxia de Friedreich tienen hasta 1.000. Cuanto mayor es el número de copias de GAA, antes se manifiesta la enfermedad y más rápido es el deterioro del paciente. Esta expansión es intrónica y se cree que hace que el ADN sea «adhesivo», lo que interfiere con el proceso de transcripción.

## Efectos estructurales de la mutación sobre una proteína

### Mutaciones silentes

Las mutaciones silentes se deben a mutaciones puntuales y son las que no tienen efecto sobre la secuencia de aminoácidos de una proteína (fig. 8.3A, B). Durante mucho tiempo se han considerado «evolutivamente neutras», pero varios estudios recientes han demostrado que estas mutaciones pueden influir en el control del corte y empalme diferencial.

### Mutaciones de aminoácido

Las mutaciones de aminoácido (*missense*) se producen cuando un cambio de base provoca la incorporación de un aminoácido distinto en la cadena proteica en crecimiento (fig. 8.3A, C). El efecto de la mutación sobre la función de la proteína depende de su localización respecto a la estructura terciaria o cuaternaria de la proteína y de si los dos aminoácidos implicados son del mismo grupo o de grupos diferentes (es decir, un cambio de hidrófobo a hidrófilo conlleva una mayor alteración que una

sustitución de hidrófobo a hidrófobo). Las mutaciones de aminoácido que alteran en gran medida el plegado de la proteína tienen un efecto más marcado que las que no comprometen esta función.

En la drepanocitosis, la sustitución de A por T en el nucleótido 17.º del gen de la globina  $\beta$  cambia el codón del 6.º aminoácido de GAG (ácido glutámico) por GTG (valina). Esta mutación de aminoácido modifica la solubilidad y la estabilidad molecular de la proteína resultante y la hemoglobina que se produce tiene la propiedad física de formar polímeros en condiciones de hipoxia, lo que causa el aspecto falciforme de los eritrocitos.

### Mutaciones de terminación

Las mutaciones de terminación (*nonsense*) son mutaciones puntuales que provocan la conversión de un codón en un codón de terminación (UAG, UAA, UGA) (fig. 8.3A, D). Dan lugar a un producto proteico truncado y las que se producen en un punto más cercano al principio del gen tienen una mayor probabilidad de inactivar dicho gen por completo.

### Mutaciones del marco de lectura

Las inserciones y deleciones de nucleótidos, si no son un múltiplo de tres, causan mutaciones del marco de lectura, en las que el marco de lectura abierto del gen y la secuencia correspondiente de aminoácidos están alterados, lo que suele provocar la inactivación completa del gen (fig. 8.3A, E).

## Efectos funcionales de la mutación sobre una proteína

Exceptuando los genes con impronta (v. págs. 162-163), se expresan tanto los genes del cromosoma materno como los del paterno. Si el gen materno o paterno contiene una mutación, la célula expresará dos proteínas diferentes. Las mutaciones ejercen sus efectos sobre el fenotipo mediante uno de estos dos mecanismos: pérdida de función o ganancia de función.

### Mutaciones con pérdida de función

#### Mutación amorfa

Las mutaciones amorfas, denominadas también «mutaciones nulas», se asocian a una ausencia completa de la función del producto génico.

### Mutación hipomorfa

Las mutaciones hipomorfas provocan una pérdida parcial de la función. Suelen deberse a:

- La alteración de un aminoácido, que reduce la actividad del polipéptido.
- La reducción de la transcripción, lo que provoca que haya menor cantidad del transcrito normal.

Suelen ser recesivas frente al tipo normal.

### Haploinsuficiencia

La mayoría de los estados heterocigóticos son haploinsuficientes, es decir, una copia funcional de un gen es suficiente para que se manifieste un fenotipo de tipo normal. En la haploinsuficiencia, una reducción del 50% de la función génica provoca un fenotipo anómalo y, por tanto, no es suficiente para permitir una función normal de la célula. Estas mutaciones son siempre dominantes.

### Mutaciones con ganancia de función

Estas mutaciones provocan:

- un aumento de la actividad del producto génico (hipermorfas),
- o
- la ganancia de una función nueva o un patrón nuevo de expresión génica del producto del gen (neomorfas).

Suelen ser dominantes.

Las expansiones de repeticiones de trinucleótidos también son mutaciones con ganancia de función, por lo general, la ganancia tóxica de una función proteica, que predispone a un plegado anómalo de la proteína y a una agregación de la misma, lo que provoca neurodegeneración.

### Mutaciones negativas dominantes

Las mutaciones negativas dominantes también se denominan mutaciones antimorfas. Se producen cuando el producto del alelo nulo afecta de forma negativa al producto del gen normal, por ejemplo, al formar un dímero con él e inactivarlo. El ejemplo clásico es el de un cambio de aminoácido que impide a un polipéptido funcionar como un complejo proteico multimérico, como sucede con la fibrilina en el síndrome de Marfan.

## ENFERMEDADES MONOGÉNICAS

Las enfermedades monogénicas o de gen único se deben a la mutación de genes individuales y suelen

presentar unos patrones evidentes y característicos de herencia. Existen alrededor de 6.000 enfermedades monogénicas. Por separado, son infrecuentes, con una incidencia de 1/10.000-1/100.000, pero tomadas en conjunto, las enfermedades monogénicas son frecuentes y afectan al 1% de la población. Algunos trastornos monogénicos dependen de un desencadenante ambiental para expresar su fenotipo:

- La intolerancia a la lactosa no se manifiesta si no se toma lactosa en la dieta.
- El enfisema grave en las personas homocigóticas para las mutaciones causantes de una deficiencia de  $\alpha_1$ -antitripsina se limita en gran medida a los fumadores.

Las enfermedades monogénicas suelen seguir patrones mendelianos de herencia y los miembros de las familias en las que se manifiestan estas enfermedades tienen un riesgo mucho mayor de desarrollar el trastorno que la población general en su totalidad.

### Introducción a los árboles genealógicos

Un árbol genealógico es un registro de los antepasados, descendientes, familiares y su descendencia, que puede utilizarse para determinar el patrón de algunos genes o herencia de enfermedades en el seno de una familia (fig. 8.4).

### Herencia mendeliana de las enfermedades monogénicas

Los rasgos mendelianos se producen en una proporción predecible entre los descendientes de progenitores que poseen dicho rasgo. El patrón de herencia observado depende de la localización cromosómica del gen (ligado al X o autosómico) y de si el fenotipo es dominante o recesivo. Por tanto, existen cinco patrones de herencia monogénica mendeliana.

1. Autosómica dominante.
2. Autosómica recesiva.
3. Dominante ligada a X.
4. Recesiva ligada a X.
5. Ligada a Y/holándrica.

Un sexto patrón de herencia mitocondrial es la no mendeliana (v. págs. 163-164).

En genética médica, el fenotipo dominante es el que se expresa en heterocigotos, mientras que un rasgo recesivo se expresa sólo en homocigotos. Si la expresión de cada alelo puede detectarse en presencia del otro, ambos alelos se denominan codominantes.

Fig. 8.4 Símbolos y configuración de los árboles genealógicos.



La herencia dominante y recesiva se define según fenotipos clínicos que no siempre reflejan el comportamiento del alelo desde el punto de vista molecular. Las mutaciones en la proteína del retinoblastoma son recesivas a nivel celular porque un alelo expresa suficiente proteína para desarrollar las funciones biológicas. Sin embargo, desde el punto de vista fenotípico la predisposición al cáncer se hereda de modo dominante porque la pérdida aleatoria del alelo compensador siempre se produce al menos en una célula (v. también págs. 170-172).

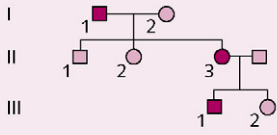
## Enfermedades autosómicas dominantes

### Herencia autosómica dominante

Un gen dominante se expresa fenotípicamente en los homocigotos y heterocigotos para este gen (fig. 8.5). En este patrón de herencia:

- La herencia se denomina vertical (los progenitores afectados tienen hijos afectados) para reflejar el patrón que se observa en los árboles genealógicos genéticos.
- Los miembros no afectados de una familia suelen tener parejas no afectadas y tienen hijos sanos.

ejemplo de árbol genealógico



descendencia de un progenitor afectado (Aa)

| gametos                |   | progenitor afectado |    |
|------------------------|---|---------------------|----|
|                        |   | A                   | a  |
| progenitor no afectado | a | Aa                  | aa |
|                        | a | Aa                  | aa |

50% de los niños afectados de media (esto es, Aa, tal como se muestra)

Fig. 8.5 Ejemplo de árbol genealógico y progeñie típica de emparejamientos en la herencia AD. A, alelo de la enfermedad.

- Los miembros afectados de una familia suelen tener parejas no afectadas y una proporción de hijos afectados/no afectados 1:1.
- Por lo general, ambos sexos se afectan por igual y tienen la misma probabilidad de transmitir la enfermedad.

Los homocigotos para el rasgo son raros. En algunas enfermedades autosómicas dominantes (AD), las nuevas mutaciones proporcionan una parte sustancial de los casos (p. ej., acondroplasia, poliposis adenomatosa familiar). Los genes AD pueden presentar:

- Limitaciones por razón de sexo (p. ej., calvicie, gota, pubertad precoz limitada a los varones, cáncer de mama/ovario familiar).
- Penetrancia incompleta (p. ej., retinoblastoma).
- Expresividad variable (p. ej., esclerosis tuberosa).
- Impronta (v. pág. 162).
- Anticipación (v. págs. 162-163).

**Bases moleculares de la herencia autosómica dominante**

En las enfermedades AD, la enfermedad se produce a pesar de la presencia del producto génico normal expresado a partir del alelo normal. Esto puede deberse a:

- Insuficiencia haploide, por ejemplo hipercolesterolemia familiar (fig. 8.6).
- Efecto negativo dominante, por ejemplo osteogénesis imperfecta (fig. 8.7).
- Ganancia simple de función, por el aumento de expresión de proteínas normales (p. ej., enfermedad de Charcot-Marie-Tooth tipo 1a) o

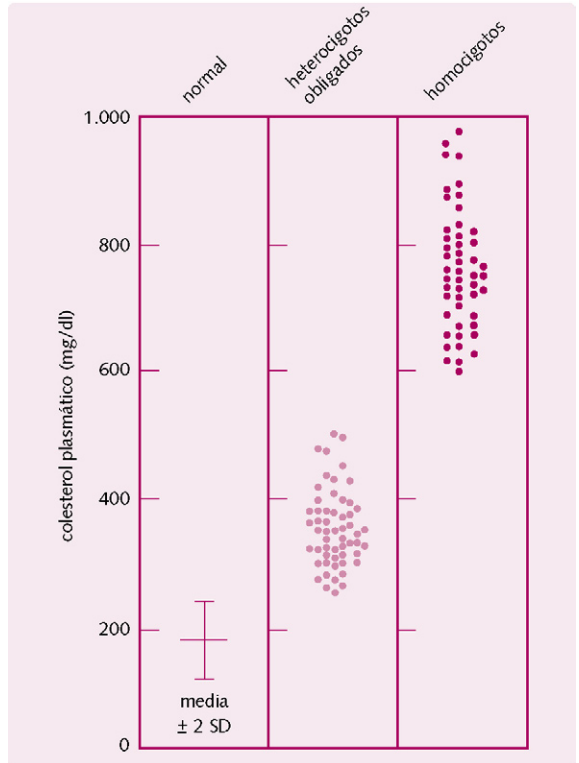
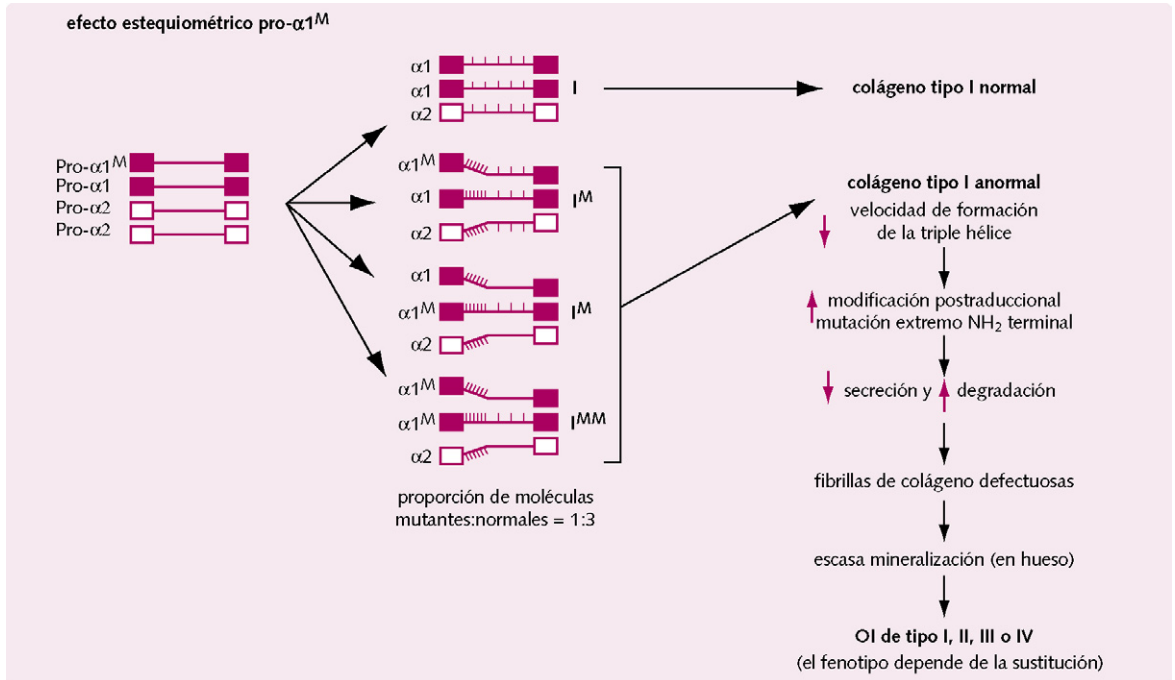


Fig. 8.6 Dosis génica en la hipercolesterolemia familiar. Esta enfermedad se produce por mutaciones en el gen que codifica el receptor de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), una proteína de la superficie celular que se une a la LDL extracelular y la transporta al interior celular. Los heterocigotos muestran niveles de colesterol plasmático intermedio entre los normales y los homocigotos para la mutación. Sin embargo, el nivel del colesterol plasmático en los heterocigotos es suficiente para desarrollar cardiopatías prematuras, de modo que la enfermedad muestra un patrón de herencia autosómica dominante. (Adaptada de Nussbaum, McInnes y Willard, 2001.)

La hipercolesterolemia familiar es una enfermedad autosómica dominante, que se debe a una mutación en el gen del receptor de LDL situado en el cromosoma 19, con una incidencia de 1:500. La falta de receptores de LDL aumenta la semivida del LDL-colesterol en la sangre, pasando de 2,5 días a alrededor de 5 días, lo que provoca una elevación considerable de la concentración de LDL y unas concentraciones normales de otros tipos de colesterol. El exceso de LDL-colesterol lo captan los macrófagos y las células espumosas. Las secuelas de las concentraciones elevadas de LDL son aterosclerosis, xantomas tendinosos, xantelasmas y arco corneal prematuro.

por la expresión de una nueva proteína anómala con nuevas propiedades (p. ej., enfermedad de Huntington).



**Fig. 8.7** Efecto dominante negativo. El colágeno normal está constituido por una triple hélice que consta de dos moléculas pro- $\alpha 1$  y una de pro- $\alpha 2$ . El procolágeno que contiene una mutación con cambio de aminoácido (pro- $\alpha 1^M$ ) desestabiliza la triple hélice, dando lugar a un aumento de la degradación y disminución de la secreción de la proteína madura, que finalmente producen osteogénesis imperfecta. (Adaptada de Nussbaum, McInnes y Willard, 2001.)

## Enfermedades autosómicas recesivas

### Herencia autosómica recesiva

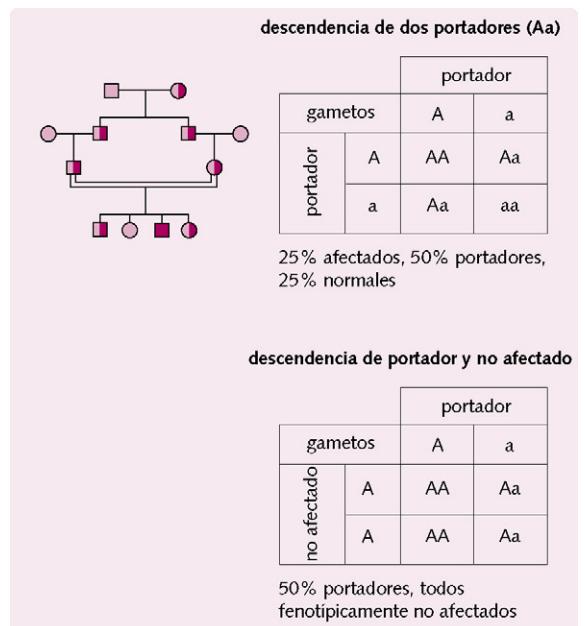
Un gen o un rasgo autosómico recesivo (AR) se expresa sólo en los homocigotos para el gen anómalo (fig. 8.8). En la herencia autosómica recesiva:

- Las personas afectadas suelen tener progenitores fenotípicamente normales, lo que en ocasiones se denomina «herencia horizontal», para reflejar el patrón que se observa en los árboles genealógicos genéticos.

El término herencia horizontal se acuñó para describir el patrón de árbol genealógico que se observa en familias con antecedentes de una enfermedad autosómica recesiva. No implica que los familiares puedan transmitirse una enfermedad entre sí.



- Las personas afectadas suelen tener parejas sanas y todos sus hijos serán portadores.
- Si un portador posee una pareja sana, hay un 50% de posibilidades de que los hijos sean portadores.



**Fig. 8.8** Ejemplo de árbol genealógico y descendencia propia del emparejamiento en la herencia autosómica recesiva. a, alelo de enfermedad.



- Sólo las uniones entre heterocigotos tendrán hijos afectados, con una frecuencia esperada de 1 de cada 4.
- Ambos sexos se afectan por igual.
- Se asocia con consanguinidad al compartir genes en familias (las enfermedades genéticas recesivas raras son más probables en los casos de consanguinidad).

La consanguinidad se produce cuando se emparejan personas con una relación familiar más estrecha que la de primos de segundo grado.

### Complementación

La complementación es la capacidad de que dos defectos genéticos diferentes se corrijan mutuamente. En las enfermedades recesivas, las personas afectadas son homocigotas para las mutaciones de un gen concreto, de modo que dos progenitores con el mismo fenotipo siempre tendrán un hijo afectado. Sin embargo, en ocasiones podrán tener un hijo sano debido a la complementación que surge si los progenitores que poseen el trastorno son homocigotos para las mutaciones de genes diferentes de la misma vía (fig. 8.9).

### Bases moleculares de la herencia recesiva

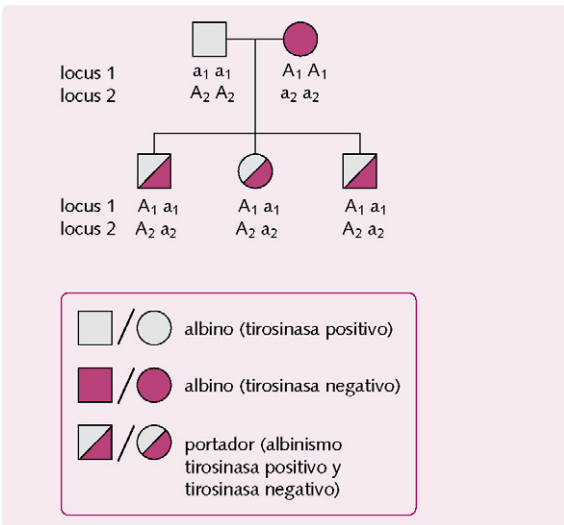
Los trastornos AR suelen englobar muchos defectos enzimáticos en los que la expresión del alelo normal en el heterocigoto proporciona una cantidad suficiente de proteína funcional para evitar la

enfermedad. Sin embargo, los homocigotos que no expresan proteína funcional desarrollan el trastorno asociado.

Los siguientes son ejemplos de enfermedades autosómicas recesivas:

- Drepanocitosis.
- Talasemia  $\beta$ .
- Fenilcetonuria.
- Hemocromatosis.

La fenilcetonuria (FCU) es una enfermedad autosómica recesiva secundaria a una mutación de la fenilalanina hidroxilasa codificada en el cromosoma 12, de modo que la incapacidad para convertir la fenilalanina en tirosina provoca la acumulación de fenilalanina y sus productos metabólicos en los líquidos corporales. Si no se identifica y no se trata, la FCU provoca discapacidad mental irreversible, microcefalia y crisis epilépticas. Otros signos son escleróticas azules, pelo rubio, eccema y olor mohoso. La FCU puede controlarse con dieta. La restricción de la ingesta de fenilalanina desde una etapa precoz de la vida asegura un desarrollo intelectual normal.

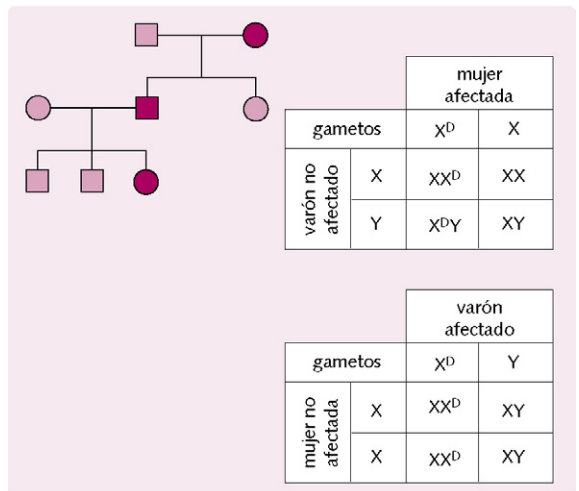


**Fig. 8.9** Árbol genealógico que muestra la complementación. Ambos progenitores son albinos pero todos sus hijos son normales. Dado que el albinismo es una enfermedad autosómica recesiva, esta observación puede ser explicada si los progenitores son homocigotos para mutaciones en distintos genes de la misma vía. Por tanto, los niños son portadores asintomáticos de ambas mutaciones.  $A_1$ , alelo normal en locus 1;  $a_1$ , mutado en el locus 1;  $A_2$ , normal en locus 2;  $a_2$ , mutado en locus 2.

### Enfermedades ligadas al cromosoma X

#### Herencia dominante ligada a X

La herencia dominante ligada a X (DX) es rara y es difícil de distinguir de la AD, salvo que los varones afectados tienen hijos normales pero todas las hijas están afectadas (fig. 8.10).



**Fig. 8.10** Ejemplo de árbol genealógico y descendencia típica de los emparejamientos en la herencia dominante ligada al cromosoma X.  $X^D$ , alelo de la enfermedad.

Algunos ejemplos son:

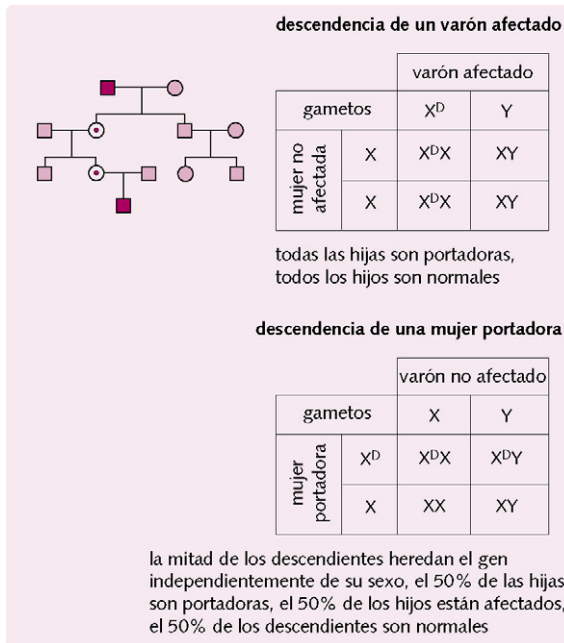
- Síndrome de Aicardi.
- Raquitismo ligado a la vitamina D.
- Síndrome de Rett.

El raquitismo ligado a la vitamina D (denominado también hipofosfatemia ligada al X) es una enfermedad dominante ligada al X, que se caracteriza por hipofosfatemia, normocalcemia y concentraciones normales o bajas de calcitriol. Se debe a mutaciones en el gen *PHEX*, que causan una reducción de la reabsorción de fosfato en el túbulo renal e hiperfosfatúria. La presentación clásica consiste en talla baja, arqueamiento de las extremidades inferiores y cambios raquíticos en los huesos largos.

### Herencia recesiva ligada al X

El patrón de herencia para los genes recesivos ligados a X (RX) es el siguiente (fig. 8.11):

- Los varones presentan más el fenotipo recesivo que las mujeres.
- La enfermedad se transmite a través de una portadora femenina que suele ser asintomática.
- Si una madre es portadora, sus hijos poseen un 50% de probabilidades de estar afectados y sus hijas un 50% de ser portadoras.



**Fig. 8.11** Ejemplo de árbol genealógico y descendencia típica de los emparejamientos en la herencia recesiva ligada al cromosoma X. X<sup>D</sup>, alelo de la enfermedad.

- Un varón afectado generalmente no tendrá descendencia afectada, pero todas las hijas serán portadoras.
- Ningún hijo de un varón afectado heredará el gen (es decir, no hay transmisión varón-varón).
- Los varones afectados pueden tener progenitores no afectados, pero con frecuencia tendrán un tío o un primo materno afectado.

### Bases moleculares de la herencia ligada a X

Los varones (XY) poseen un único cromosoma X y se les clasifica por tanto como hemigigotos. Dado que los varones reciben sólo una copia de los genes ligados a X (excepto aquellos de la región pseudoautosómica), expresarán cualquiera de los rasgos RX debido a que no poseen el alelo normal compensador.

Para compensar el complemento doble de las mujeres, la inactivación del cromosoma X (fenómeno de Lyon) asegura que los genes ligados al cromosoma X sólo se expresen a partir de uno de los dos cromosomas X de cualquier célula. En una célula concreta, la selección de un cromosoma X para su inactivación es aleatoria, pero una vez establecida en etapas precoces del desarrollo, el patrón de inactivación se transmite a las células hijas. Las mujeres no tienden a presentar enfermedad RX debido a que muchas de sus células expresarán el alelo normal. Las enfermedades recesivas ligadas a X pueden afectar a las mujeres en los siguientes casos:

- Hijas de un varón enfermo y una mujer portadora.
- Si se produce la inactivación del cromosoma X normal con un patrón sesgado.
- Si existe una translocación entre el cromosoma X y un autósoma.
- Si presenta un síndrome de Turner (XO).

Algunos ejemplos de enfermedades recesivas ligadas al cromosoma X son:

- Deficiencia de G6PDH.
- Hemofilia A.
- Distrofia muscular de Duchenne.
- Enfermedad de Fabry.

La distrofia muscular de Duchenne (DMD) se hereda de forma recesiva ligada al X. Una mutación en el gen de la distrofina (proteína implicada en el anclaje de las fibras musculares a la matriz extracelular, provoca una deficiencia de distrofina en la membrana plasmática, una entrada incontrolada de calcio en la célula y la producción de cantidades elevadas de radicales libres de oxígeno. Los síntomas principales son una atrofia muscular rápidamente progresiva y debilidad, por lo general de los músculos proximales.

## Herencia ligada al cromosoma Y

Puesto que sólo los varones tienen el cromosoma Y, sólo ellos pueden transmitirlo a su descendencia, y sólo sus hijos varones pueden recibirlo. Sin embargo, el cromosoma Y se hereda sin recombinación genética intercromosómica; no obstante, el cromosoma Y contiene regiones pseudoautosómicas que permiten el apareamiento con el cromosoma X en la meiosis.

El cromosoma Y contiene los genes para determinar la «masculinidad». Entre ellos se encuentran:

- *SRY*: región determinante del sexo.
- *TDF*: factor de determinación testicular.
- *DAZ*: sufre una delección en la azoospermia.

La mutación de cualquiera de estos genes provoca azoospermia. Los varones con una mutación en el gen *SRY*, además de tener problemas de fertilidad, tienen talla baja.

## Heterogeneidad en los trastornos mendelianos

### Heterogeneidad genética

Es el fenómeno por el cual fenotipos idénticos o similares pueden deberse a mecanismos genéticos distintos. Estos mecanismos pueden ser mutaciones alélicas diferentes en el mismo gen, o mutaciones en loci (genes) diferentes. Estos trastornos pueden (pero no necesariamente) mostrar más de un tipo de herencia; por ejemplo, la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth suele heredarse de forma autosómica dominante, pero existen las variantes autosómica recesiva y dominante ligada al X.

### Heterogeneidad alélica

Las distintas mutaciones en el mismo gen pueden producir fenotipos diferentes. Es una causa importante de variación clínica. Por ejemplo, mutaciones específicas dentro del gen *CFTR* se asocian con una función pancreática normal, en contraposición con las formas de fibrosis quística con insuficiencia pancreática.

### Heterogeneidad de locus

Es la situación en la que las mutaciones de dos o más loci diferentes pueden producir el mismo fenotipo o parecido. Por ejemplo, la retinitis pigmentosa puede producirse por mutaciones en muchos genes diferentes, incluido el gen de la rodopsina en el cromosoma 3 y en el gen regulador de GTPasa en el cromosoma X.

## Herencia no mendeliana de las enfermedades monogénicas

Se han identificado algunas enfermedades que no siguen los patrones clásicos de la herencia mendeliana. Se están empezando a conocer los mecanismos moleculares de estas patologías.

### Mecanismos que subyacen en la herencia no mendeliana

#### Anticipación

La anticipación es la aparición de una enfermedad hereditaria a edades progresivamente más precoces en las sucesivas generaciones. Las mutaciones de los genes asociados con la anticipación son expansiones de repeticiones de tripletes, que tienden a alargarse en generaciones sucesivas (p. ej., corea de Huntington, distrofia miotónica). Las grandes expansiones de repeticiones de tripletes se asocian con una edad de aparición temprana.

#### Impronta

Es la expresión diferencial del material genético, desde el punto de vista cromosómico o alélico, según el progenitor (padre o madre) del que se haya heredado. Se cree que se produce por inactivación selectiva de los genes (probablemente por metilación) con patrones diferentes durante la gametogénesis del varón o de la mujer. Las molas hidatiformes muestran los distintos papeles de los genomas materno y paterno:

- Una mola completa (46,XX) posee todos los cromosomas de origen paterno (ambos cromosomas X son de origen paterno, es decir, un grupo paterno extra con ausencia del grupo materno) y su resultado es la ausencia de feto o una placenta normal con hiperplasia grave del citotrofoblasto.
- Una mola parcial (69,XXX o 69,XXY) es triploide con un conjunto extra de cromosomas de origen paterno o materno. Un grupo extra paterno (diándrico) produce abundante trofoblasto pero un escaso desarrollo embrionario. Un grupo extra materno (digínico) produce un grave retraso del desarrollo embrionario con una placenta pequeña y fibrosa.

La impronta es importante en la etiología de los síndromes de Prader Willi (PW) y de Angelman (SA), ambos surgidos de la misma microdelección del cromosoma 15q11-13 (la denominada «región crítica»). El fenotipo varía entre el PW y el SA según si la región crítica delecionada se hereda de la madre o del padre.

El SA se debe a la inactivación por impronta en la región crítica en el cromosoma de origen paterno y el PW a la inactivación de la misma región del cromosoma materno (fig. 8.12). Cuando un hijo hereda un cromosoma 15 que tiene la microdelección:

- El SA se debe a la pérdida de material genómico con impronta del locus materno 15q11-13, lo que elimina la única copia activa del gen responsable *UBE3A*.
- El PW se debe a la pérdida de material genómico con impronta del locus paterno 15q11-13, lo que elimina las copias activas de los diversos genes en los que se ha propuesto una función en el PW.

El 15% de los casos de PW se atribuyen a una delección funcional de 15q, como resultado de una disomía uniparental materna.

### Disomía uniparental

Se produce por la duplicación de un cromosoma de un progenitor con la pérdida del correspondiente homólogo del otro progenitor (fig. 8.13). Por ejemplo, la disomía uniparental del cromosoma 15 materno puede producir el mismo fenotipo que el PW pero sin delección, porque no hay contribución paterna del cromosoma 15. El síndrome de Beckwith-Wiedemann puede deberse a la duplicación paterna de 11p15.

### Herencia mitocondrial

El ADN mitocondrial se hereda de la madre debido a que los espermatozoides no aportan mitocondrias al

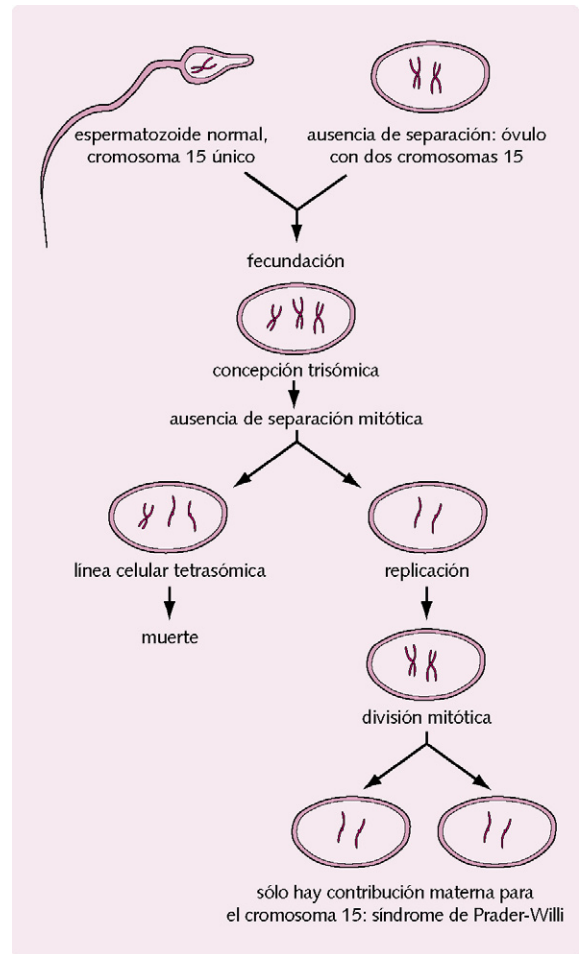


Fig. 8.13 Mecanismo de disomía uniparental (ilustrado aquí para el cromosoma 15).

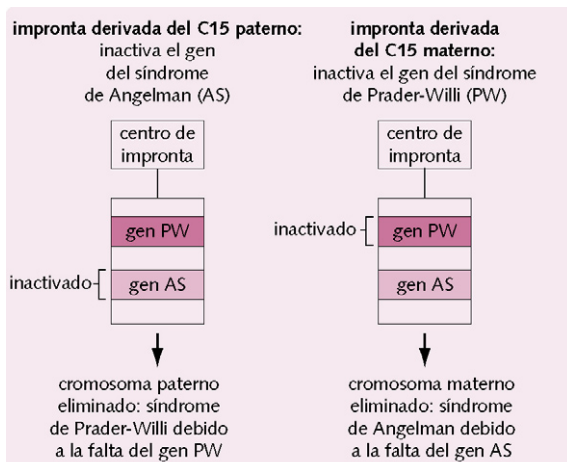


Fig. 8.12 Mecanismo por el que la delección del cromosoma 15 paterno con impronta del cromosoma 15 existente puede provocar el síndrome de Prader-Willi o el de Angelman. El desarrollo normal requiere que se expresen tanto los genes derivados de la madre como los del padre.

cigoto. De este modo, los varones afectados no pueden transmitir la enfermedad a su descendencia (fig. 8.14). Las mitocondrias se distribuyen aleatoriamente en las células hijas, de modo que pueden contener ADN mitocondrial totalmente normal o totalmente mutado (homoplasmia) o también una mezcla de ambos (heteroplasmia), lo que produce una expresión variable de la enfermedad debida a la proporción relativa entre ADN normal y mutado. Algunos ejemplos de enfermedades mitocondriales son:

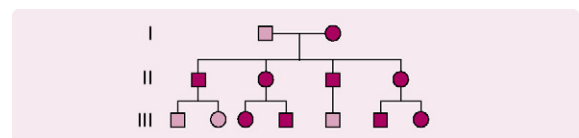


Fig. 8.14 Ejemplo de árbol genealógico en la herencia mitocondrial. (Adaptada con autorización de Turnpenny & Ellard *Emery's Elements of Medical Genetics*, 12.ª ed., Churchill Livingstone, 2005.)

- Neuropatía óptica hereditaria de Leber.
- Síndrome de encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y pseudoictus (MELAS por sus siglas en inglés).
- Mioclono con epilepsia y con fibras rojas rasgadas (MERRF).

### Mosaicismo

Un mosaico es un individuo con múltiples líneas celulares (que poseen diferentes genotipos) que surgen a partir de un único cigoto. Los mosaicos de la línea germinal se producen cuando una línea celular anómala se confina a las gónadas y puede explicar por qué progenitores aparentemente sanos pueden tener más de un hijo con un trastorno AD.

El mosaicismo somático se produce cuando el representante materno o paterno de un cromosoma se inactiva aleatoriamente en cada célula somática. Las células difieren según el cromosoma que se ha inactivado, pero una vez que se produce la inactivación todas las células hijas tendrán el mismo patrón de ésta. Esto puede explicar:

- Los síntomas inusualmente leves de las enfermedades metabólicas AD, si existe una inactivación desproporcionada del gen aberrante.
- La expresión de alelos de las enfermedades ligadas a X en las portadoras femeninas, si se produce una inactivación desproporcionada del gen normal.

El mosaicismo puede ser un factor clínico significativo en algunos trastornos cromosómicos. Por ejemplo, casos leves de síndrome de Down (SD) pueden ser mosaicos (46,XY/47,X+21 o 46,XX/47,XX+21) (fig. 8.15) y en el desarrollo tumoral (v. pág. 164).

Todas las mujeres son mosaicos genéticos para el cromosoma X. Dado que la inactivación (fenómeno de Lyon) del cromosoma X es un proceso aleatorio, en algunas células el cromosoma X de origen materno se inactiva para formar un corpúsculo de Barr, mientras que en otros será la copia de origen paterno la que se inactivará.



## HERENCIA POLIGÉNICA Y ENFERMEDADES MULTIFACTORIALES

### Introducción

Las enfermedades multifactoriales suelen producirse cuando se combinan mutaciones en varios genes

con factores ambientales. Aunque las enfermedades multifactoriales tienden a recurrir en las familias, no presentan patrones de herencia mendeliana. La herencia multifactorial está implicada en la etiología de muchas enfermedades comunes, como:

- Malformaciones congénitas: por ejemplo los defectos del tubo neural, luxación congénita de cadera (LCC), estenosis pilórica, labio leporino con o sin paladar hendido y cardiopatía congénita.
- Enfermedades frecuentes del adulto: por ejemplo diabetes mellitus, obesidad, epilepsia, hipertensión y esquizofrenia.
- Rasgos normales del ser humano: por ejemplo presión arterial, altura, dermatoglifos (huellas dactilares) e inteligencia.

### Enfermedades multifactoriales

La curva de distribución normal continua (gausiana) del rasgo en la población general es típica, aunque no diagnóstica, de las enfermedades multifactoriales. Las alteraciones no suelen tener un fenotipo característico, sino que son extremos de la curva. El número de genes implicados puede ser muy pequeño, porque incluso cuando está involucrado un locus único, las modificaciones en el ambiente pueden asegurar la distribución normal del rasgo.

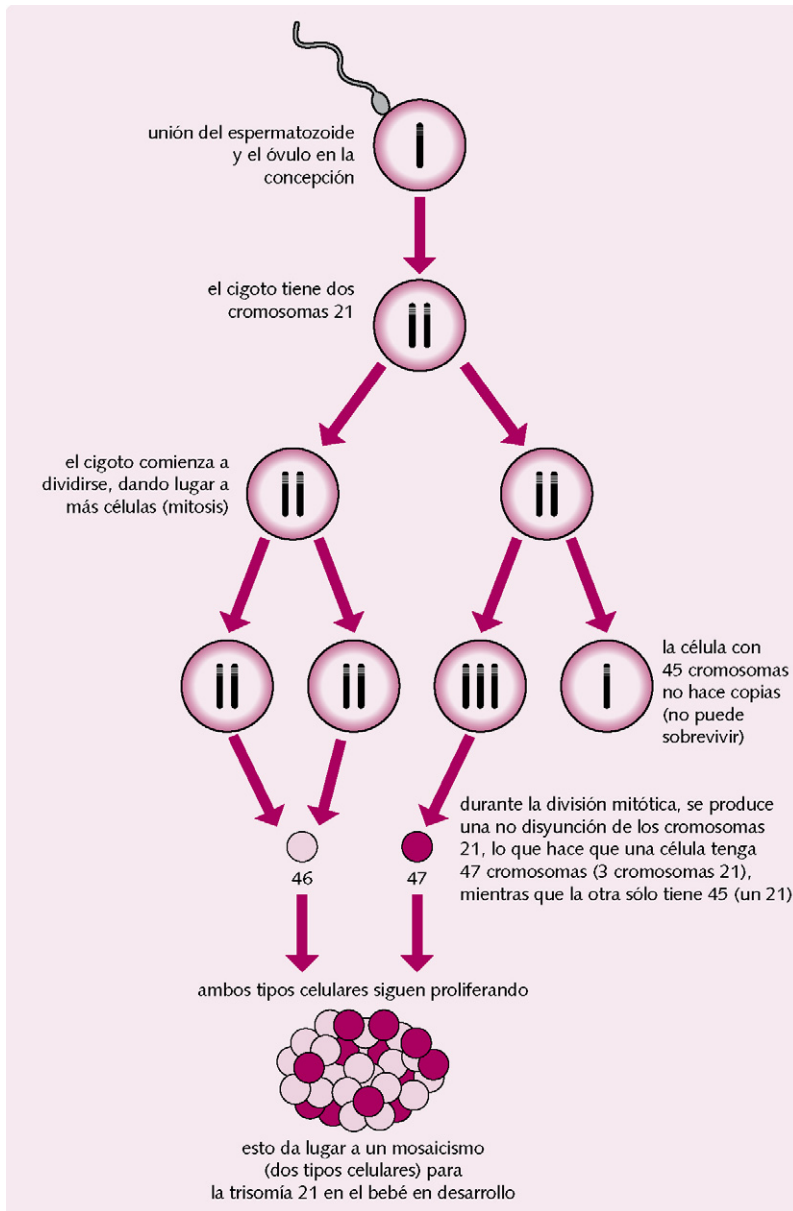
Los estudios en gemelos subrayan la relativa importancia de los genes y del ambiente. Por ejemplo, el labio leporino-paladar hendido tiene una incidencia en la población de 1 por 1.000, pero:

- La concordancia en gemelos monocigóticos es del 40%: si sólo se debiera a los genes, habría un 100% de concordancia, de modo que los genes son relevantes, pero también existen otros factores implicados.
- La concordancia en gemelos dicigóticos es del 4%: estos gemelos no son genéticamente idénticos (comparten una media del 50% de sus genes), pero comparten el mismo entorno, lo que demuestra la relevancia de los factores ambientales.

En estos casos, la tasa de concordancia = (ambos afectados / [uno afectado + ambos afectados])  $\times$  100.

La luxación congénita de cadera (LCC) es un ejemplo de herencia multifactorial. Los factores genéticos implicados son la displasia acetabular, la laxitud articular general familiar y la laxitud articular transitoria al final del embarazo. Los factores ambientales relacionados son la presentación podálica y la respuesta a las hormonas maternas;



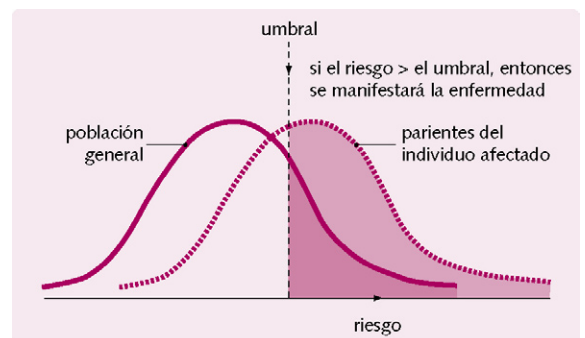


**Fig. 8.15** Mosaicismo genético. La no disyunción mitótica provoca la presencia de dos poblaciones celulares diferentes. La gravedad de cualquier enfermedad resultante se relaciona con la proporción entre células mutadas y normales. Cuanto más precoz en el desarrollo sea el fenómeno de no disyunción, mayor será la proporción de células mutadas y más elevada será la probabilidad de expresar un fenotipo normal.

en especial, se piensa que los estrógenos, que aumentan la laxitud ligamentosa, contribuyen a la enfermedad. La mayor incidencia de LCC en mujeres se atribuye a una producción adicional de estrógenos por el feto femenino.

### Modelo del umbral de las enfermedades multifactoriales

La figura 8.16 muestra el modelo del umbral de las enfermedades multifactoriales. La predisposición de una población a una enfermedad concreta sigue



**Fig. 8.16** Modelo del umbral de la herencia multifactorial.

una curva de distribución normal, en la que la susceptibilidad genética de la población y los factores ambientales definen la propensión individual:

- La enfermedad se manifiesta en un individuo cuando se supera cierto umbral de propensión.
- La predisposición de la mayoría de la población se dispone por debajo del nivel umbral.
- La incidencia en la población equivale al porcentaje de individuos cuya propensión es superior al umbral.

La curva de predisposición se desvía a la derecha para los familiares de un individuo afectado, de modo que es probable que más miembros de la familia se encuentren por encima del umbral necesario para que se manifieste la enfermedad.

Heredabilidad

La heredabilidad es la proporción de la variación fenotípica total que es de origen genético en una población concreta. Se expresa en forma de porcentaje, en el que los valores más altos denotan que la contribución genética es mayor (p. ej., la heredabilidad de la esquizofrenia es del 85% y de la artritis reumatoide del 60%).



Las estimaciones de heredabilidad son específicas de la población, pues la variación de los efectos ambientales y genéticos puede que no sea idéntica en distintas áreas geográficas y poblaciones étnicas.

Si la heredabilidad es alta, existe una elevada correlación en los familiares (p. ej., las huellas dactilares se correlacionan en los familiares de primer grado en un 49%). Por lo general, la heredabilidad es baja, de modo que la incidencia en los familiares desciende bruscamente (fig. 8.17). Los riesgos de

recurrencia en las enfermedades multifactoriales se basan en estudios poblacionales y familiares. El riesgo de recurrencia está influido por:

- La gravedad de la enfermedad en las personas afectadas (el probando) (p. ej., el labio leporino grave bilateral se repetirá en los hermanos con mayor probabilidad que el unilateral).
- El número de individuos afectados en una familia.
- Un probando que sea del sexo que normalmente no se afecta.
- La relación del probando; el riesgo de recurrencia para los familiares de primer grado es aproximadamente la raíz cuadrada de la incidencia del rasgo en la población.

Pueden existir diferencias en cuanto al sexo en la incidencia poblacional. Por ejemplo, la estenosis pilórica es más frecuente en varones, de modo que los hijos de una mujer afectada desarrollarán la enfermedad con más probabilidad que los hijos de un varón afectado, ya que la mujer necesita más genes de riesgo para manifestar la enfermedad.

Factores ambientales

Las enfermedades multifactoriales se producen cuando se combinan factores de riesgo genéticos y ambientales para elevar la susceptibilidad de un individuo a una enfermedad por encima del valor umbral. La predisposición que puede atribuirse a los factores genéticos es fija. Sin embargo, una manipulación adecuada de los factores ambientales puede permitir la disminución de la susceptibilidad individual por debajo del valor umbral.

Por ejemplo, la aterosclerosis tiene una heredabilidad del 65%, de modo que la contribución ambiental a la etiología de la enfermedad es del 35%. Los estudios epidemiológicos han identificado que diversos factores ambientales y no fumar, una alimentación sana y realizar ejercicio con regularidad pueden disminuir significativamente el riesgo de un individuo de desarrollar una cardiopatía.

Fig. 8.17 Riesgo de trastornos multifactoriales en familiares. Familiares en primer grado son padres, hermanos e hijos (comparten el 50% del genoma); familiares en segundo grado son abuelos, tíos y nietos (comparten el 25% del genoma); familiares en tercer grado son primos y bisnietos (comparten el 12,5% del genoma).

Fig. 8.17 Riesgo de trastornos multifactoriales en familiares

| Trastorno                        | Riesgo relativo del trastorno |                       |                       |                   |
|----------------------------------|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
|                                  | Familiar en 1.º grado         | Familiar en 2.º grado | Familiar en 3.º grado | Población general |
| Labio leporino y paladar hendido | 4                             | 0,6                   | 0,3                   | 0,1               |
| Defectos del tubo neural         | 4                             | 1,5                   | 0,6                   | 0,3               |
| Epilepsia                        | 5                             | 2,5                   | 1,5                   | 1,0               |

## Ejemplos de enfermedades multifactoriales

### Diabetes mellitus insulino dependiente (tipo 1)

Existe una concordancia del 50% de diabetes mellitus insulino dependiente (DMID) en los gemelos homocigotos. El complejo HLA humano y el gen de la insulina se consideran loci que contribuyen a la mayor parte de la susceptibilidad a la DMID. El 95% de las personas afectadas presentan el antígeno leucocítico humano (HLA) DR3y/o DR4 (v. fig. 6.18), en comparación con el 50% de las personas no diabéticas. El aspartato en el residuo aminoácido 57.º del locus DQ es protector (el 19% de la población general y el 95% de la población con DMID son negativos para el aspartato). La influencia del gen de la insulina (INS), situado en 11p15, sobre la DMID se correlaciona con la variación del número de repeticiones en tándem de la porción VNTR del INS en posición 5' del gen. Los pacientes con 26-63 repeticiones tienen una predisposición recesiva a la DMID, mientras que los que tienen 140 o más repeticiones tienen una protección dominante. También se han descubierto alrededor de 20 loci «menores» contribuyentes.

### Hipertensión esencial (primaria)

La heredabilidad de la hipertensión esencial es del 62%. Los estudios epidemiológicos han implicado los factores de exposición del estilo de vida y ambientales, como la ingesta dietética de sodio, la edad avanzada, la escasa actividad física y el peso corporal. Los genes también tienen un papel destacado en la respuesta al tratamiento y los polimorfismos en varios genes se han asociado con una menor respuesta a los diuréticos,  $\beta$ -bloqueantes y a los IECA.

### Esquizofrenia

La heredabilidad de la esquizofrenia es del 85%. Los estudios de ligamiento y de asociación han implicado a varios loci como sospechosos de conferir un riesgo de desarrollar esquizofrenia. Entre ellos, pueden citarse:

- 6p22: *DTNBP1*: disbindina.
- 8p12-21: *NRG1*: neuregulina 1.
- 13q32-34: *DAOA*: activador de la D-aminoácido oxidasa.
- 22q11: *COMT*: catecol-O-metiltransferasa.

### Asma

La heredabilidad del asma es del 60%. Más del 25% de los genes, incluidos *DPP10*, *HLA-G* y *ADAM33*, se han asociado con formas clínicas de asma y con

susceptibilidad a la misma. El incremento de la prevalencia del asma en el mundo desarrollado se ha asociado a un entorno cambiante en cuanto al perfil de exposición a alérgenos.

### Enfermedad de Alzheimer

Alrededor del 10% de los pacientes heredan la enfermedad de Alzheimer como una enfermedad monogénica AD. De éstos, una parte surge por mutaciones en el gen que codifica la proteína precursora del amiloide en el cromosoma 21 o en el de la presenilina 1 en el cromosoma 14. Las mutaciones en otros genes (p. ej., presenilina 2 en el cromosoma 1, ApoE en el cromosoma 19 y  $\alpha$ -sinucleína en el cromosoma 4) también se asocian con una susceptibilidad heredada a padecer Alzheimer.

### Artritis reumatoide

La artritis reumatoide (AR) tiene una heredabilidad asociada del 60%. Se ha demostrado que existe una intensa correlación entre los polimorfismos específicos en el gen HLA-DRB1 y la susceptibilidad a la AR. Varios estudios recientes de micromatrices en los que se han comparado gemelos monocigóticos discordantes para la enfermedad han revelado diferencias de expresión en alrededor de 800 genes distintos. Los tres perfiles de expresión más alterados se observaron en:

- Laeverina, una enzima metalopeptidasa que degrada ciertos tipos de proteínas.
- 11- $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 2, implicada en las vías esteroideas relacionadas con la inflamación y la erosión ósea.
- Inductor angiogénico 61 rico en cisteína, implicado en la formación de nuevos vasos sanguíneos.

Las investigaciones posteriores han revelado que los tres genes aparecían sobreexpresados en muestras de tejido articular tomadas de pacientes con AR.

## GENÉTICA DEL CÁNCER

En la mayoría de los casos, el cáncer es una enfermedad multifactorial en la que los factores genéticos y ambientales interactúan para iniciar la carcinogénesis. Sin embargo, en una minoría (alrededor del 5%), la enfermedad sigue un patrón de transmisión familiar, lo que sugiere un síndrome de cáncer genético. La caracterización de las alteraciones genéticas que se segregan en estas familias ha contribuido a dilucidar los fenómenos moleculares que subyacen en la génesis tumoral de las formas multifactoriales más frecuentes de la enfermedad.

El cáncer se caracteriza por un crecimiento y proliferación anómalos. La proliferación y la supervivencia de las células normales están controladas por protooncogenes promotores del crecimiento y por genes supresores de tumores inhibidores del crecimiento (v. cap. 6). Las mutaciones de estos genes pueden producir un cáncer (figs. 8.18 y 8.19).

Proceso multiestadio de la carcinogénesis

La carcinogénesis requiere la acumulación de múltiples mutaciones, tanto en los oncogenes como en los genes supresores de tumores. Los tumores evolucionan de benignos a malignos a medida que subpoblaciones de células adquieren mutaciones adicionales (fig. 8.20). Dado que las mutaciones pueden surgir en cualquier célula tumoral, los tumores tienden a ser mosaicos. Sin embargo, cuando una célula adquiere una mutación que se asocia con una pérdida adicional de la inhibición del crecimiento, este tipo de célula tenderá a dividirse rápidamente comparado con los otros tipos celulares.

Oncogenes

Los oncogenes controlan el crecimiento celular normal (v. cap. 6); suelen ser dominantes desde el punto de vista celular, y como la mayoría de las mutaciones son de ganancia de función, aumenta

la expresión del gen. Pueden clasificarse según su localización en la vía normal de transducción de señales (fig. 8.21).

La activación de los oncogenes se puede producir por:

- Translocación (p. ej., linfoma de Burkitt t(8;14) o t(8;2) que activa *c-myc* en 8q).
- Amplificación (p. ej., *n-myc* amplificado en el neuroblastoma).
- Mutaciones puntuales en oncogenes (p. ej., mutación *Ha-ras* en cáncer de vejiga).

Genes supresores de tumores

Los genes supresores de tumores (fig. 8.22) inhiben la oncogénesis (v. cap. 6). Los tumores se desarrollan si se produce la pérdida de ambos alelos normales (fig. 8.23). La pérdida de la actividad puede producirse por daño en el genoma (p. ej., mutación, reordenamiento o recombinación mitótica) o por interacción con proteínas celulares o víricas (p. ej., MDM2, antígeno HPV E6, proteína E1b del adenovirus).

Los genes supresores de tumores son relevantes en:

- Predisposición heredada al cáncer.
- Fenómenos tempranos de la génesis tumoral (cooperan con los genes transformantes dominantes para causar neoplasias).

Fig. 8.18 Vías hacia las neoplasias malignas.

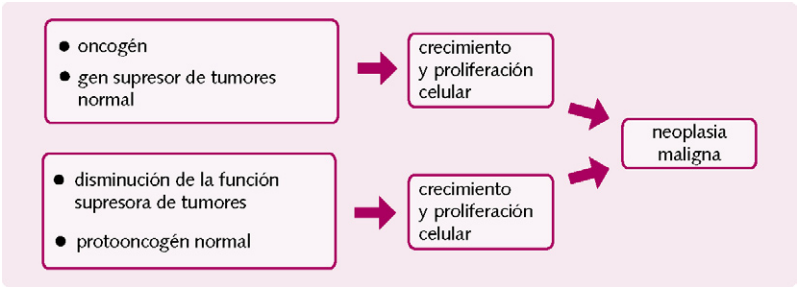
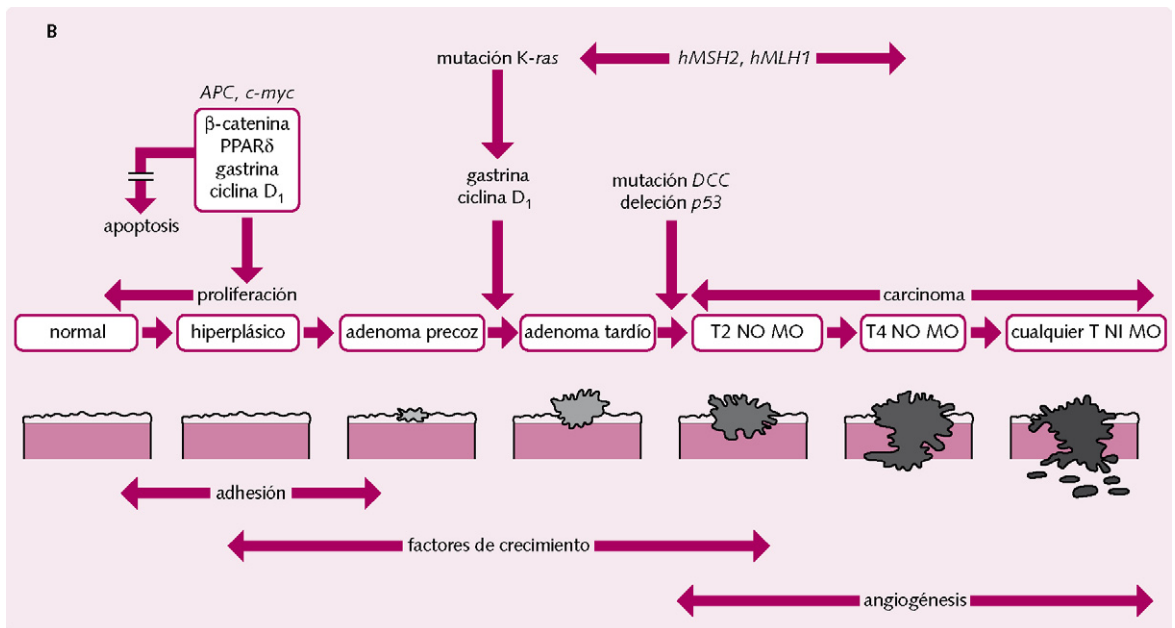


Fig. 8.19 Diferencias entre los oncogenes y los genes supresores de tumores.

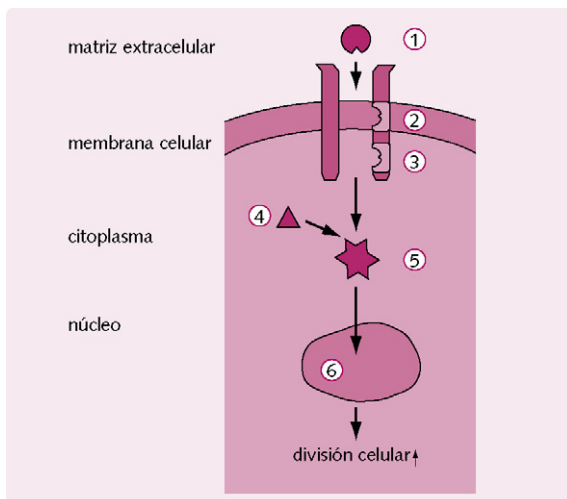
| Fig. 8.19 Diferencias entre los oncogenes y los genes supresores de tumores |                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Oncógeno                                                                    | Gen supresor de tumores             |
| Gen activo en el tumor                                                      | Gen inactivo en el tumor            |
| Translocaciones específicas/mutaciones puntuales                            | Deleciones o mutaciones             |
| Mutaciones raramente hereditarias                                           | Las mutaciones pueden ser heredadas |
| Dominante a nivel celular                                                   | Recesivo a nivel celular            |
| Amplia especificidad tisular                                                | Considerable especificidad tumoral  |
| Especialmente en leucemias y en linfomas                                    | Tumores sólidos                     |

**Fig. 8.20A** Carcinogénesis

| Fase       | Mecanismo                                           | Aspecto clínico                                                   |
|------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Iniciación | Mutación                                            | Sin cambios apreciables                                           |
| Promoción  | Estimulación del crecimiento de las células mutadas | Por lo general, sólo se detecta en el estudio histológico/biopsia |
| Conversión | Mutación: crecimiento y expansión incontrolados     | Crecimiento expansivo de un tumor benigno                         |
| Progresión | Mutación: pérdida completa del control celular      | Cáncer: invasión y metástasis                                     |



**Fig. 8.20** A) Modelo en múltiples pasos de la carcinogénesis y B) estadios en la evolución del cáncer colorrectal (secuencia adenoma-carcinoma). (Adaptada de Kumar y Clark, 2005.)



**Fig. 8.21** Clases de oncogenes según su posición de transducción. 1) Factores de crecimiento (p. ej., factor de crecimiento derivado de plaquetas, PDGF-*sis*). 2) Receptores del factor de crecimiento (p. ej., EGFR-*Gb*). 3) Proteínas posreceptor (p. ej., *ras*). 4) Tirosinasa posreceptor (p. ej., *abl*, *src*). 5) Proteínas citoplasmáticas (p. ej., *raf*). 6) Proteínas nucleares (p. ej., *myc*).



Fig. 8.22 Ejemplos de genes supresores de tumores.

| Fig. 8.22 Genes supresores de tumores |       |                                                |                                                          |
|---------------------------------------|-------|------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Gen                                   | Locus | Función                                        | Tumor                                                    |
| <i>Rb</i>                             | 13q14 | Sustrato de CDK (regulación del ciclo celular) | Retinoblastoma, osteosarcoma                             |
| <i>p53</i>                            | 17p13 | Detención del crecimiento y apoptosis          | Mutado en el 70% de todos los tumores humanos            |
| <i>WT-1</i>                           | 11p13 | Dedos de zinc                                  | Tumor de Wilms                                           |
| <i>NF-1</i>                           | 17q   | Factor de transcripción                        | Neurofibromatosis                                        |
| <i>APC</i>                            | 5q21  | Adhesión celular                               | Poliposis adenomatosa                                    |
| <i>DCC</i>                            | 18q21 | Adhesión celular                               | Cáncer colorrectal, cáncer pancreático, cáncer esofágico |

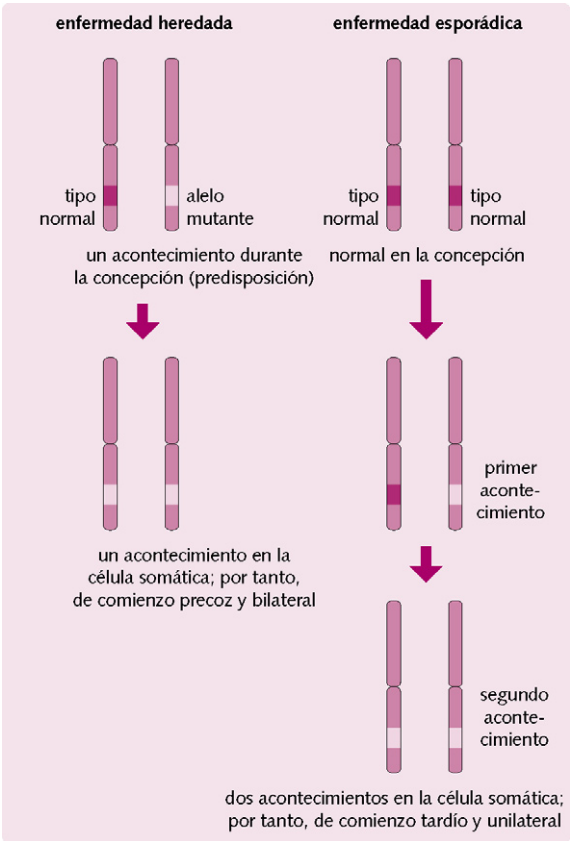


Fig. 8.23 Hipótesis de «dos pasos» de Knudson. Obsérvese que deben producirse dos acontecimientos para que se pierda la función represora de tumores.

La detección de mutaciones en los genes supresores de tumores puede utilizarse como diagnóstico presintomático (p. ej., poliposis adenomatosa de colon mediante la demostración de mutaciones en el gen *APC*).

Genes supresores de tumores en los cánceres heredados

Los genes supresores de tumores son recesivos desde el punto de vista celular. Por tanto, si un individuo hereda una mutación en un alelo, cada célula del organismo dependerá del producto del alelo normal para regular el crecimiento celular. Dado el número de células del organismo, es estadísticamente probable que el alelo normal experimente una mutación somática en al menos una célula. De este modo, las mutaciones heredadas en los genes supresores de tumores, como el retinoblastoma y el del síndrome de Li-Fraumeni (pág. 172), suelen heredarse de modo dominante. Este fenómeno en el que se pierde un único alelo funcional se denomina «pérdida de heterocigosidad constitucional».

Características que sugieren susceptibilidad heredada al cáncer en una familia

Son:

- Varios familiares cercanos (de primer o segundo grado) con un cáncer frecuente.
- Varios familiares cercanos con cánceres genéticamente asociados (p. ej., mama y ovario o intestino y endometrio).
- Dos miembros de una familia con un mismo cáncer infrecuente.
- Una edad de inicio anormalmente precoz.
- Tumores bilaterales en órganos pares.
- Tumores simultáneos o sucesivos.
- Tumores en dos órganos diferentes en una persona.

## Ejemplos de síndromes de cáncer genético

### Ataxia telangiectasia

Se trata de una enfermedad autosómica recesiva que afecta a 1 de cada 50.000 personas. El gen *ATM* implicado se ha localizado en 11q22.3 y su producto ejerce tres funciones fundamentales:

- Regulación y estimulación de la reparación de roturas del ADN bicatenario.
- Señalización de puntos de control del ciclo celular.
- Señalización de la apoptosis mediante p53.

Por tanto, en ausencia del gen *ATM*, las células:

- No logran reparar el ADN.
- Pierden la capacidad de detener el ciclo celular.
- Pierden la capacidad de desencadenar la muerte celular programada como respuesta al daño del ADN.

El inicio suele producirse en la infancia en forma de ataxia cerebelosa progresiva, telangiectasia oculocutánea, inmunodeficiencia e infecciones recidivantes, radiosensibilidad (sobre todo a los rayos X) y predisposición a leucemias linfáticas y otras neoplasias malignas. El fallecimiento suele producirse en la etapa inicial o media de la adolescencia, con un promedio de edad al fallecimiento de 20 años y suele deberse a una infección broncopulmonar o, en menos casos, a un tumor maligno. Los pacientes con AT tienen una incidencia de cáncer unas 100 veces mayor que la población general.

### Cáncer de mama familiar

Supone alrededor del 5% de los cánceres de mama y a menudo se presenta en edades precoces. Las mutaciones del gen *BRCA1* en 17q21 y *BRCA2* en 3q12.3 explican más del 50% de los casos. Ambos productos génicos están implicados en la reparación por recombinación homóloga (v. pág. 126) y sus mutaciones tienen una herencia autosómica dominante con alta penetrancia y se asocian con cánceres específicos del siguiente modo:

- Las mutaciones de *BRCA1* se asocian con cáncer de mama y de ovario y también con un aumento de cáncer de próstata y colon.
- Las mutaciones de *BRCA2* se asocian con cáncer de mama, endometrial, renal, pancreático, ovárico, de vías biliares y de vejiga. También se asocian con carcinomas laríngeos, linfomas y ocasionalmente cáncer de mama en el varón.

Se dispone de análisis de ADN para familias amplias con cáncer de mama (p. ej., el 2% de los judíos

Ashkenazi tiene una de estas tres mutaciones: *BRCA1* 185delAG, *BRCA1* 5382insC y *BRCA2* 6174delT).

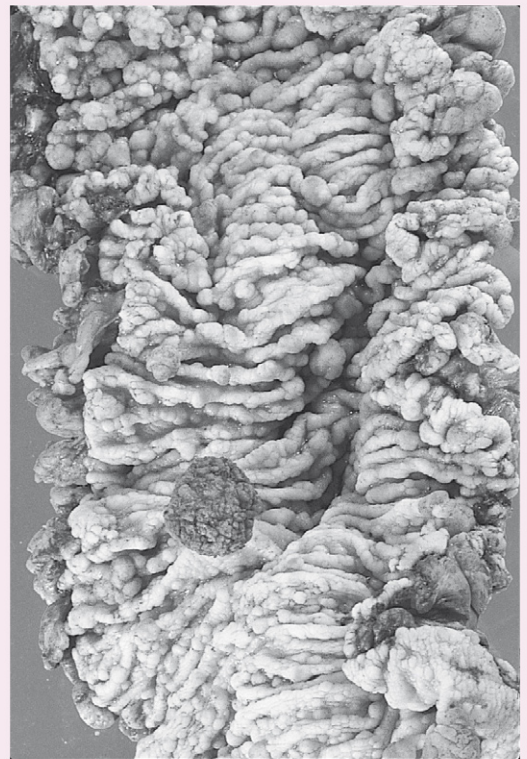
En ocasiones se plantea la mastectomía bilateral profiláctica tras un análisis de ADN en mujeres y, cada vez con más frecuencia, en varones con muchos antecedentes familiares.

### Poliposis adenomatosa familiar de colon

Es una rara enfermedad autosómica dominante causada por una delección en 5q21 que produce una pérdida de función del gen supresor tumoral *APC*. Esto conduce al desarrollo de poliposis adenomatosa benigna del intestino grueso (fig. 8.24). Una mutación somática puede dar lugar al desarrollo de adenocarcinoma debido a pérdida de heterocigosidad constitucional (v. antes).

El diagnóstico se basa en:

- Antecedentes familiares.
- Presencia de poliposis intestinal múltiple desde la infancia.
- El 80% de las familias presentan cambios característicos en la retina.



**Fig. 8.24** Poliposis colónica en el intestino grueso. Son claramente visibles los múltiples pólipos adenomatosos. (Por cortesía del Dr. A. Stevens y del profesor J. Lowe.)

Existe un 90% de riesgo de malignidad y con frecuencia se considera la resección profiláctica completa del colon.

## Síndrome de Li-Fraumeni

Es un rasgo autosómico dominante raro y suele deberse a una mutación en el gen *p53* localizado en 17p13.1. A diferencia de otros síndromes hereditarios de cáncer, que se caracterizan predominantemente por cánceres de localizaciones específicas, el síndrome de Li-Fraumeni se presenta con varios tipos tumorales. Suele caracterizarse por cánceres en la infancia, como:

- Sarcomas de partes blandas.
- Carcinomas suprarrenales.
- Tumores cerebrales.

Más adelante, existe una alta frecuencia de aparición muy precoz de cáncer de mama, astrocitoma y cáncer de pulmón. Suele ser posible el análisis directo de las mutaciones, pero su beneficio es escaso. El pronóstico depende del número y de la localización de los tumores.

## Cáncer de colon hereditario no poliposo (CCHNP)

También se denomina síndrome de Lynch y es un rasgo autosómico dominante con una penetrancia elevada en la que existe un agrupamiento familiar

de cáncer de colon de comienzo precoz (alrededor del 70%) junto con un aumento del riesgo de tumores de endometrio, ovario y vías renales. Se asocia con mutaciones de la línea germinal en familias de genes de reparación de los errores del apareamiento del ADN. Las mutaciones en dos genes, *MSH2* y *MLH1*, suponen hasta el 90% de los casos, mientras que las mutaciones en otros cuatro genes (*PMS1*, *PMS2*, *MLH3* y *MSH6*) corresponden al resto. En los pacientes con antecedentes familiares considerables (un familiar de primer grado diagnosticado antes de los 45 años de edad o dos familiares de primer grado diagnosticados a cualquier edad) se recomienda realizar colonoscopias anuales a los familiares a partir de los 20-25 años.

## Síndrome de neoplasias endocrinas múltiples (MEN)

El síndrome MEN constituye un grupo de enfermedades autosómicas dominantes raras que provocan hiperplasia, adenomas y carcinomas de varios órganos endocrinos. Existen tres categorías de MEN:

- MEN I se ha asociado con la pérdida de un gen supresor tumoral localizado en 11q13.
- MEN IIa y IIb están causados por mutaciones en el oncogén *RET* del cromosoma 10q11.2.

Las características clínicas son las siguientes (fig. 8.25):

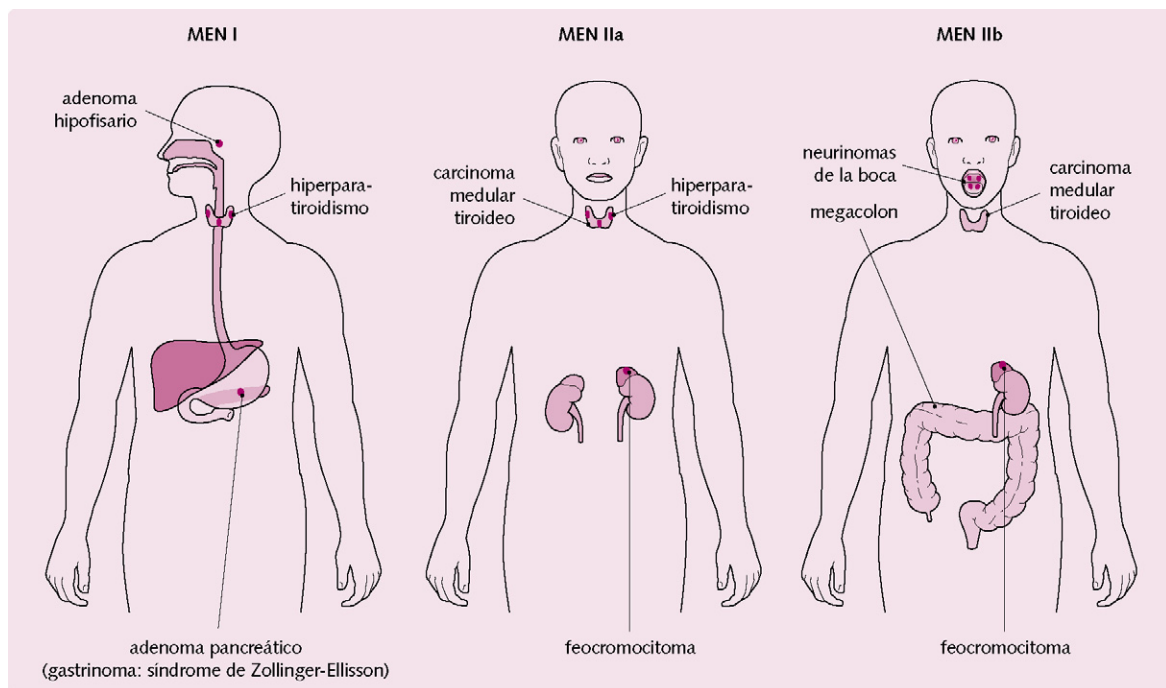


Fig. 8.25 Resumen de las características asociadas con neoplasia endocrina múltiple (MEN).

- MEN I se caracteriza por adenoma hipofisario, hiperparatiroidismo y adenomas pancreáticos (con frecuencia gastrinomas, que suponen el 50% de los pacientes con síndrome de Zollinger-Ellison).
- MEN IIa se caracteriza por feocromocitoma, carcinoma medular de tiroides e hiperparatiroidismo.
- MEN IIb se caracteriza por neurinomas de las mucosas, feocromocitoma, megacolon y carcinoma medular de tiroides.

En la actualidad, el diagnóstico prenatal es posible mediante análisis directo de las mutaciones y los síndromes MEN IIa y IIb se monitorizan por análisis anuales de calcitonina desde los 5 hasta los 30 años de edad para la detección precoz del carcinoma medular de tiroides.

### Xerodermia pigmentosa

Presenta una incidencia de 1/70.000. Existen al menos nueve subgrupos y se caracterizan por:

- Reparación defectuosa de la escisión del ADN.
- Sensibilidad extrema a luz ultravioleta.

Las características clínicas de la xerodermia pigmentosa son:

- Cicatrices corneales y cutáneas progresivas por la exposición a la luz solar.
- Múltiples cánceres de piel antes de los 20 años.

### Síndrome de Gorlin

También se denomina síndrome de carcinoma nevoide basocelular. Es una enfermedad autosómica dominante que provoca una predisposición al carcinoma cutáneo basocelular, al meduloblastoma y a fibromas ováricos. Se asocia con malformaciones congénitas que incluyen malformaciones dentales, paladar hendido y costillas bífidas. El gen es *PTCH*, situado en el cromosoma 9q22.3.

## ENFERMEDADES CROMOSÓMICAS

### Introducción

Los trastornos cromosómicos se producen en más del 7,5% de las concepciones, pero en los nacidos vivos sólo se observa en 6 de cada 1.000, ya que la mayoría terminan en abortos espontáneos. Las alteraciones cromosómicas pueden ser numéricas o estructurales. Las numéricas incluyen:

- Cromosomas individuales adicionales (p. ej., trisomías).
- Pérdida de un único cromosoma (p. ej., monosomías, que son mortales salvo X0).
- Conjuntos haploides adicionales (p. ej., tetraploidías o triploidías).

Estas alteraciones producen efectos dependientes de la dosis génica. En el caso de poliploidías y trisomías, la enfermedad se produce por sobreexpresión de genes cromosómicos (ganancia simple de función). En las enfermedades monosómicas, los efectos se producen por haploinsuficiencia (pérdida de función) de los genes que se expresan en los cromosomas que se pierden.

Las alteraciones estructurales incluyen enfermedades debidas a:

- Translocación.
- Inversión.
- Isocromosoma (v. pág. 179).
- Duplicación y deleción de fragmentos cromosómicos que implican muchos genes.
- Cromosomas en anillo (v. pág. 179).

Las enfermedades producidas por estas alteraciones pueden ser el resultado de los efectos de dosis génica o de una mala expresión de genes fundamentales debido a alteraciones de las regiones reguladoras.

### Nomenclatura empleada para las alteraciones cromosómicas

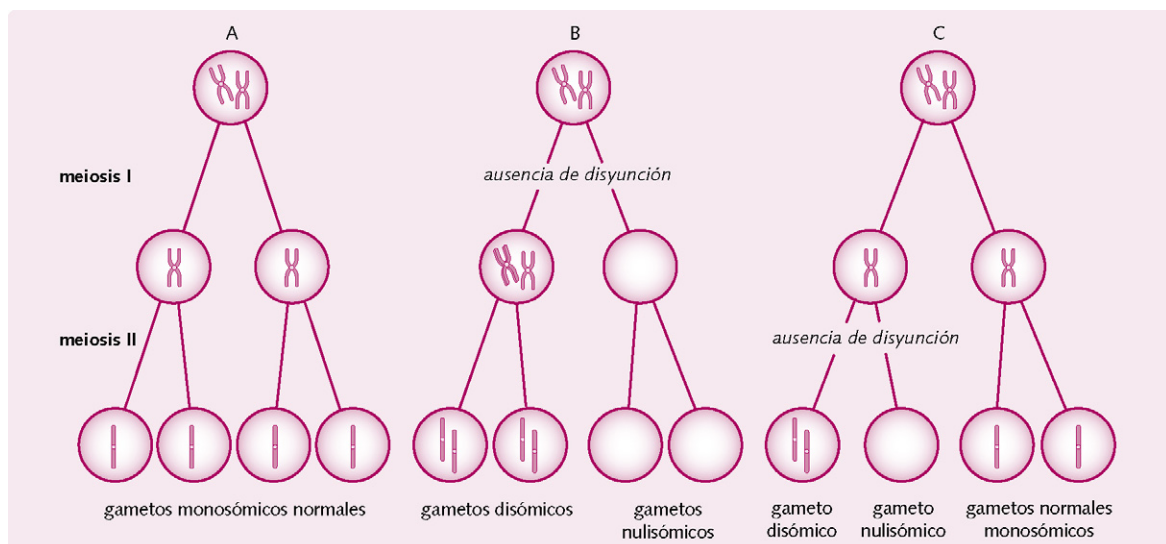
Todas las alteraciones cromosómicas son raras de forma individual, con patrones de herencia no muy claros y mínimo riesgo para los familiares. La International Standard Chromosome Nomenclature (ISCN) establece lo siguiente:

- Las alteraciones numéricas se describen del siguiente modo: número de cromosomas, cromosomas sexuales, + o - número de cromosomas; por ejemplo, un niño con trisomía 21 es [47,XY,+21], síndrome de Turner [45,X0].
- Las alteraciones estructurales se describen del siguiente modo: número de cromosomas, cromosomas sexuales, mutación (cromosomas implicados); puntos de ruptura, márgenes o región p, brazo corto; q, brazo largo.

Ejemplos de ISCN de alteraciones estructurales son:

- Translocación (t): [46,XY,t(14;21)(q11;p10)].
- Inversión (inv): [46,XY,inv(9) (p12,q14)] inversión pericéntrica.
- Isocromosoma (I): [46,X,I(Xq)] duplicación del brazo largo del cromosoma X.





**Fig. 8.26** Segregación de un par único de cromosomas durante la meiosis. A) Meiosis normal. B) Ausencia de disyunción en la meiosis I. C) Ausencia de disyunción en la meiosis II. Obsérvese que los resultados de la ausencia de disyunción producen gametos disómicos y nulisómicos, que tras la fecundación producen trisomía y monosomía respectivamente. (Adaptada de Mueller y Young, 2001.)

- Duplicación (dup): [46,XY,dup(5)(q20-q30)].
- Deleción (del) y anillo cromosómico (r): [46,XY,del(15)(q11-q13)] en el síndrome de Prader-Willi; [46,XX,r(X)(p12-q14)].

## Mecanismos que producen alteraciones cromosómicas numéricas

### Poliploidía

Las poliploidías surgen como resultado de:

- Fecundación por dos espermatozoides.
- Un espermatozoide diploide debido a fallo de la meiosis.
- Óvulo diploide debido a fallo de la meiosis.

### Trisomías

Las trisomías pueden producirse por el fallo de la separación («no disyunción») de cromosomas homólogos en la primera división de la meiosis o por fallo de la separación de las cromátidas en la segunda división (fig. 8.26).

La mayoría de los casos de trisomía autosómica se producen por ausencia de disyunción durante la fase I de la meiosis de la línea germinal femenina.



### Monosomías

Las monosomías pueden producirse por ausencia de disyunción (fig. 8.26) o por «retraso de la anafase», que se produce cuando existe un retraso en el movimiento de un cromosoma desde la placa metafásica durante la anafase. Esto puede causar la pérdida de un cromosoma si no consigue alcanzar el polo de la célula antes de que se restablezca la membrana nuclear.

## Ejemplos de alteraciones cromosómicas numéricas

### Enfermedades autosómicas

Existen sólo tres trisomías autosómicas bien definidas compatibles con la supervivencia posnatal:

1. Trisomía 21: síndrome de Down (SD).
2. Trisomía 18: síndrome de Edward (SE).
3. Trisomía 13: síndrome de Patau (SP).

#### Trisomía 21: síndrome de Down

El SD suele deberse a una trisomía 21 (47,XX,+21 o 47,XY,+21). En el 5% de los casos se produce por una translocación robertsoniana (v. pág. 178) o por mosaicismo (v. págs. 164-165). La incidencia global de SD, ajustada según el impacto del cribado prenatal (v. cap. 9), es de 1/700 nacidos vivos. La incidencia aumenta a medida que se incrementa la edad materna debido a una mayor probabilidad de que se produzca una no disyunción materna.

Las características asociadas con el síndrome de Down son:



El aumento de la edad materna es un factor de riesgo significativo en la etiología del síndrome de Down (SD).

Sin embargo, el número absoluto de madres que tienen niños con SD es mayor en los grupos de edades más jóvenes, pues el número total de madres en estos grupos es muy superior.



- Características típicas, como las mostradas en la [figura 8.27](#).
- Hipotonía, que suele observarse al nacer.
- Falange media pequeña y corta del quinto dedo de la mano, lo que provoca una «clinodactilia del quinto dedo de la mano».
- Cardiopatías congénitas: comunicación interauricular e interventricular, conducto auriculoventricular común y conducto arterioso permeable.
- Dificultades del aprendizaje y bajo CI.
- Aumento del riesgo de leucemia.
- Envejecimiento prematuro, con formación de cataratas y enfermedad de Alzheimer precoces.

Una enfermedad genética es la que está determinada por los genes, mientras que una enfermedad congénita es la que está presente al nacer y puede que su causa no sea genética.



La esperanza de vida suele ser menor de 50 años, y el fallecimiento suele asociarse con cardiopatía o leucemia aguda.

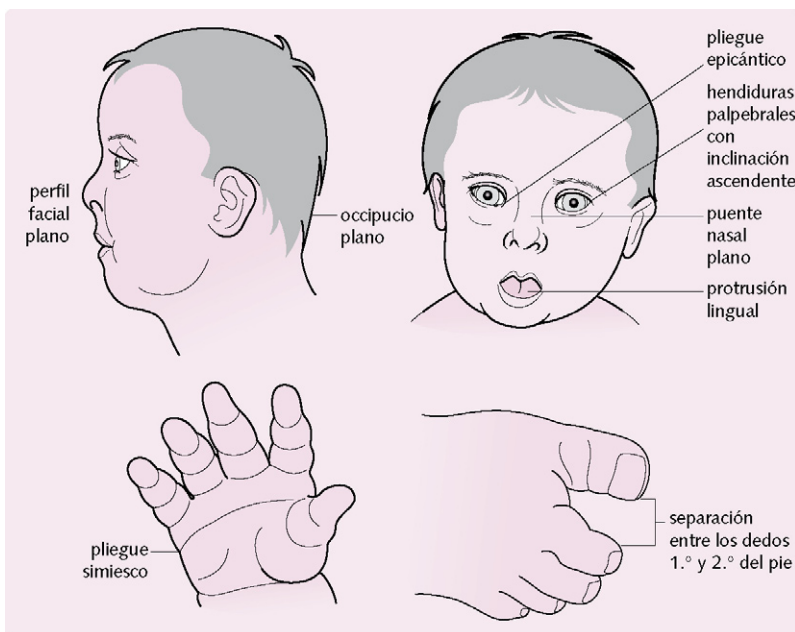
### Trisomía 18: síndrome de Edwards

El SE se debe a una trisomía 18: 47,XX,+18 o 47,XY,+18. Este trastorno tiene una incidencia de 1/8.000 nacidos vivos, ajustada en función del impacto del cribado prenatal. El 95% de las concepciones con trisomía 18 acaban en fallecimiento intrauterino, y de los que nacen vivos, menos del 10% sobreviven al primer año de vida. La elevada mortalidad se atribuye a la presencia de malformaciones cardíacas y renales, así como a un contexto de apnea. Los niños que sobreviven a la etapa de lactancia tienen un retraso psicomotor y del crecimiento profundo. Las características clínicas típicas del SE se muestran en la [figura 8.28](#).

### Trisomía 13: síndrome de Patau

El SP suele deberse a una trisomía 13: 47,XX,+13 o 47,XY,+13. Dado que el cromosoma 13 es acrocéntrico, el SP puede deberse también a una translocación robertsoniana (v. pág. 178), y se cree que esto sucede en el 20% de los casos. El SP tiene una incidencia de 1/10.000 nacidos vivos, ajustada en función del impacto del cribado prenatal. Esta cifra se eleva a medida que aumenta la edad materna. Las características clínicas del SP consisten en:

- Rasgos dismórficos múltiples ([fig. 8.29](#)).
- Defecto de la piel del cuero cabelludo: aplasia cutis.



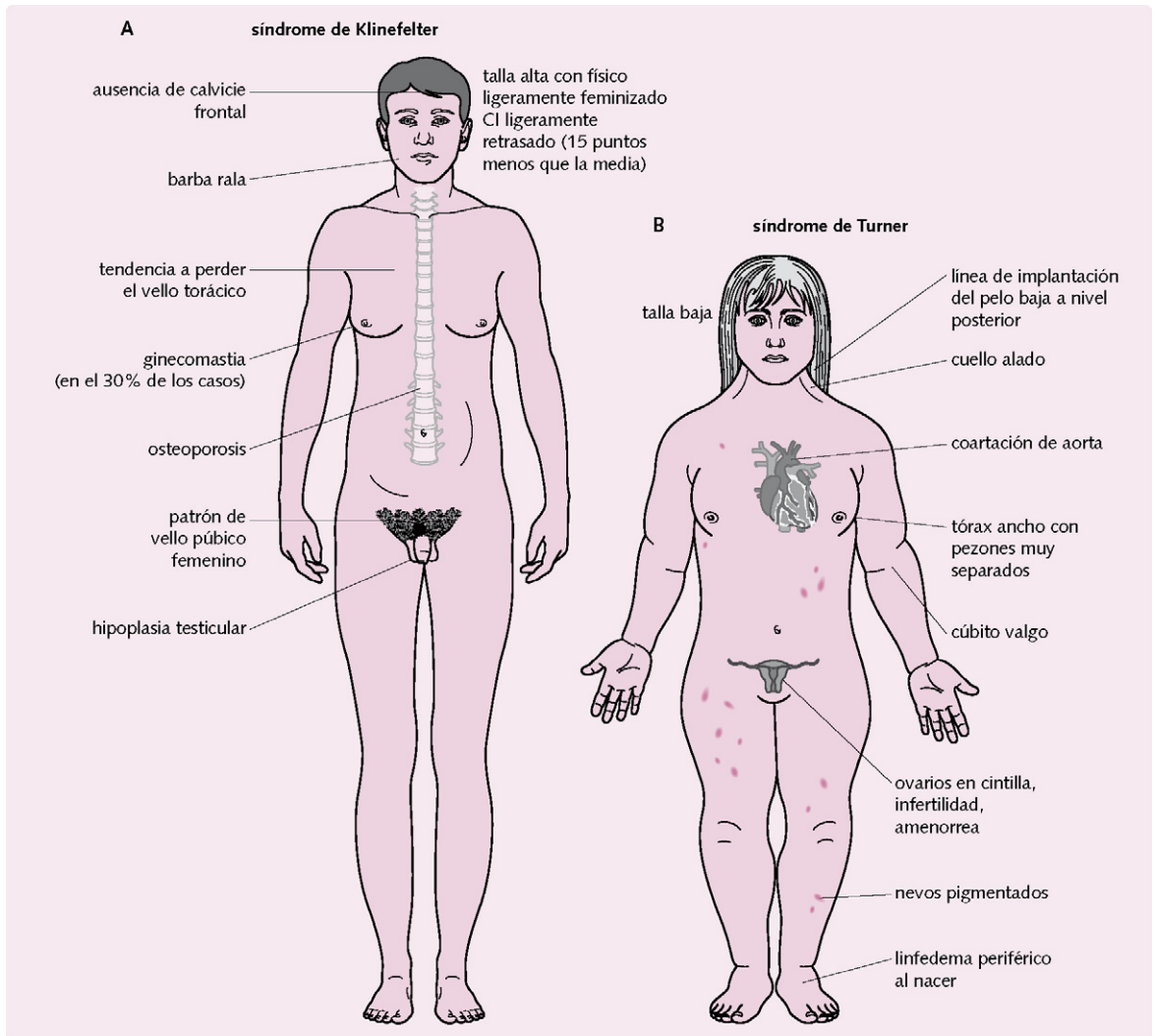
**Fig. 8.27** Rasgos típicos del síndrome de Down.

**Fig. 8.28** Rasgos típicos del síndrome de Edwards.



**Fig. 8.29** Rasgos típicos del síndrome de Patau.





**Fig. 8.30** A) Rasgos característicos del síndrome de Klinefelter (adaptada de [www.childclinic.net](http://www.childclinic.net)). B) Rasgos característicos del síndrome de Turner. (Adaptada de Kumar, Abbas y Fausto, 2004.)

- Separación incompleta del prosencéfalo embrionario (holoprosencefalia).
- Cardiopatía congénita.

El promedio de edad que sobreviven los niños con SP es de 2,5 días y sólo 1 de cada 20 niños sobreviven más de 6 meses. Los que logran sobrevivir suelen presentar una discapacidad mental y física profunda.

## Alteraciones de los cromosomas sexuales

A continuación se describen ejemplos de alteraciones de los cromosomas sexuales.

### 47,XXY: síndrome de Klinefelter

El síndrome de Klinefelter, cuyo cariotipo más frecuente es 47,XXY, tiene una incidencia de 1/1.000 varones nacidos vivos. Es la causa más habitual de

hipogonadismo primario masculino, con un fenotipo por lo demás mínimamente alterado. El fenotipo clásico asociado a este síndrome se muestra en la figura 8.30A.

### 45,X0: síndrome de Turner

El síndrome de Turner (45,X0) tiene una incidencia de 1/2.500 mujeres nacidas vivas. Este síndrome es la única monosomía viable en el ser humano, lo que posiblemente se explique porque la situación normal de una célula es tener sólo un cromosoma X funcional, pues uno de los cromosomas X se inactiva para dar lugar a un único cromosoma X y un corpúsculo de Barr por célula.

El fenotipo clásico asociado a la monosomía X se muestra en la figura 8.30B.

### 47,XXX: trisomía X

Este síndrome tiene una incidencia de 1 de cada 1.500 mujeres nacidas vivas. Las personas con trisomía X suelen ser altas, con un índice de masa corporal menor de la media. El 25% son estériles y el retraso del desarrollo del habla y del lenguaje es frecuente, pero responden bien al tratamiento logopédico y, por lo demás, no tienen características distinguibles.

### 47,XYY

Este cuadro aparece en 1 de cada 1.000 varones nacidos vivos. Los varones XYY son a menudo altos, pero tienen proporciones corporales normales. Aunque con frecuencia son asintomáticos, pueden presentar descoordinación motora leve y problemas conductuales con agresividad en la infancia.

### Varón XX: síndrome de la Chapelle

El fenotipo de varón XX suele deberse a un sobrecruzamiento desigual entre los cromosomas X e Y durante la meiosis. Su incidencia es de 1 de cada 20.000 varones. La mayoría de los varones XX tienen el gen SRY del cromosoma Y unido a uno de sus cromosomas X. Tienen un aspecto similar al de los varones con síndrome de Klinefelter, pero:

- Son estériles debido a la falta de genes del cromosoma Y cruciales para la fabricación de espermatozoides.
- Suelen ser más bajos que los varones promedio, debido también a la falta de genes codificados en el cromosoma X.
- Tienen un CI normal.

Los varones XX generalmente se diagnostican en las clínicas de fertilidad, cuando en el período prenatal se predice una mujer y nace un varón. La confirmación se realiza con estudios de bandas, análisis de ADN e hibridación in situ que identifican las secuencias específicas del cromosoma Y.

## Mecanismos que producen alteraciones cromosómicas estructurales

Todas las alteraciones estructurales se producen por roturas cromosómicas. El daño cromosómico aumenta por algunas condiciones ambientales (p. ej., mutágenos químicos, radiación) y por trastornos de inestabilidad cromosómica genética (p. ej., ataxia telangiectasia y anemia de Fanconi).

### Translocación

Es un intercambio de fragmentos cromosómicos, normalmente entre cromosomas distintos. Las translocaciones pueden ser:

- Recíprocas (no robertsonianas, balanceadas).
- Robertsonianas (no balanceadas).

En las translocaciones balanceadas no se suele producir pérdida de material genético, de modo que el fenotipo del individuo es normal. Sin embargo, dependiendo de la segregación de los cromosomas durante la meiosis, pueden aparecer gametos que no contengan ninguna copia completa del genoma (fig. 8.31). Por esta razón, se puede ofrecer el diagnóstico prenatal para identificar los portadores balanceados.

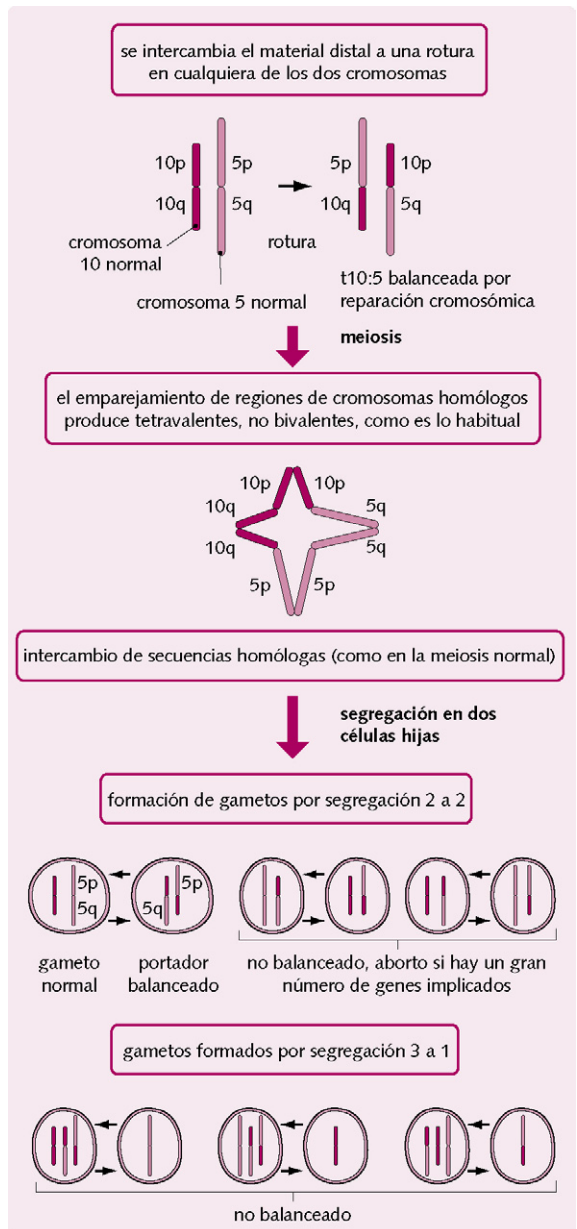
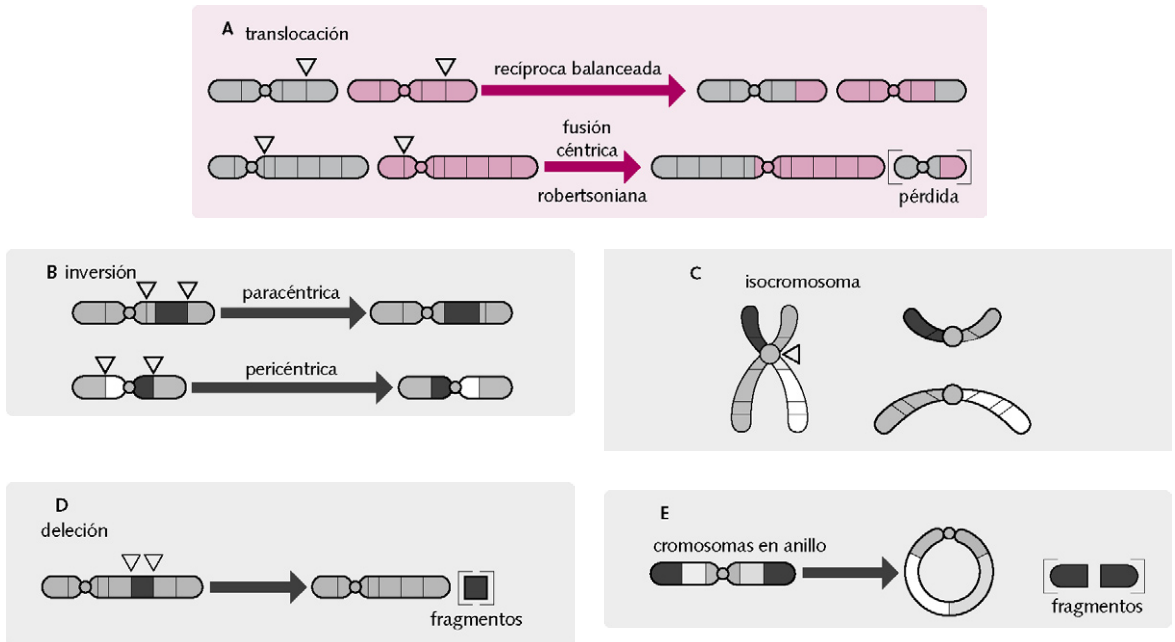


Fig. 8.31 Mecanismo de translocación recíproca (muy simplificado).



**Fig. 8.32** A) Resultados de una translocación cromosómica recíproca y de otra de tipo robertsoniano. B) Se produce una inversión cromosómica pericéntrica y paracéntrica. C) Formación de un isocromosoma. D) Resultado de delecciones cromosómicas. E) Formación de un cromosoma en anillo. (Adaptada de Kumar, Abbas y Fausto, 2004.)

En una translocación robertsoniana, los brazos largos de dos cromosomas acrocéntricos (13, 14, 15, 21 y 22) se fusionan en un centrómero y los dos brazos cortos se pierden. Dado que los brazos cortos de estos cromosomas no contienen ningún material genético esencial conocido, los portadores de translocaciones robertsonianas, aunque sólo tengan 45 cromosomas en cada célula, tienen un fenotipo normal. Sin embargo, su descendencia puede heredar un brazo largo perdido o adicional de un cromosoma acrocéntrico (fig. 8.32A).

## Inversión

Tiene lugar cuando se producen dos roturas en el cromosoma y el ADN situado entre ellas rota 180 grados. Si una inversión incluye el centrómero, se denomina pericéntrica (fig. 8.32B). Las que no lo incluyen, se generan por roturas en un brazo y se denominan paracéntricas (fig. 8.32B). Las inversiones suelen ser balanceadas, es decir, no conllevan pérdida de material genético. Sin embargo, en la meiosis, los cromosomas homólogos sólo pueden alinearse y aparearse si se forma un asa en la región de la inversión para alinearse con su homólogo normal. Esto conlleva una probabilidad mayor de duplicación y delección de las regiones cromosómicas y de producción de reordenamientos cromosómicos no equilibrados en la descendencia de los portadores.

## Isocromosoma

Este cromosoma posee una duplicación de un brazo pero carece del otro. Se produce por rotura de una cromátida con fusión por encima del centrómero o división transversal (fig. 8.32C). Los isocromosomas de la mayoría de los autosomas son una alteración mortal, pero los del cromosoma X [46,X,I(Xq)] pueden producir un fenotipo similar al del síndrome de Turner y se ha descrito un isocromosoma 18q en recién nacidos con SE.

## Duplicación

Implica una copia adicional de una región cromosómica. Las causas incluyen la herencia a partir de progenitores con alteraciones estructurales balanceadas y duplicaciones de novo a partir de un sobrecruzamiento desigual en la meiosis, de una translocación o de una inversión.

## Delección y cromosoma en anillo

La delección supone una pérdida de material genético. El telómero es importante para la función cromosómica, de modo que las delecciones intersticiales son más frecuentes. Si el fragmento perdido por delección no tiene centrómero, se perderá durante la mitosis (fig. 8.32D).



**Fig. 8.33** Características de algunas anomalías estructurales de los cromosomas

| Alteración                                                                                    | Etiología                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Características                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Síndrome de Prader-Willi y síndrome de Angelman; incidencia de 1 de cada 25.000 nacidos vivos | Ambos son consecuencia de una deleción en la misma región de 15q11-13; los síndromes difieren entre sí por impronta genómica, por lo que dependen de cuál sea el progenitor del que se ha heredado el gen eliminado: el síndrome de Prader-Willi se adquiere al heredar la deleción del padre (por lo que sólo tienen contribución materna en el área crítica); el síndrome de Angelman se produce al heredar la deleción de la madre; la disomía uniparental puede producir estos síntomas, pero no conlleva deleciones | Síndrome de Prader-Willi: hipotonía neonatal, dificultad inicial para alimentarse, obesidad facial, del tronco y de las extremidades (tras el primer año de vida), frente olímpica, ojos almendrados, labio superior triangular, CI 20-80, talla baja, manos y pies pequeños, hipoplasia de los genitales externos, tendencia a desarrollar diabetes mellitus. Síndrome de Angelman (síndrome del muñeco feliz): hipertonía, marcha atáxica, postura característica de los brazos, mandíbula prominente, ojos hundidos, aspecto alegre, risueño, ausencia de habla, retraso mental |
| Síndrome de Wolf-Hirschorn                                                                    | Deleción parcial del brazo corto del cromosoma 4 (4p16.1); la proporción entre varones y mujeres es 3:4                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Cabeza en «casco griego», paladar hendido y labio leporino, orejas de implantación baja, nariz aguilera de gran tamaño, hipertelorismo (ojos muy separados), pliegues epicantos, microcefalia y retraso mental, fallo del crecimiento, cardiopatías, convulsiones, hipospadias                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Síndrome del maullido de gato                                                                 | Deleción de la región 5p15.2 o de todo el brazo corto del cromosoma 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Cara redonda (en los adultos se hace más alargada), llanto similar a un maullido de gato ( <i>cri du chat</i> ), hipertelorismo, pliegues epicantos, estrabismo, orejas de implantación baja, bajo peso al nacer, retraso mental (de grado variable), aspecto normal al nacer                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

**Fig. 8.33** Características de algunas anomalías estructurales de los cromosomas.

Los cromosomas en anillo se producen por roturas próximas a los telómeros de un cromosoma que se reparan de modo aberrante formando un anillo y con pérdida de las regiones distales a la rotura. Si el anillo posee un centrómero, se transmitirá de generación en generación en la mitosis (fig. 8.32E).

Las deleciones estructurales visibles son grandes y las microdeleciones más pequeñas poseen al menos 3 millones de pares de bases (3 Mb). Las enfermedades monogénicas pueden estar causadas por deleciones, pero si las deleciones no son visibles con el microscopio óptico no se consideran estructurales. Las deleciones estructurales pueden producir síndromes por deleción en los que aparezca simultáneamente más de una enfermedad monogénica. Las microdeleciones subteloméricas afectan frecuentemente a varios genes, lo que explica la proporción de niños con múltiples trastornos del desarrollo y malformaciones esqueléticas. Las técnicas moleculares modernas, como la hibridación in situ con fluorescencia (FISH) o el análisis de

ADN, pueden revelar las alteraciones subyacentes (v. cap. 7).

## Ejemplos de enfermedades cromosómicas estructurales

Estas alteraciones de genes contiguos se diagnostican con microscopio óptico mediante bandas de alta resolución. La deleción debe implicar al menos a 3 Mb para poder detectarse mediante esta técnica. Es importante averiguar si la deleción ha surgido de novo en el probando o a partir de una translocación balanceada en los progenitores para calcular el riesgo de recurrencia, que es:

- Insignificante en las mutaciones de novo.
- Considerable en las translocaciones balanceadas.

La figura 8.33 muestra las características de algunas alteraciones cromosómicas estructurales.

# Principios de genética médica



## Objetivos

En este capítulo aprenderás a:

- Definir el equilibrio de Hardy-Weinberg y enumerar los factores que lo pueden alterar.
- Enumerar los criterios de detección selectiva de Wilson y Junger.
- Comprender el propósito de la detección de portadores y ofrecer ejemplos de su uso.
- Comprender la relevancia de la detección selectiva materna y el uso de los cálculos de la mediana.
- Comprender la probabilidad de que un niño esté afectado por una enfermedad autosómica recesiva si ambos progenitores son portadores, y la probabilidad de que el hijo herede una enfermedad autosómica dominante si un progenitor está afectado.
- Comprender la aplicación del teorema de Bayes en el consejo genético.
- Apreiciar la relevancia de obtener los antecedentes familiares de forma adecuada en el contexto de la consulta genética.
- Comprender los objetivos principales del tratamiento de la enfermedad genética.
- Tener en cuenta algunas de las implicaciones éticas en genética médica y clínica.

## GENÉTICA DE POBLACIONES Y CRIBADO POBLACIONAL

### Introducción

Se ha calculado que entre el 2 y el 5% de todos los recién nacidos presentan malformaciones congénitas o alteraciones genéticas. Muchas enfermedades frecuentes, como coronariopatías, diabetes y cáncer, tienen un componente genético significativo. Los genetistas clínicos desempeñan los siguientes papeles en el tratamiento de los individuos y de las familias afectados por una enfermedad genética:

- Establecen un diagnóstico preciso.
- Proporcionan información sobre el pronóstico.
- Calculan el riesgo de desarrollar o transmitir la enfermedad.
- Exploran con el paciente formas de modificar el desarrollo y la transmisión de la enfermedad.

Dado que no existen tratamientos establecidos, el énfasis se pone en la identificación de las personas con riesgo de tener un hijo afectado, de modo que se les informa sobre las posibilidades de reproducción. Dichas personas pueden identificarse:

- En familias concretas en las que la enfermedad genética ya se ha manifestado.

- En ciertos grupos con un mayor riesgo de enfermedad genética (p. ej., la enfermedad de Tay-Sachs en los judíos Ashkenazi, el síndrome de Down en mujeres embarazadas mayores de 35 años).

### Genética de poblaciones

La genética de poblaciones es el estudio de la composición genética de las poblaciones. Las frecuencias alélicas y, por tanto, la frecuencia de mutaciones causantes de enfermedad varían entre las poblaciones, lo que refleja sus orígenes geográficos y genéticos específicos. Así, algunas enfermedades pueden ser mucho más frecuentes en unos grupos que en otros. La fibrosis quística es frecuente en europeos con orígenes celtas y del norte de Europa (frecuencia alélica 1/40-1/50), pero es poco común en poblaciones finlandesas, asiáticas y africanas; la enfermedad de Tay-Sachs tiene una frecuencia alélica elevada en judíos Ashkenazi (1/60), 100 veces más frecuente que en otras poblaciones.

Si los genetistas clínicos tienen que ofrecer una valoración precisa del riesgo de una enfermedad genética, deben conocer la frecuencia de la mutación causante de la enfermedad en la población de interés. Esto es fundamental en las enfermedades

recesivas, en las que los heterocigotos no afectados son portadores del gen causante de la enfermedad.

El principio de Hardy-Weinberg permite calcular la frecuencia de un alelo causante de enfermedad en una población a partir de la incidencia de la enfermedad (suponiendo que la población siga el equilibrio de Hardy-Weinberg).

## Ley y equilibrio de Hardy-Weinberg

La ley de Hardy-Weinberg es una ecuación matemática que establece las bases de la genética de poblaciones. Establece que las frecuencias alélicas en una población tienden a permanecer constantes de generación en generación. Se asume que el organismo estudiado es diploide, se reproduce por vía sexual y tiene generaciones individualizadas. Por extensión, el equilibrio de Hardy-Weinberg establece que las frecuencias alélicas permanecen constantes de generación en generación, siempre que no haya selección (frecuencias génicas y genotípicas constantes). Por tanto, las condiciones necesarias para satisfacer esta ecuación son:

- La población es grande, para minimizar la deriva genética.
- El emparejamiento es aleatorio.
- La tasa de mutación permanece constante.
- Los alelos no se seleccionan (es decir, no confieren ventaja de supervivencia ni de reproducción).
- No existen migraciones intra ni interpoblacionales (flujo génico).

La ecuación de Hardy-Weinberg se deriva del estudio de una población portadora de un gen autosómico con dos alelos A y a. La frecuencia del alelo dominante A en los gametos se representa por p y la frecuencia del alelo recesivo a en los gametos se representa por q (fig. 9.1). Dado que sólo hay dos alelos,  $p + q = 1$  y  $q = 1 - p$ .

| generación F1 |    |    | frecuencia de la generación F1 |       |       |
|---------------|----|----|--------------------------------|-------|-------|
|               | A  | a  |                                | A     | a     |
| A             | AA | Aa | A                              | $p^2$ | pq    |
| a             | Aa | aa | a                              | pq    | $q^2$ |

**Fig. 9.1** Ecuación de Hardy-Weinberg. Debe considerarse ante una pareja de dos heterocigotos, Aa x Aa. La distribución de los genotipos AA, Aa y aa en la población corresponde a  $p^2$ , 2pq y  $q^2$ , respectivamente. Si A y a son los únicos alelos alternativos para el mismo locus genético, entonces  $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ . a, alelo recesivo; A, alelo dominante; p, frecuencia de A; q, frecuencia de a.



Puedes encontrar información sobre el diagnóstico, tratamiento y asesoramiento sobre enfermedades genéticas específicas en <http://www.geneclinics.org>.

En la combinación de alelos que se produce en la siguiente generación:

- La posibilidad de que tanto el gameto masculino como el femenino porten el alelo A es  $p \times p = p^2$ .
- La posibilidad de que los gametos produzcan un heterocigoto es  $(p \times q) + (p \times q) = 2pq$ .
- La posibilidad de que tanto el gameto masculino como el femenino porten el alelo a es  $q \times q = q^2$ .

Éstas son las únicas posibilidades, por tanto:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Esta ecuación puede emplearse para calcular la frecuencia alélica en una población si se conoce la incidencia de la enfermedad, suponiendo que la población esté en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Para las enfermedades de herencia autosómica recesiva (AR), incidencia de la enfermedad =  $q^2$ ; frecuencia génica = q; frecuencia del heterocigoto (es decir, frecuencia de portadores de la enfermedad AR) = 2pq. Por ejemplo, una enfermedad AR presenta una frecuencia de 1 de cada 1.600 nacidos vivos:

- Incidencia,  $q^2 = 1/1.600$ .
- Frecuencia del gen (a),  $q = 1/40$ ; el alelo dominante A tiene una frecuencia génica  $p = 39/40$ .
- Frecuencia del heterocigoto, 2pq es  $2 \times 39/40 \times 1/40$ , que es aproximadamente 1/20.

Para las enfermedades con herencia autosómica dominante (AD):

- Casi todos los afectados son heterocigotos, por lo que  $q^2$  es aproximadamente 0.
- Si la enfermedad es rara,  $p^2$  es aproximadamente 1.
- La frecuencia del gen de la enfermedad (A) es aproximadamente 2pq, lo que casi es igual a 2q.

## Factores que alteran el equilibrio de Hardy-Weinberg

Una población no sigue el equilibrio de Hardy-Weinberg si las frecuencias genotípicas no se dan en las proporciones predichas por la ley de Hardy-Weinberg (fig. 9.2). Esto puede producirse por varios mecanismos que se discutirán a continuación.

Fig. 9.2A Frecuencias alélicas determinadas por frecuencias genotípicas

|                   | Genotipo |    |    | Total |
|-------------------|----------|----|----|-------|
|                   | TT       | Tt | tt |       |
| N.º de individuos | 40       | 40 | 20 | 100   |
| N.º de alelos T   | 80       | 40 | 0  | 120   |
| N.º de alelos t   | 0        | 40 | 40 | 80    |

Número total de alelos = 120 + 80 = 200  
Frecuencia de T =  $p = 120/200 = 0,6$   
Frecuencia de t =  $q = 80/200 = 0,4$

Fig. 9.2B Empleo de  $\chi^2$  para determinar si una población sigue un equilibrio de Hardy-Weinberg

|               | Genotipo              |                       |                       |
|---------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|               | TT                    | Tt                    | tt                    |
| Observado (O) | 40                    | 40                    | 20                    |
| Esperado (E)  | $p^2 \times 100 = 36$ | $2pq \times 100 = 48$ | $q^2 \times 100 = 16$ |
| O – E         | 4                     | –8                    | 4                     |
| $(O - E)^2/E$ | $16/36 = 0,44$        | $64/48 = 1,33$        | $16/16 = 1$           |

$$\chi^2 = \sum (O - E)^2/E = 0,44 + 1,33 + 1 = 2,77$$

Fig. 9.2 Determinación de si una población está en equilibrio de Hardy-Weinberg, conocidas las frecuencias genotípicas. A) Las frecuencias genotípicas se usan para determinar las frecuencias alélicas. B) La prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) se emplea para determinar si la población difiere significativamente de un equilibrio de Hardy-Weinberg. Las frecuencias genotípicas observadas (O) son las de la población. Las frecuencias genotípicas esperadas (E) son las previstas, si la población está en equilibrio de Hardy-Weinberg, usando las frecuencias alélicas calculadas en A. A partir de las tablas de  $\chi^2$  (con un grado de libertad e intervalos de confianza del 95%), una población no difiere significativamente de una que esté en equilibrio de Hardy-Weinberg si  $\chi^2$  es menor de 3,84.

**Emparejamiento no aleatorio**

Los emparejamientos aleatorios hacen referencia a la selección de una pareja con independencia de su genotipo. La tendencia de los individuos a seleccionar a las parejas que compartan ciertas características (p. ej., altura) se denomina emparejamiento concordante, que es una forma de emparejamiento no aleatorio. Los emparejamientos no aleatorios también pueden producirse por consanguinidad.

**Mutación**

Si un locus posee una tasa elevada de mutaciones, en teoría habrá un incremento en el número de alelos mutados en la población. En la práctica, esto no se produce en poblaciones que siguen el equilibrio de Hardy-Weinberg debido a que la tasa de mutaciones está compensada frente a la disminución en la capacidad reproductiva de los individuos afectados.

**Selección**

La menor capacidad reproductiva de los individuos afectados actúa como selección negativa que provoca una disminución progresiva de la frecuencia de los genes mutados y la alteración del equilibrio

de Hardy-Weinberg. En la práctica está compensada por la tasa de mutaciones de las poblaciones que están en equilibrio.

En algunos casos, la selección puede aumentar el ajuste y, para algunos trastornos autosómicos recesivos, los heterocigotos muestran un aumento del ajuste en relación con los homocigotos no afectados (ventaja heterocigota). Por ejemplo, los portadores de drepanocitosis son comparativamente resistentes al paludismo, lo que explicaría la elevada incidencia de la drepanocitosis en África occidental.

**Deriva genética**

En poblaciones pequeñas, un alelo puede transmitirse a una elevada proporción de la descendencia de forma aleatoria, lo que provoca cambios marcados en la frecuencia alélica entre las dos generaciones y una alteración en el equilibrio de Hardy-Weinberg. Este fenómeno puede contribuir al «efecto de fundador» (v. después).

**Migración**

La introducción de nuevos alelos en la población debida a los movimientos migratorios, así como



los subsiguientes emparejamientos, provocarán un cambio de las frecuencias alélicas y, por tanto, una alteración del equilibrio de Hardy-Weinberg.

**Efecto de fundador**

El efecto de fundador se produce en poblaciones pequeñas, aisladas, con endogamia reproductora. Si por casualidad uno de los pequeños grupos de fundadores originales posee un determinado gen de enfermedad, éste permanecerá sobrerrepresentado en las generaciones sucesivas, a medida que la población se expanda. Por ejemplo, varias enfermedades autosómicas recesivas raras se presentan con una frecuencia relativamente alta entre los Old Order Amish (grupo religioso aislado que tiende a la endogamia).

**Cribado poblacional y detección de portadores**

El cribado poblacional es el análisis de todos los miembros de una población con independencia de los antecedentes familiares. Se emplea para identificar portadores de rasgos recesivos y para detectar individuos presintomáticos. El análisis presintomático algunas veces se denomina prueba predictiva.

El objetivo de la detección de portadores es la identificación de heterocigotos asintomáticos con rasgos autosómicos recesivos (AR), aunque a veces se emplea para detectar portadores de rasgos autosómicos dominantes (AD) de penetrancia limitada o comienzo tardío. Si se identifica una pareja heterocigota para una

**Fig. 9.3** Pruebas utilizadas para el diagnóstico prenatal

| Prueba                                                                                                                       | Gestación                                                      | Procedimiento                                                                                                                         | Anomalías detectadas                                                                                                                                                                                                  | Riesgos del procedimiento                                                                                                           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Amniocentesis                                                                                                                | 16-18 semanas (de rutina), 14-32 semanas si es posible         | Se extrae líquido amniótico a través de una larga aguja insertada por vía transabdominal. Las células se cultivan durante 2-3 semanas | Sexo fetal, cariotipo y análisis enzimático                                                                                                                                                                           | Tasa de abortos estimada en el 1% por encima de la tasa normal a las 16 semanas                                                     |
| Biopsia de vellosidad coriónica                                                                                              | 8-10 semanas                                                   | Biopsia obtenida habitualmente por vía transabdominal o transvaginal                                                                  | Sexo fetal, cariotipo, estudios bioquímicos, análisis del ADN (no es necesario cultivo celular)                                                                                                                       | Tasa de abortos estimada en el 2-3% por encima de la tasa media a las 10 semanas; isoimmunización rhesus si la madre es Rh negativa |
| Cordocentesis                                                                                                                | Más de 18 semanas                                              | Muestra de sangre fetal obtenida insertando una fina aguja en el cordón umbilical del feto                                            | Sospecha de infección fetal o mosaicismo, hidrops inexplicado, anomalías de un único gen, cromosoma X frágil                                                                                                          | Muerte fetal relacionada con el procedimiento en aproximadamente un 1% de casos; riesgo de isoimmunización Rh                       |
| Ecografía                                                                                                                    | Ecografía de rutina a las 16-18 semanas en todos los embarazos | Visualización del feto por medio de ecografía transabdominal                                                                          | Más de 280 malformaciones congénitas                                                                                                                                                                                  | Prueba no invasiva con bajo riesgo asociado                                                                                         |
| Detección selectiva en el suero materno: enfermedades infecciosas (TORCH), análisis cuádruple (AFP, HCG, uE3 y DIA en suero) | 13-26 semanas                                                  | Obtención de una muestra de sangre materna                                                                                            | Detección de infecciones que pueden producir malformaciones congénitas (v. cap. 8); el cuádruple análisis estima el riesgo relativo de DTN y de síndrome de Down basado en los niveles séricos de HCG, AFP, uE3 y DIA | Muy bajo                                                                                                                            |

**Fig. 9.3** Algunas de las pruebas disponibles en el diagnóstico prenatal. (AFP,  $\alpha$ -fetoproteína; DIA, inhibina A dimérica; DTN, defecto del tubo neural; HCG, gonadotropina coriónica humana; TORCH, toxoplasmosis, otros agentes, rubéola, citomegalovirus, herpes simple; uE3, estradiol no conjugado.) El riesgo asociado se refiere al riesgo que tiene la prueba de lesionar al feto.



mutación en el mismo locus puede ofrecerse consejo genético antes de la concepción y ofrecer las pruebas prenatales pertinentes. La detección del portador tiende a confinarse a poblaciones étnicas más pequeñas, en las que existe una incidencia anormalmente alta de una enfermedad concreta, debido al efecto de fundador o a la ventaja heterocigota.

El diagnóstico prenatal implica el empleo de pruebas durante el embarazo para determinar si un feto está afectado con una enfermedad concreta (v. págs. 186-187). La figura 9.3 describe algunas pruebas disponibles en el diagnóstico prenatal de riesgo relativo en el embarazo.

## Criterios para un programa de cribado

Los programas de cribado realizados a nivel poblacional para trastornos genéticos deben cumplir los criterios correspondientes establecidos por el UK National Screening Committee (NSC), que constituyen una extensión de los criterios de Wilson-Jungner (OMS 1968).

- La enfermedad en la que se va a aplicar la detección selectiva debe ser un problema significativo.
- Debe haber un estadio latente o sintomático precoz.
- Debe conocerse la historia natural de la enfermedad.
- Debe haber una prueba o exploración precisa para la enfermedad.
- La prueba o exploración debe ser aceptable para la población.
- El descubrimiento de los casos debe ser un proceso continuo, en lugar de un proyecto aislado.
- Debe haber un tratamiento eficaz para la enfermedad.
- Debe disponerse de los medios adecuados para el diagnóstico y el tratamiento.
- Debe existir una política de consenso sobre a quién tratar como pacientes.
- El coste de la detección selectiva debe compensar el gasto sanitario global.

## Métodos empleados para la detección de portadores y el diagnóstico presintomático

### Detección directa de mutaciones

Si una mutación (o mutaciones) que causa una enfermedad concreta está definida, los portadores o individuos presintomáticos pueden identificarse mediante análisis directo de las mutaciones empleando técnicas de ADN tales como PCR o hibridación in situ con fluorescencia (FISH) (v. cap. 7).

### Ligamiento con marcadores polimórficos

El ligamiento genético es la tendencia de los alelos próximos de un mismo cromosoma a transmitirse juntos durante la meiosis (v. cap. 6). Permite que los genes de la enfermedad, para los que la mutación causal es desconocida, se rastreen a través de generaciones mediante el empleo de marcadores polimórficos ligados que se localizan lo suficientemente cerca del gen de la enfermedad como para que la recombinación sea improbable (fig. 9.4).

### Pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas constituyen una parte importante del diagnóstico prenatal y presintomático. Se pueden detectar alrededor de 100 errores innatos del metabolismo mediante análisis enzimáticos, empleando cultivos de amniocitos o de vellosidades coriónicas. En los recién nacidos se puede realizar la detección selectiva para buscar errores del metabolismo mediante pruebas bioquímicas sencillas en muestras de sangre.

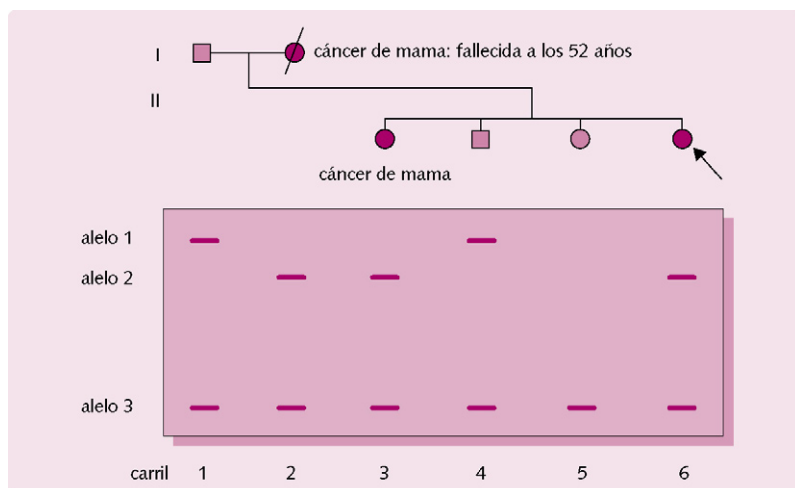
La fenilcetonuria (FCU) y el hipotiroidismo congénito (HTC) se analizan de forma rutinaria mediante un análisis puntual de sangre. Permite identificar a alrededor de 250 niños con FCU o HTC al año, lo que hace posible comenzar el tratamiento antes de que se produzca un daño irreversible. En todos los recién nacidos, se toma una muestra de sangre del talón que se coloca en una tarjeta de Guthrie y se envía al laboratorio para analizarla. Como parte del Programa de detección selectiva en recién nacidos en Reino Unido, se esperaba que para 2007 se les ofreciese a todos los progenitores la oportunidad de someter a todos sus hijos a detección selectiva no sólo de FCU y HTC, sino también de drepanocitosis y fibrosis quística.

## Detección precoz en poblaciones «de riesgo»

### Hemoglobinopatías

Como parte del Programa de detección selectiva de la drepanocitosis y la talasemia del NHS británico, en todos los recién nacidos se realiza la detección de ambas enfermedades. De forma tradicional, la detección se ha dirigido a las poblaciones de riesgo. El análisis de la drepanocitosis se ha ofrecido a personas que vivían en un área geográfica de alta prevalencia y a las consideradas «de riesgo» en áreas de baja prevalencia. La detección de portadores adultos se realiza con el análisis Sickledex, que pone en evidencia el aspecto falciforme de los eritrocitos in vitro con concentraciones muy bajas de oxígeno.

**Fig. 9.4** Detección del cáncer de mama hereditario usando ligamiento de microsatélite. Utilizando un punto microsatélite para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que se sabe que está vinculada al locus génico de la enfermedad, se han detectado tres alelos (cada uno correspondiente a un elemento de repetición diferente). La madre afectada ha transmitido el gen de la enfermedad y el alelo 2 a la hija afectada (carril 3) y su gen normal y el alelo 3 a cada uno de los hijos no afectados (carriles 4 y 5). Esta podría ser una situación en la que la madre y la hija ya han desarrollado cáncer de mama y el análisis muestra que la hija más joven (carril 6) también posee el gen de la enfermedad, por lo que tiene un elevado riesgo de desarrollar cáncer. Debería, por tanto, someterse a mamografías periódicas para detección precoz (en esta situación algunas pacientes se someten a una doble mastectomía programada).



Por lo general, la detección de portadores de talasemia se realiza en poblaciones mediterráneas y del sureste asiático, analizando varios índices eritrocíticos (microcitosis hipocrómica) y con electroforesis en busca de hemoglobinas anómalas (para detectar un aumento de la concentración de hemoglobina  $A_2$ ).

### Enfermedad de Tay-Sachs

Los portadores se detectan mediante la determinación de hexosaminidasa A (HEXA) en suero o en los leucocitos. Como alternativa, si se conoce la probabilidad de la mutación, se puede ofrecer la detección directa de mutaciones. Estas pruebas se dirigen a la población judía Ashkenazi.

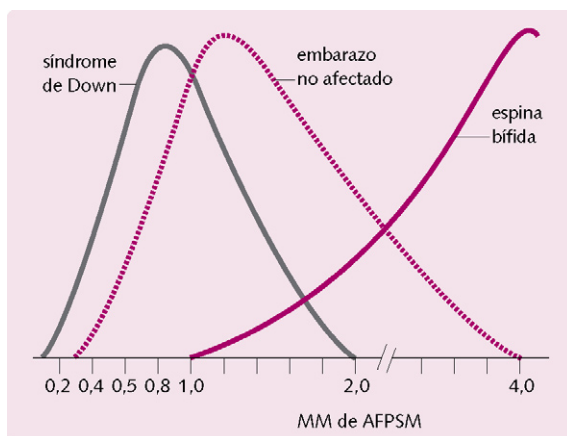
### Fibrosis quística

La fibrosis quística (FQ) es la enfermedad autosómica grave que afecta con mayor frecuencia a población caucásica. La detección de portadores se limita generalmente a las familias afectadas, aunque en algunas áreas se analizan todos los bebés. Se usan tres modalidades de detección selectiva:

- Detección selectiva prenatal: mediante amniocentesis o biopsia de vellosidades coriónicas. Se ofrece a progenitores portadores conocidos.
- Análisis en recién nacidos: se ofrece de forma rutinaria en algunas áreas de Inglaterra, como parte del protocolo de «análisis de sangre del talón», tras lo que se realiza una prueba del sudor de confirmación.
- Detección de mutaciones: alrededor del 85% de los portadores de FQ tienen una mutación «común», que puede identificarse mediante tecnologías de secuenciación de ADN.

### Pruebas de detección selectiva prenatal

Suelen ser pruebas rápidas y sencillas que pueden emplearse para valorar el riesgo relativo de una mujer de tener un hijo afectado. En muchas de estas pruebas se emplea el suero materno. Entre las 13-26 semanas de gestación, se estudia la  $\alpha$ -fetoproteína del suero materno (AFPSM), la gonadotropina coriónica humana (HCG), el estradiol no conjugado (uE3) y la inhibina-A dimérica (DIA) (fig. 9.5). Estas determinaciones se corrigen para la edad gestacional y se calcula un múltiplo del valor medio para evaluar el riesgo relativo de varios trastornos



**Fig. 9.5** Detección de la trisomía 21. Los niveles de  $\alpha$ -fetoproteína sérica materna (AFPSM) se usan para generar tasas de probabilidad, que derivan de la distribución superpuesta de los embarazos afectados y no afectados. La tasa de probabilidades y la edad materna se usan conjuntamente para generar un riesgo combinado. Si existe un elevado riesgo combinado, se envía a la embarazada para realizar una amniocentesis. Si existe un bajo riesgo combinado, puede transmitirse un pronóstico tranquilizador. MM, múltiplos de la mediana.

**Fig. 9.6** Tasas de detección obtenidas usando distintas estrategias de detección selectiva para el síndrome de Down

| Modalidades de detección selectiva | % de todos los embarazos analizados | % de casos de síndrome de Down detectados |
|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------|
| Edad solamente                     |                                     |                                           |
| A partir de 40 años                | 1,5                                 | 15                                        |
| A partir de 35 años                | 7                                   | 35                                        |
| Edad + AFP                         | 5                                   | 34                                        |
| Edad + AFP, uE3 + HCG              | 5                                   | 61                                        |
| Edad + AFP, uE3, HCG + DIA         | 5                                   | 75                                        |
| TN solamente                       | 5                                   | 61                                        |
| TN + edad                          | 5                                   | 69                                        |
| HCG, AFP + edad                    | 5                                   | 73                                        |
| TN + AFP, HCG + edad               | 5                                   | 86                                        |

**Fig. 9.6** Tasas de detección obtenidas usando distintas estrategias de detección selectiva para el síndrome de Down. AFP,  $\alpha$ -fetoproteína; DIA, inhibina A dimérica; HCG, gonadotropina coriónica humana; TN, translucencia nual; uE3, estradiol no conjugado. (Reproducida de Turnpenny y Ellard, 2004.)

fetales, como defectos del tubo neural (esпина bífida) y trisomía 21 (síndrome de Down) (fig. 9.6):

- La AFPSM suele estar disminuida en las trisomías 18 y 21, y es normal en la trisomía 13.
- La AFPSM suele estar disminuida en los defectos del tubo neural.
- El uE3 suele estar disminuido en las trisomías 13, 18 y 21.
- La HCG suele estar elevada en la trisomía 21 y disminuida en las trisomías 18 y 13.
- La DIA suele estar elevada en la trisomía 21.

### Detección precoz «en cascada»

La detección precoz en cascada es la identificación de portadores de alteraciones autosómicas recesivas en una familia o de personas con un gen autosómico dominante, tras establecer el caso índice. Una vez que se ha diagnosticado la enfermedad en un individuo, se ofrece la prueba a los miembros de la familia con alto riesgo. Si se identifican más miembros de la familia con el gen, el resultado puede emplearse para identificar nuevos miembros de la familia con riesgo, a quienes se les propone entonces la prueba. Estos resultados, a su vez, redefinen el estado de riesgo de otros miembros de la familia, y así sucesivamente.

## VALORACIÓN DEL RIESGO Y CONSEJO GENÉTICO

En las familias en las que una enfermedad se presenta con un patrón de herencia mendeliana reconocible,

puede calcularse el riesgo de otros miembros de la familia de desarrollar o transmitir la enfermedad, simplemente mediante la teoría de las probabilidades.

### Teoría de las probabilidades aplicada a la genética

La probabilidad de que se produzca un suceso simple se puede expresar como una fracción:

$$p = \frac{\text{número de sucesos que pueden producirse}}{\text{número total de posibilidades}}$$

La probabilidad es una manera útil de demostrar el riesgo de que se produzca un suceso genético.

### Leyes de adición y multiplicación de probabilidades

#### Ley de adición

Si dos sucesos no pueden producirse al mismo tiempo, se dice que son mutuamente excluyentes. La probabilidad de que se produzca cualquiera de ellos es la suma de sus probabilidades. La ley de la adición es:

$$p = p_1 + p_2$$

La ley de adición en ocasiones se denomina ley del «o» porque es la probabilidad de que se produzca un suceso o el otro.

#### Ley de multiplicación

Un suceso independiente es aquel que no tiene efecto sobre los sucesos subsiguientes. El resultado del

primer suceso no tiene efecto sobre los siguientes. La probabilidad de que ocurran todos los sucesos es igual al producto de las probabilidades individuales. La ley de multiplicación es:

$$p = p_1 \times p_2$$

La ley de multiplicación se denomina a veces ley del «y» porque es la probabilidad de que ocurra un suceso y el otro.

Para determinar la probabilidad de que se produzcan dos sucesos independientes, se deben multiplicar las probabilidades de ambos entre sí.



### Cálculo del riesgo a partir del árbol genealógico

#### Enfermedad autosómica recesiva

Las enfermedades autosómicas recesivas sólo se manifiestan si se heredan dos copias del gen mutado (v. fig. 8.8). Por tanto, para que un niño tenga una enfermedad autosómica recesiva, ambos progenitores deben ser portadores.

Lee las preguntas sobre las enfermedades autosómicas recesivas con cuidado. Por ejemplo, si te piden que defines la probabilidad de que un niño sano cuyos dos progenitores son portadores sea portador de la fibrosis quística, la respuesta es 2/3, porque sabemos que el niño no tiene la enfermedad. Sin embargo, si te piden que calcules la probabilidad de que un niño aún no nacido sea portador, la respuesta es 1/2, porque también puede tener la enfermedad.



#### Enfermedad autosómica dominante

Las enfermedades autosómicas dominantes se manifiestan si se hereda un gen mutado (v. fig. 8.5). Por tanto, para que un hijo tenga la enfermedad dominante, la madre o el padre deben tener el gen enfermo.

#### Enfermedades recesivas ligadas al X

La situación es más complicada con las enfermedades recesivas ligadas al cromosoma X, porque la situación cambia dependiendo del sexo del hijo (v. fig. 8.11).

A medida que aprendemos más sobre el desarrollo de enfermedades complejas y de la interrelación entre nuestros genes y el ambiente, las cuestiones relativas a los factores sociales y ambientales adquieren una relevancia cada vez más crucial en la progresión del mapeo de las enfermedades.



### Teorema de Bayes

Puede emplearse información adicional para modificar el riesgo calculado a partir de los datos del árbol genealógico para obtener un valor más preciso. Por ejemplo, dado que la enfermedad de Huntington suele manifestarse a una mediana edad, un portador sospechoso que no haya desarrollado la enfermedad a los 30 años tiene aún posibilidades de tener la mutación. Sin embargo, si no ha desarrollado la enfermedad a los 60 años es menos probable que sea portador de la mutación, dado que sería de esperar que la enfermedad se hubiese manifestado antes de esa edad. El análisis de Bayes es un método para tener en cuenta estas consideraciones en la determinación de las probabilidades relativas de dos sucesos alternativos:

- La probabilidad «a priori» se basa en la herencia mendeliana clásica.
- La probabilidad «condicional» se basa en las observaciones que modifican la probabilidad a priori, como la existencia de descendencia no afectada, los resultados de las pruebas de detección precoz o la edad de la descendencia.

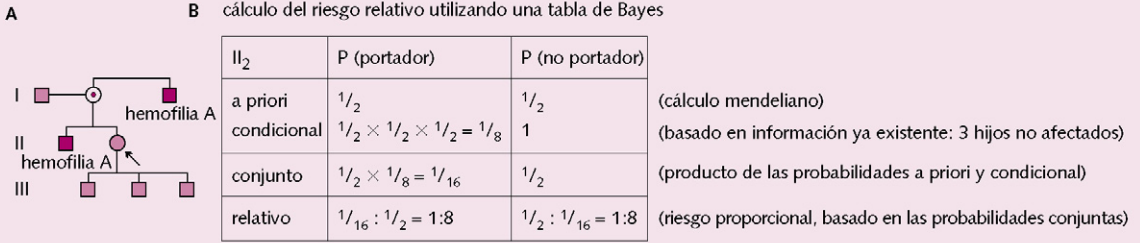
La probabilidad «conjunta» se calcula como el producto de la probabilidad a priori y la condicional. La probabilidad «relativa» final es el riesgo proporcional de una alternativa respecto de la otra (figs. 9.7 y 9.8).

## Aspectos del consejo genético

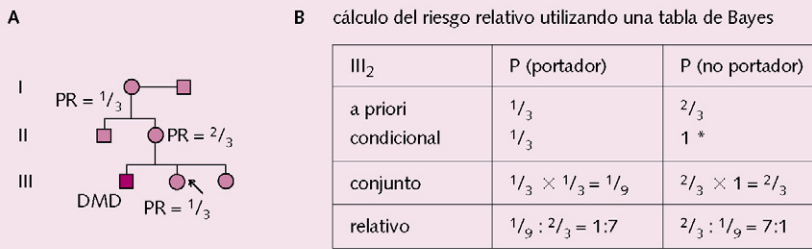
### Establecimiento del diagnóstico

El consejo genético consiste en proporcionar información a individuos afectados o a miembros de una familia con riesgo de tener alguna anomalía que puede ser de origen genético. Los «consultandos» deben ser informados acerca de:

- Las consecuencias del trastorno.
- La probabilidad de desarrollarlo o de transmitirlo.
- Las formas de evitarlo o de paliarlo.

**trastorno recesivo ligado al cromosoma X: hemofilia A**


**Fig. 9.7** Estimación del riesgo de portador usando el teorema de Bayes. A) La madre (II<sub>2</sub>) es una portadora obligada, ya que tiene un hermano y un hijo afectados. La hija (II<sub>1</sub>) ha tenido ya tres hijos no afectados. ¿Cuál es el riesgo de que ella esté afectada? B) El riesgo relativo calculado puede ser mostrado en una tabla de Bayes.

**caso aislado recesivo ligado al cromosoma X: distrofia muscular de Duchenne (DMD)**


\*todos los no portadores tienen una cifra normal de CK

**Fig. 9.8** Estimación del riesgo de portador usando el teorema de Bayes II. A) Caso aislado de DMD en III<sub>1</sub>; se evalúa el riesgo de portador en su hermana, III<sub>2</sub>. El 35% de los casos proviene de nuevas mutaciones: ni la madre ni la hermana experimentarían la mutación. Si la mutación fue heredada de la madre, el riesgo de portador para la hermana se reduce a la mitad. Si la mutación se produjo en la abuela, la madre sería una portadora obligada (riesgo de portador) 1 y el riesgo de portador de la hija sería la mitad. Basándose en esta información, el riesgo previo para la abuela es de un tercio, el de la madre es de dos tercios y el de la hija es de un tercio. La hija tiene una cifra de creatina cinasa (CK) normal. En general, dos tercios de los portadores tienen una CK elevada y un tercio tienen la CK normal. B) El riesgo relativo calculado puede ser mostrado en una tabla de Bayes.

En el consejo genético resulta esencial obtener un diagnóstico exacto, de modo que pueda darse el asesoramiento correcto. Es necesario realizar una historia médica de todos los individuos afectados de la familia y elaborar un árbol genealógico. Se debe indagar específicamente la existencia de abortos, dificultades del aprendizaje inexplicadas, malformaciones congénitas y la presencia de consanguinidad.

Las investigaciones que se deben realizar pueden implicar análisis cromosómicos o del ADN, o pruebas bioquímicas específicas relacionadas con la enfermedad que se está rastreando.

## Presentación de los riesgos en su contexto

Una vez que se ha establecido el diagnóstico y el tipo de herencia, puede estimarse el riesgo de recurrencia y el riesgo que tienen los consultandos de ser portador, basándose en el teorema de Bayes y en las reglas de la herencia mendeliana.

## Discusión de las posibles opciones, comunicación y apoyo

El asesor genético debe intentar no establecer juicios de valor y escuchar a los consultandos cuando se comenten sus futuras opciones. En el mejor de los casos, el asesor puede tranquilizar al consultando indicando que el riesgo de recurrencia no es mayor que el de la población general. Si el riesgo de recurrencia es elevado, el asesor debe indagar los sentimientos del consultando hacia la enfermedad, desde el punto de vista de las implicaciones físicas, emocionales y económicas. Teniendo todo esto en mente, el asesor puede proporcionar información acerca de las posibles opciones, como:

- Evitar nuevos embarazos: deben darse consejos sobre métodos fiables de anticoncepción.
- Diagnóstico prenatal: aborto selectivo de los fetos afectados.
- Inseminación artificial con esperma de donantes (IAD): si el varón tiene una enfermedad AD o ambos cónyuges son portadores de una enfermedad AR.



- Fecundación in vitro (FIV) con diagnóstico genético previo a la implantación.
- Ignorar el riesgo y afrontar la situación si naciese un niño afectado.

Se deben ofrecer sesiones de seguimiento y, previo consentimiento informado, mantener un registro de los consultandos, de forma que puedan ser llamados si se desarrollan nuevas pruebas prenatales o de detección de portadores.

## Consideraciones éticas en el consejo genético

### Consanguinidad e incesto

El incesto es el mantenimiento de una relación sexual entre familiares de primer grado. En Reino Unido, los primos hermanos dobles son los parientes más cercanos que obtienen permiso para casarse (esto es, ambas parejas de progenitores son familiares). El riesgo de enfermedad o de malformación congénita grave en un niño nacido de primos hermanos es de 1/20. Esta cifra se eleva a 1/11 en las familias con alto grado de consanguinidad. Por tanto, está indicada la realización de pruebas detalladas para detectar posibles anomalías durante el embarazo, así como un cuidadoso control durante y después de éste.

### Paternidad cuestionada

En las pruebas de paternidad se utilizan modernas técnicas basadas en huellas genéticas. Se trata de la detección de repeticiones en tándem de número variable (VNTR) (cap. 7) para generar «códigos de barras» individuales. El patrón de bandas que se obtiene es único para cada persona y la probabilidad de que dos personas sin relación de parentesco tengan el mismo patrón de fragmentos es inferior a  $3 \times 10^{-11}$ .

### Confidencialidad y conflictos de interés

Nunca deben olvidarse las leyes de confidencialidad del paciente. Esto puede a veces constituir un problema cuando una familia padece una enfermedad con un patrón muy claro de herencia y sólo algunos miembros de la familia quieren saber sus riesgos de estar afectados (v. pág. 195).

## CONSULTA Y ELABORACIÓN DE LA HISTORIA GENÉTICA

Si se quiere dar un consejo genético correcto, es esencial la obtención de un diagnóstico exacto. Determinadas enfermedades que son aparente-

mente similares pueden tener etiologías y modos de herencia completamente diferentes (p. ej., el enanismo). Por tanto, una suposición incorrecta del diagnóstico subyacente puede llevar a realizar cálculos completamente erróneos. Es esencial que se transmita la información de una forma comprensible para los consultandos. Resulta útil preguntarles qué es lo que saben de genética antes de intentar explicarles la naturaleza de la enfermedad.

### Resumen de la entrevista

Una historia genética es muy parecida a la que se elabora en cualquier enfermedad médica y es fundamental que se realice de forma adecuada. Hay una serie de cuestiones y circunstancias que es fundamental analizar. Por ejemplo, se debe prestar una atención especial a los familiares que tienen trastornos relevantes. Hay que elaborar un árbol genealógico para mostrar cómo se ha transmitido la enfermedad en la familia. Hay que utilizar una serie estandarizada de símbolos, como se describe en la figura 8.4. Un árbol genealógico preciso debería revelar el modo de herencia de la enfermedad genética, su penetrancia y, posiblemente, dónde se originó por primera vez. De este modo, se puede realizar un cálculo realista del riesgo para la familia con vistas a los futuros embarazos.

Se debe preguntar específicamente sobre:

- Muertes de lactantes, mortinatos y abortos, ya que esto puede alterar los riesgos de recurrencia (p. ej., la espina bífida se acompaña de un mayor riesgo de defectos del tubo neural en los hijos posteriores).
- Consanguinidad.
- Ilegitimidad (¡con discreción!), ya que esto puede explicar unas incidencias inesperadas de enfermedad.
- Etnicidad y país de procedencia, pues las personas nacidas en un determinado país pueden tener un antepasado geográfico relevante «oculto».
- Antecedentes obstétricos (p. ej., salud materna, exposición a teratógenos e infecciones virales).

## PRESENTACIONES HABITUALES DE LAS ENFERMEDADES GENÉTICAS

En la figura 9.9 se muestran algunas presentaciones frecuentes de enfermedades genéticas.

**Fig. 9.9** Presentaciones y asociaciones frecuentes de enfermedades genéticas

| Sistema                           | Ejemplo                                          | Asociación                                                                                                           |
|-----------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desarrollo                        | Habilidades sociales                             | Personalidad gregaria en el síndrome de Williams. Risa inapropiada y ausencia de lenguaje en el síndrome de Angelman |
|                                   | Retraso del crecimiento                          | Insuficiencia pancreática en la fibrosis quística. Alteraciones metabólicas (p. ej., mucopolisacaridosis)            |
| Deformidades orales y faciales    | Hipertelorismo                                   | Síndrome de nevos basocelulares, síndrome de DiGeorge y síndrome de Loeys-Dietz                                      |
|                                   | Labio leporino y fisura palatina                 | Condrodisplasia punctata, trisomía 13 y síndrome de Pierre-Robin                                                     |
|                                   | Craneosinostosis                                 | Síndrome de Crouzon                                                                                                  |
|                                   | Orejas de implantación baja                      | Síndrome de Patau, síndrome de Edwards, síndrome de Turner                                                           |
| Piel                              | Ictiosis                                         | Condrodisplasia punctata, síndrome de Conradi                                                                        |
|                                   | Ampollas                                         | Epidermólisis ampollosa                                                                                              |
| Tejido óseo y conjuntivo          | Polidactilia                                     | Síndrome de Patau; síndrome de Ellis-van Creveld                                                                     |
|                                   | Braquidactilia                                   | Síndrome de Turner                                                                                                   |
|                                   | Pie en mecedora                                  | Síndrome de Edwards                                                                                                  |
| Cardiopatías congénitas           | Estenosis pulmonar y comunicación interauricular | Síndrome de Noonan                                                                                                   |
|                                   | Estenosis aórtica y pulmonar                     | Síndrome de Williams                                                                                                 |
|                                   | Coartación aórtica                               | Síndrome de Turner                                                                                                   |
|                                   | Tronco arterioso y atresia pulmonar              | Síndrome de DiGeorge                                                                                                 |
| Enfermedades digestivas           | Onfalocele y gastrosquisis-onfalocele            | Síndrome de Beckwith                                                                                                 |
|                                   | Íleo meconial                                    | Fibrosis quística                                                                                                    |
|                                   | Atresia duodenal                                 | Síndrome de Down                                                                                                     |
|                                   | Ano imperforado                                  | Síndrome VATER                                                                                                       |
| Enfermedades hepáticas            | Cirrosis                                         | Enfermedad de Wilson, hemocromatosis                                                                                 |
|                                   | Cirrosis y enfisema                              | Deficiencia de $\alpha_1$ -antitripsina                                                                              |
|                                   | Ictericia aislada                                | Síndrome de Gilbert                                                                                                  |
| Alteraciones del aparato urinario | Poliquistosis renal                              | Síndrome de Patau, síndrome de Edwards, esclerosis tuberosa, síndrome de Meckel                                      |
|                                   | Tumores renales                                  | Tumor de Wilms, síndrome de von Hippel-Lindau                                                                        |
|                                   | Hipogonadismo                                    | Síndromes de Klinefelter, de Turner y de Prader-Willi                                                                |
| Enfermedades hematológicas        | Pancitopenia                                     | Anemia de Fanconi                                                                                                    |
|                                   | Alteraciones de la coagulación                   | Hemofilia A y B, enfermedad de von Willebrand                                                                        |
|                                   | Inmunodeficiencia                                | Agammaglobulinemia de Bruton ligada al X, inmunodeficiencia combinada grave                                          |

**Fig. 9.9** Presentaciones y asociaciones frecuentes de enfermedades genéticas.

## TRATAMIENTO DE LAS ENFERMEDADES GENÉTICAS

Después de los diversos procedimientos genéticos de detección selectiva, pruebas, consejo y asesoramiento continuos, el aspecto final del manejo de las enfermedades genéticas es el tratamiento. En la actualidad, casi todas las enfermedades genéticas son incurables, pero la mayoría son controlables. Una de las grandes esperanzas de la era posgenómica es que las esquivas curaciones se conviertan en posibles y en algo habitual.

### Estrategias actuales

Las estrategias actuales para el tratamiento de las enfermedades genéticas consisten, entre otras, en:

- Tratamiento de soporte convencional.
- Corrección quirúrgica de aspectos macroscópicos del fenotipo.
- Limitación de sustratos.
- Modificación ambiental.
- Reposición enzimática.

### Tratamiento de soporte convencional

El tratamiento convencional de una enfermedad genética se dirige a aliviar los síntomas y reducir las complicaciones. Consta de varias modalidades que van del tratamiento farmacológico y quirúrgico a la fisioterapia, la terapia ocupacional y la logopedia. Por ejemplo, el tratamiento del síndrome de Marfan requiere revisiones periódicas de oftalmología y cardiología, y puede precisar la prescripción de  $\beta$ -bloqueantes para reducir la tasa de dilatación de la raíz aórtica y, por tanto, de disección aórtica, una vigilancia ecocardiográfica anual para monitorizar el tamaño y función del corazón y la aorta, fisioterapia, ayudas para la movilidad y modificación domiciliaria, así como la prescripción de gafas y lentes de contacto. La cirugía también es habitual, tanto para la sustitución profiláctica de la raíz aórtica como para las complicaciones esqueléticas que se producen.

### Corrección quirúrgica de aspectos macroscópicos del fenotipo

Los rasgos de algunos síndromes pueden corregirse quirúrgicamente por motivos estéticos y funcionales, como la corrección del labio leporino y la fisura palatina, así como por motivos funcionales sólo, como en la estenosis del píloro y en las cardiopatías congénitas.

### Modificación ambiental

La gravedad y los efectos de algunos trastornos genéticos pueden reducirse evitando los factores ambientales clave. Por ejemplo, los pacientes con deficiencia de  $\alpha_1$ -antitripsina pueden retrasar la progresión y gravedad del enfisema evitando la exposición al humo del tabaco. A los pacientes con deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) se les aconseja que eviten ciertos fármacos, como la aspirina y la dapsona, con el fin de evitar la hemólisis intravascular. Los que tienen la variante mediterránea de G6PD también deberían evitar las habas en su dieta.

### Limitación de sustratos

Mediante la limitación de la exposición a ciertos sustratos, se pueden aliviar los efectos de ciertas enfermedades genéticas.

Dado que los pacientes con fenilcetonuria carecen de fenilalanina hidroxilasa, evitar la exposición a la fenilalanina desde el primer mes de vida asegura un desarrollo intelectual normal. Los efectos de la enfermedad de Wilson se deben al depósito de cobre en estructuras clave, como los ganglios basales y el hígado. El tratamiento a largo plazo con penicilamina quelata el cobre y aumenta su excreción urinaria.

### Reposición enzimática

Algunas enfermedades por carencia de enzimas pueden tratarse con una terapia de reposición enzimática:

- La diabetes mellitus de tipo 1 se trata mediante la reposición de la incapacidad del organismo de producir suficiente insulina natural con insulina humana recombinante exógena.
- La tendencia hemorrágica debida a la deficiencia congénita de factor VIII en la hemofilia A se corrige mediante la infusión intravenosa de un concentrado de factor VIII.
- La enfermedad de Gaucher de tipo 1 se puede tratar con una  $\beta$ -glucosidasa modificada por manosa-6-fosfato, lo que permite dirigir al producto enzimático de reposición a los lisosomas de los macrófagos. De este modo se alivian los síntomas y se reduce la gravedad de la organomegalia.

Sin embargo, el tratamiento de reposición enzimática no es la bala mágica que se pensó en un principio. Si no se cuenta con un sistema eficaz de aporte de la enzima, dicho tratamiento tiene malos resultados. Por ejemplo, los tipos 2 y 3 de la enfermedad de Gaucher no se pueden tratar mediante terapia de reposición enzimática debido a la ausencia de un mecanismo de transporte adecuado capaz de atravesar la barrera hematoencefálica.

## Perspectivas de futuro

Las modalidades terapéuticas que se hallan en la actualidad en fase de investigación son:

- Terapia génica.
- Terapias de bloqueo génico.
- Terapia con células progenitoras.

### Terapia génica

La terapia génica consiste en la alteración genética de las células de personas con enfermedades genéticas para corregir la anomalía genética existente. Puede conseguirse mediante:

- La introducción de la secuencia génica funcional en el ADN de la célula diana.
- La introducción de genes transfectados expresados por vectores o integrados en el genoma del huésped.

En la actualidad, se utilizan dos métodos principales de introducción de secuencias génicas:

- Viral. Se han manipulado virus de distintas especies (oncorretrovirus, lentivirus, adenovirus, virus asociados a adenovirus y virus herpes) para utilizar su capacidad intrínseca de introducir material genético en las células huésped a fin de insertar constructos de ADN recombinante.
- No viral. Los métodos de introducción no viral consisten en la introducción de ADN desnudo directamente en la célula y en el uso de la transferencia de ADN mediado por liposomas.

Aunque, en teoría, las células diana pueden ser somáticas o de la línea germinal, la ética de la manipulación de la línea germinal sigue siendo controvertida (v. pág. 197) y todos los protocolos actuales de terapia génica se concentran en la terapia génica somática, en la que la alteración de la información genética se dirige a células específicas y no es transmisible a las generaciones futuras.

La ADA-IDCG es una inmunodeficiencia combinada grave (IDCG) de herencia autosómica. En Estados Unidos, el primer protocolo de terapia génica somática aprobado por los National Institutes of Health fue para el uso de vectores retrovirales con el fin de actuar sobre el gen *ADA* en linfocitos estimulados *in vitro* de los pacientes, que a continuación volvían a inyectarse en el cuerpo. Sin embargo, dado que los linfocitos tienen una esperanza de vida limitada, estos pacientes

debían someterse a reinyecciones cada pocos meses. En la actualidad, se están investigando métodos para insertar con retrovirus el gen *ADA* en células cultivadas de médula ósea, que a continuación podrían trasplantarse al paciente y ofrecer la posibilidad de una remisión a largo plazo.

Para que la terapia génica se convierta en un posible método terapéutico más potente, aún hay varios factores que deben superarse, como:

- La corta esperanza de vida de los constructos de ADN terapéutico.
- La respuesta inmunitaria del «huésped».
- Los problemas con los vectores virales, por ejemplo la selección de los genes diana, aspectos de control y el miedo de que el virus revierta al tipo normal.

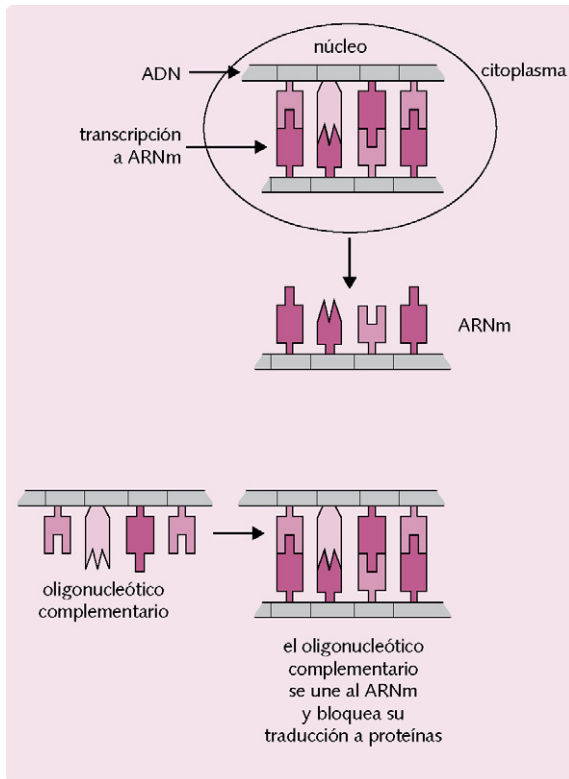
### Terapias de bloqueo génico

De forma tradicional, la investigación en el tratamiento de los trastornos con ganancia de función o negativos dominantes (v. págs. 155-156) se ha centrado en el uso de ADN complementario para unirse al ARNm y, por tanto, evitar la expresión génica (fig. 9.10), con unos resultados relativamente decepcionantes. Una herramienta de investigación más reciente, el ARN de interferencia (ARNi), ofrece la posibilidad de inhibir la expresión génica de un modo dependiente de secuencia para desactivar de forma selectiva el gen patológico utilizando ARN bicatenario (ARNbc). El ARNi se desarrolló a partir de la observación de que las células de organismos pluricelulares utilizan una enzima denominada «dicer» («troceadora») para digerir el ARNbc viral en pequeños fragmentos, que a continuación se convierten en plantillas, junto con complejos silenciadores inducidos por ARN (RISC), para dirigir la destrucción de un ARN monocatenario de la misma secuencia. Mediante la síntesis de moléculas de ARN bicatenario que se corresponden a una secuencia de ADN patógeno, se puede inducir al ARNi para destruir secuencias específicas de ARNm relacionadas con la enfermedad (fig. 9.11).

### Terapia con células progenitoras

El tratamiento con células progenitoras, en lugar de reponer los genes y productos génicos defectivos, pretende utilizar la pluripotencia y multipotencia de las células progenitoras para reponer las células y órganos defectivos. Mediante la inyección de células progenitoras embrionarias o de la médula ósea en los tejidos u órganos enfermos, se espera que dichas células se diferencien en el tipo celular implicado,





**Fig. 9.10** Terapia génica utilizando una técnica complementaria. La unión del ARNm anómalo a la molécula complementaria impide que se traduzca a una proteína anómala. (Reproducida de Jorde y cols., 2006.)

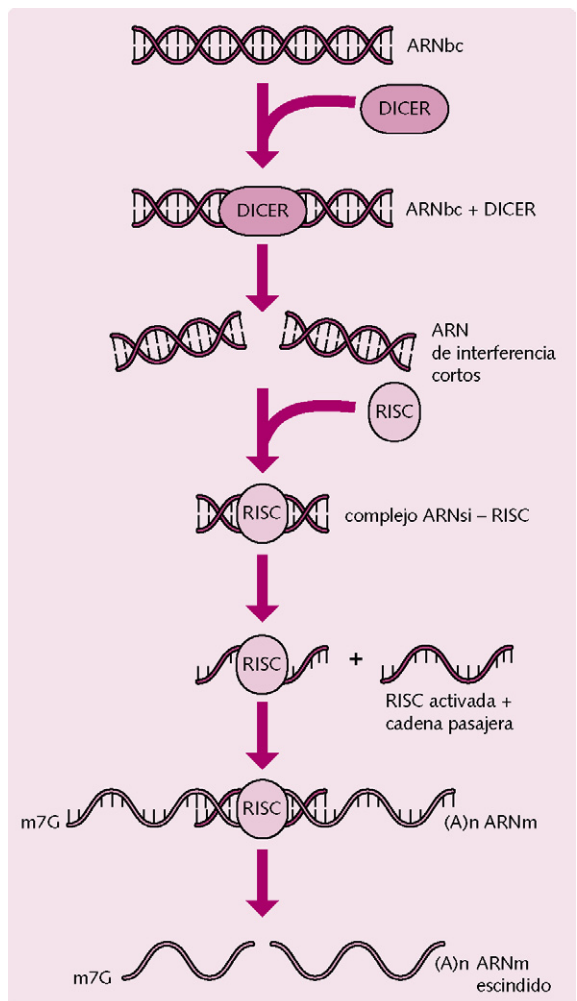
sustituyendo así a las células enfermas. Es de esperar que la terapia con células progenitoras proporcione la llave para la curación de diversas enfermedades, como la diabetes mellitus de tipo 1 y de trastornos neurológicos como la enfermedad de Parkinson. En la actualidad, los trasplantes de células progenitoras ya son algo habitual para algunas enfermedades hematológicas, como la leucemia.



Existen preocupaciones acerca de que la terapia con células progenitoras pueda transmitir de forma inadvertida virus y otros agentes patógenos a las personas que reciben los trasplantes o que, a lo largo del tiempo, las células se conviertan en cancerosas.

Las células progenitoras pueden extraerse de varias localizaciones. Los trasplantes de células progenitoras en adultos pueden realizarse con células multipotentes de la médula ósea o de la sangre periférica, de origen tanto autólogo

como alogénico (lo más frecuente). Las células progenitoras alogénicas exigen que exista una compatibilidad HLA completa y conllevan el riesgo de una enfermedad de injerto contra huésped (EICH). Las células progenitoras de la sangre del cordón umbilical están menos diferenciadas que las células progenitoras adultas, son inmaduras desde el punto de vista inmunológico y tienen una menor tendencia a provocar una EICH. La inmadurez inmunológica de estas células también implica que no se requiere una compatibilidad HLA perfecta.



**Fig. 9.11** Mecanismo de ARN de interferencia. Al entrar en la célula, los ARNbc son procesados por la enzima «dicer» (una ARNasa III), lo que da lugar a ARNsi. El ARNsi se incorpora al RISC, que escinde el ARNsi y descarta la cadena pasajera (directa). La cadena complementaria del ARNsi dirige el RISC a su secuencia de ARNm homóloga, lo que da lugar a la escisión endonucleolítica del ARNm diana. ARNsi, ARN de interferencia corto; RISC, complejo silenciador inductor de ARN.



## ASPECTOS ÉTICOS EN GENÉTICA MÉDICA

La disciplina de la genética suscita un debate ético tal vez distinto al de cualquier otra especialidad, pues el balance de lo que se podría hacer se contrarresta con el de lo que se debería hacer. Los avances de la tecnología moderna nos permiten en la actualidad cruzar la frontera que separa lo que suele considerarse como aceptable desde los puntos de vista ético y moral.

### Ética médica y sus principios

Los principios éticos son los objetivos más frecuentes que la teoría ética trata de lograr con el fin de tener éxito. En la ética médica hay cuatro principios básicos:

1. El principio de beneficencia: se debe intentar ofrecer un beneficio al paciente.
2. El principio de no maleficencia: se debe intentar no causar perjuicios al paciente de forma global.
3. El principio de justicia: incorporación de la imparcialidad y equitatividad en el contexto de los recursos disponibles, igualdad de acceso y de oportunidad.
4. Respeto de la autonomía de los pacientes: debe tenerse en cuenta el respeto de la persona y sus decisiones, así como destacar la relevancia de decir la verdad, el consentimiento informado y la confidencialidad.

### Genética

Debido en parte a los horrores de la segunda guerra mundial y de la idea nazi de la supremacía genética, la genética y la ética se han visto contrapuestas en parte, debido al miedo del fantasma de la eugenesia. Los dilemas éticos que se encuentran en el campo de la genética médica destacan la relevancia del consejo genético (v. págs. 187-190) y engloban aspectos referentes a:

- Realización de pruebas en pacientes presintomáticos y de susceptibilidad.
- Realización de pruebas en niños y adolescentes.
- Diagnóstico preimplantación.
- Diagnóstico prenatal y aborto terapéutico.
- Pruebas genéticas para rasgos no patológicos.
- Protección de datos y propiedad de los datos genéticos.

### Realización de pruebas en pacientes presintomáticos y de susceptibilidad

Las personas con un riesgo conocido de tener una enfermedad genética, sobre todo aquellas de inicio tardío, pueden someterse a pruebas de susceptibilidad para determinar si han heredado mutaciones relevantes antes de que desarrollen los síntomas clínicos del trastorno. La utilidad de estas pruebas depende de la evolución de la enfermedad y de la disponibilidad de un tratamiento, así como de la respuesta personal al resultado.

Para las enfermedades que no tienen una penetrancia completa, una de las limitaciones más serias de las pruebas de susceptibilidad es su interpretación. Un resultado positivo sólo indica la existencia de un riesgo y no significa que la persona desarrolle de forma definitiva la enfermedad para la que porta la mutación asociada.

### Cánceres familiares

En el caso de los cánceres familiares, un resultado positivo de una mutación en los genes causales modifica la frecuencia con la que se realiza la detección selectiva, para permitir que los cambios oncológicos se detecten antes, lo que mejora el pronóstico. También hace posible que cada persona se plantee las opciones quirúrgicas, como la mastectomía en el caso del cáncer de mama familiar.

### Enfermedad de Huntington

En la actualidad, no existe un tratamiento eficaz para detener la progresión de la enfermedad de Huntington. Sin embargo, el diagnóstico definitivo puede permitir a los pacientes tomar ciertas decisiones de vida, como no tener hijos o estudiar un diagnóstico preimplantación (v. después) antes de crear una familia. Otras personas simplemente prefieren no tener esta información.

Un paciente tiene la enfermedad de Huntington. Su nieta está pensando en tener hijos y quiere hacerse la prueba para averiguar si está afectada antes de tomar esta decisión. Su padre (el hijo del paciente afectado) no quiere hacerse la prueba ni saber su estado respecto a la enfermedad. Esta situación suscita el problema de la prueba «por poderes». Si la nieta se somete a la prueba y ésta resulta positiva, implicaría que su padre también es positivo y que es probable que desarrolle la enfermedad antes que ella. Resulta difícil ocultar estos resultados a los familiares inmediatos y la asistencia de la paciente a la consulta de consejo genético, o su decisión repentina de no tener hijos, o incluso de ser esterilizada puede crear una tensión familiar grave.

Realización de pruebas en niños y adolescentes

Los problemas que rodean a las pruebas en niños son, en parte, los mismos que los de los adultos, como la utilidad de la prueba a la hora de guiar las opciones terapéuticas frente a la identificación de la enfermedad autosómica dominante para la que no existen tratamientos conocidos. Aunque lo primero tiene unos beneficios muy claros para el niño, lo último constituye una violación clara de la futura autonomía del niño. Por ejemplo, en el caso de un niño con una mutación del gen de la poliposis adenomatosa del colon (*APC*), está indicado realizar la detección selectiva del cáncer de colon mediante sigmoidoscopia o colonoscopia flexible desde los 10 años de edad y puede salvar la vida del paciente. En el caso de enfermedades autosómicas mortales de inicio en la edad adulta, el diagnóstico a una edad infantil puede tener un gran impacto psicológico y provoca la estigmatización del paciente.

Diagnóstico preimplantación

El diagnóstico genético preimplantación (DGP) se usa para diagnosticar una enfermedad genética o cromosómica grave en un embrión fecundado in vitro con el fin de evitar el inicio de un embarazo con un embrión afectado. El uso del DGP ha suscitado cuestiones sobre el uso de la selección genética, el poder social de la información genética y la devaluación de la vida humana basada sólo en los genes. En Reino Unido, la Human Fertilisation and Embryology Authority determina qué enfermedades pueden identificarse y cuáles no mediante DGP (fig. 9.12). El DGP también permite identificar a un embrión que puede servir como fuente de tejidos compatibles para un hijo enfermo (el denominado «hermano salvador»). No existe una lista preestablecida de las enfermedades para las que está permitida la creación de un hermano salvador y cada familia debe solicitarlo de forma individual para que se le autorice el proceso, que consiste en una revisión de

Fig. 9.12 Algunas de las enfermedades para las que la HFEA ha autorizado el DGP.

Fig. 9.12 Algunas de las enfermedades para las que la HFEA ha autorizado el DGP

| Autosómicas dominantes |                                                                      |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------|
|                        | Charcot-Marie-Tooth                                                  |
|                        | Síndrome de Crouzon                                                  |
|                        | Enfermedad de Huntington                                             |
|                        | Distrofia miotónica                                                  |
|                        | Neurofibromatosis de tipo II                                         |
|                        | Osteogénesis imperfecta                                              |
| Autosómicas recesivas  |                                                                      |
|                        | Hipoacusia neurosensorial no sindrómica autosómica recesiva          |
|                        | $\beta$ -talasemia                                                   |
|                        | Fibrosis quística                                                    |
|                        | Síndrome de displasia ectodérmica asociado a la placofilina 1 (PKP1) |
|                        | Drepanocitosis                                                       |
|                        | Atrofia muscular espinal, tipos I, II y III                          |
| Ligadas a X            |                                                                      |
|                        | Adrenoleucodistrofia                                                 |
|                        | Distrofia muscular de Duchenne                                       |
|                        | Enfermedad de Fabry                                                  |
|                        | Síndrome del X frágil                                                |
|                        | Hemofilia A y B                                                      |
|                        | Hipogammaglobulinemia                                                |
| Mitocondrial           |                                                                      |
|                        | Miopatías mitocondriales                                             |

las implicaciones psicológicas y emocionales para cada niño individual y sus familias.

Diagnóstico prenatal y aborto terapéutico

El diagnóstico prenatal permite la detección de anomalías congénitas estructurales y genéticas. Hace posible obtener información que puede influir en:

- El planteamiento del resto del embarazo, incluida la planificación de las posibles complicaciones con el parto.
- La estrategia para afrontar los problemas que puedan plantearse en el lactante recién nacido.
- La decisión de si se continúa o no el embarazo.
- La decisión de si se tienen o no más hijos en el futuro.

Los aspectos éticos del diagnóstico prenatal engloban:

- Quién debería someterse a detección selectiva y cuál es el umbral de detección que requiere la realización de pruebas diagnósticas.
- Consentimiento informado: ¿puede una persona comprender en realidad las implicaciones de todas y cada una de las enfermedades que pueden detectarse antes de otorgar el consentimiento?

- El riesgo intrínseco de aborto asociado a la toma de muestras mediante biopsia de vellosidades coriónicas o amniocentesis.
- La precisión de la prueba tanto en términos de especificidad como de sensibilidad.
- Cuándo considerar el aborto y qué constituye un defecto «grave».



En Reino Unido, el aborto está permitido hasta las 24 semanas de gestación, margen que puede ampliarse después de esas 24 semanas si el feto tiene una enfermedad mortal, si hay un riesgo sustancial de que el niño nazca con una discapacidad grave o si existe un riesgo para la vida o la salud física y mental de la madre.

- El impacto psicológico de tener que tomar una decisión de «vida o muerte» respecto a un hijo no nacido.
- La erradicación de la enfermedad de la población mediante «eugenesia de detección selectiva» y la devaluación de la vida humana.

Fig. 9.13 Protección de datos y propiedad de los datos genéticos

| Problema                                                       | Ejemplos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Uso inadecuado de los resultados de las pruebas                | La provisión de seguros sanitarios puede verse limitada si las pruebas genéticas demuestran que una persona tiene una predisposición a un problema crónico de salud y una menor esperanza de vida. Potencial de crear una subclase genética.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Mutaciones raras con posibilidad de identificar a las personas | La revelación de datos pertenecientes a mutaciones y enfermedades muy raras puede vulnerar el derecho del paciente a la confidencialidad.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Intimidad de la información genética                           | ¿Quién debería tener acceso y en qué medida deberían compartirse los datos genéticos tanto en el ámbito académico como industrial?                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Propiedad de los genes y los cromosomas                        | ¿Es posible patentar la propia vida?<br>La investigación biomédica es cara y las compañías comerciales y sus accionistas esperan recuperar su inversión. Algunos han tenido éxito en este campo, «vendiendo» genes a grandes compañías farmacéuticas por cientos de millones de dólares.<br>Los documentos como la Declaración Universal del Genoma Humano y la de los Derechos Humanos, aunque no tienen una base legal, pretenden fomentar los beneficios de una conducta altruista en relación con los datos genéticos. Un principio fundamental del Proyecto Genoma Humano es que los resultados de la secuenciación deberían pasar al dominio público a las 24 horas de haberse obtenido. |

Fig. 9.13 Protección de datos y propiedad de los datos genéticos.

## Pruebas genéticas para rasgos no patológicos

La posibilidad de realizar la detección selectiva de enfermedades mortales y que limitan la esperanza de vida, así como la culminación del mapeo del genoma humano, también abre la puerta a la detección de rasgos no patológicos, como el sexo, el color de los ojos y del pelo, la resistencia deportiva y el CI. Se suele asumir de forma automática que se erradicarán algunos fenotipos en un deseo de perfección genética. Sin embargo, estas pruebas también permitirán la selección de mutaciones asociadas con

enfermedades y discapacidades, como la selección positiva de hipoacusia, ceguera y enanismo. Estas decisiones suelen estar profundamente arraigadas en la cultura y suscitan un intenso debate entre los derechos de los niños no nacidos frente a los deseos de sus progenitores.

## Protección de datos y propiedad de los datos genéticos

En la [figura 9.13](#) se ofrecen ejemplos de las preocupaciones que suscitan la elaboración, protección y propiedad de los datos genéticos.

## A

- aborto terapéutico 197
- acetilación de proteínas 115
- aciclovir 20
- ácido ascórbico 90
- ácido gamma-aminobutírico 77
- ácido glucurónico 90
- ácido hialurónico 69, 89
- ácidos de azúcar 90
- ácidos grasos 86
- ácidos nucleicos 92–6
  - técnicas de aislamiento/ preparación 130–1
- acondroplasia 158
- actina 29, 53, 54, 56, 57, 62, 68
  - isoformas 54
  - transición gel-sol 54, 58
- activador de la D-aminoácido oxidasa 167
- adenina 93, 94
- adenosina 90
- adenovirus 19, 150, 192
- adipocitos 70
- ADN 91, 92, 93
  - alquiltransferasas 124
  - bucles 97
  - diagnóstico 147–8
  - doble hélice 94
  - empaquetamiento 96, 97, 101
  - girasa 16
  - glucosilasas 124
  - helicasa 8, 125
  - informática 148
  - inmunotransferencia de Southern 134–5, 136
  - lesión 122–3
  - ligasa 8, 9, 125, 126, 143
  - marcadores polimórficos 144
  - mecanismo de transferencia bacteriana 6–7
    - resistencia a antibióticos 17–18
  - mitocondrial 27, 110–11, 163
    - código genético 111
  - no codificante 100
  - núcleo eucariota 96
  - polimerasas 7, 8, 9, 125, 126
    - eucariotas 102, 103, 104
  - objetivos de los fármacos antivirales 20
  - superenrollado 97
  - topoisomerasa 9, 16
  - unión a histonas 97
  - v. *también* genes
- ADNasa I 97, 101
- adolescentes, pruebas genéticas 196
- adrenoleucodistrofia ligada al X 28
- agentes antimicrobianos 14–18
  - sitios de acción 16
- agonistas 51
- alanina 73, 75
- alcohol deshidrogenasa 84
- alcoholes de azúcar 90
- $\alpha$ -actinina 54
- $\alpha$ -amanitina 105
- $\alpha$ -fetoproteína sérica materna 186
- $\alpha$ -hélice, estructura secundaria de las proteínas 78, 79, 81
- $\alpha$ -queratina 81
- $\alpha_1$  antitripsina (deficiencia) 156, 192
- alopecia 158
- altura 164
- amantadina 20
- aminoácidos 73–7
  - clasificación por tipo de grupo lateral 75–6
  - código genético 109
  - enlaces cruzados 74
  - esenciales 73
  - estructura 73, 74
  - ionización 74, 77
  - modificación covalente del grupo lateral 74
  - no-esencial 73
  - no-proteico 77
  - propiedades 74
  - semiesenciales 73
  - solubilidad 74
  - tamaño 74
  - tampones 77
- aminoacil transferasas 12
- aminoazúcares 90
- AMP cíclico 47, 48
- amplificación 168
  - dependiente de ligasa de múltiples sondas 140–1
- anafase 119, 120, 121
- análisis de árboles genealógicos 146–7, 190
  - evaluación del riesgo 188
- análisis de heterodúplex 147
- análisis de ligamiento 145–6
  - detección de portadores 185
- estudios familiares 146
  - genético 145–6
- análisis de polimorfismos de conformación
  - monocatenaria 147



análisis de sangre puntual 185  
 anemia de Fanconi 178  
 aneuploidía 142  
 anfóteros 74, 77  
 anquirina 37, 56  
 antagonistas 51  
 antibióticos 14–15  
 antibióticos bacteriostáticos 15  
 anticipación 155, 158, 162  
 antígeno nuclear de células proliferantes (PCNA) 103, 104  
 antimetabolitos 17  
 antiportadores 41, 42  
 antitrombina III 90  
 antitrombóticos 90  
 aparato de Golgi 26, 28, 68, 114  
 apoptosis 27, 118  
   genes reguladores 118  
 árboles genealógicos 156  
   símbolos 157  
 arginina 73, 76  
 ARN 91, 92, 93, 94–6  
   de interferencia 193  
   de transferencia (ARNt) 95  
     en la síntesis proteica 109, 110  
     estructura secundaria 95, 96  
     procariotas 11, 12, 13  
   heteronuclear (ARNhn) 95, 107, 108  
   inmunotransferencia de Northern 134  
   mensajero (ARNm)  
     clonación funcional 147  
     eucariotas 95  
     poliadenilación 100  
     procariotas 11, 12  
     traducción 109–13  
   no codificante (ARNnc) 100  
   polimerasa 7, 10, 11, 105  
     objetivos de los fármacos antimicrobianos 16  
     objetivos de los fármacos antivirales 20  
   polimerasa I 105  
   polimerasa II 105, 106, 107  
   polimerasa III 105  
   ribosómico (ARNr) 25, 95  
     modificación postranscripcional 11  
 arritmias cardíacas 45  
 artritis reumatoide 166, 167  
 asma 167  
 asparagina 73, 76  
 aspartato 73, 75  
 aspectos éticos  
   consejo genético 190, 195  
   genética médica 195–8  
 ataxia de Friedrich 155  
 ataxia telangiectasia 171, 178  
 aterosclerosis 166  
 ATPasa dependiente de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> 40, 42, 45

autofagia 58  
 autonomía 195  
 autorradiografía 134  
 azidotimidina (AZT; zidovudina) 21, 85  
 azoospermia 162  
 azúcares pentosa 94

## B

bacilo 4  
 bacterias acidorresistentes 4  
 bacterias gramnegativas 4, 5, 16, 17  
 bacterias grampositivas 4, 16  
 bacterias helicoidales 4  
 banda 4.1 56  
 bandas G 139–40  
 bases de datos 129  
*BCL2* 118  
 beneficencia 195  
 benzilpenicilina 16  
 $\beta$  talasemia 82, 160  
 $\beta$ -1 integrinas 67  
 $\beta$ -2 integrinas 67  
 11 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa  
   de tipo 2 167  
 $\beta$ -lactamasas 17  
 $\beta$ -lactámicos 16  
 $\beta$ -queratinas 81  
 bicapa fosfolipídica 23, 33  
   permeabilidad 38  
 bioinformática 148–9  
 bivalentes 121  
 bomba de sodio 40, 42, 45  
 bombas iónicas 39, 40  
*BRCA1* 118, 126, 170, 171  
*BRCA2* 126, 170, 171  
 bucle en T 99

## C

cadherinas 37, 64, 65–6  
 caja CAAT 100  
 caja GC 100  
 caja TATA 100, 105  
 cálculo de la frecuencia alélica 182  
 calmodulina 56  
 canales controlados por químicos 42  
 canales controlados por voltaje 42  
 canales de potasio 41  
 canales iónicos 39, 40, 41  
   controlados 40, 41, 42  
   controlados por ligando 46  
 cáncer 148, 167–72  
   anogenital 20  
   ciclo celular/cambios de expresión génica 117–18  
   de cérvix 20  
   de colon hereditario no poliposo (síndrome de Lynch) 171

- de mama familiar 126, 158, 170–1
  - pruebas de susceptibilidad 195
- de ovario familiar 158
- defectos de reparación del ADN 123
- familiares, pruebas de susceptibilidad 195
- mutaciones génicas 118
- síndromes genéticos 171–2
- susceptibilidad heredada 169
- vesical 168
  - v. *también* tumores
- capside 18
- capícula (glucocáliz) 4, 5
- carcinogénesis 168
- cardiopatías congénitas 164, 192
- cariotipo 139
  - espectral 140
- caspasas 118
- catecol-O-metiltransferasa 167
- cateninas 65
- CD18 ( $\beta$ -2 integrina) 67, 68
- CD29 67
- cebadores, reacción en cadena de la polimerasa 132
- cefalosporinas 16
- ceftazidima 16
- cefuroxima 16
- celobiosa 88
- células
  - adhesión 61–71
  - diferenciación 31
  - diploides 118, 119
  - especialización 29–31
  - eucariótica 23
  - haploides 118, 120, 121
  - Hfr 7
  - interacción 61–71, 117
  - memoria 31
  - musculares lisas 70
  - procariótica 3–6, 24
  - tumorales 66
  - uniones 61–4
- celulosa 89
- centimorgan 143
- centríolo 23, 26, 29, 119
- centrómero 58, 98, 119
- ciclinas 116, 117
- ciclo celular 115–18
  - en el cáncer 117–18
  - fases 115–16
  - parada 139
  - puntos de control 117, 118
  - regulación 116–17
- cigoteno 121
- cigoto 31
- cilios 26, 29, 57
- cinasas dependientes de ciclina 116–17
- cinesina 56, 57
- cinética de Michaelis-Menton
  - difusión facilitada 39
  - reacciones catalizadas por enzimas 84–5
- cinetocoro 98–9, 119
- CIP/KIP 117
- ciprofloxacino 15
- cisteína 73, 76
- citocinesis 119
- citocromo P450 3A (CPY3A) 113
- citocromos P450 27
- citoesqueleto 29, 53–8
  - componentes 54–6
  - funciones 53, 56–8
  - procariotas 4
  - uniones de anclaje 62
- citogenética 139–42, 148
- citomegalovirus 19, 21
- citosina 93, 94
- claudinas 61
- clonación del ADN 142–3
  - técnicas 143
  - vectores 142
- clonación funcional 147
- clonación posicional 144
- cloranfenicol acetil transferasas 17
- cocos 4
- código genético 109–10, 111
  - mitocondrial 111
- codones 109, 110
  - de terminación 110, 112, 113
  - emparejamiento con anticodones 109, 110
- coenzimas 82, 84
- cofactores 82
- colágeno 69
  - estructura helicoidal 82
  - fibrilar 69
  - no fibrilar 69
  - síntesis 25, 27, 28
- colchicina 139
- colesterol 34
- complejo de iniciación 10
- complejo de unión 61
  - a la cubierta 107
- complejo del antígeno leucocítico humano (HLA) 101–2, 167
- complejo principal de histocompatibilidad (MHC)
  - v. complejo del antígeno leucocítico humano (HLA)
- complementación, genética 160
- condensación de los cromosomas 116, 117, 119
- condrocitos 70, 71
- condroitinsulfato 69, 89
- conexinas 63
- conexones 63, 64
- confidencialidad 190
- conjugación 6–7, 18

consanguinidad 160, 183, 188, 190  
 consejo genético 184, 188–90  
     aspectos éticos 190, 195  
     confidencialidad 190  
     consulta 190  
     discusión de las opciones 189  
     establecimiento del diagnóstico 188, 190  
     presentación de riesgos 188–9  
     realización de la historia 190  
 contracción cardíaca 64  
 contracción muscular 57  
 coordinación del epitelio ciliado 64  
 corrección quirúrgica 192  
 corte y empalme 108–9  
     alternativo 149  
 creatina 77  
 creatina cinasa 83  
 criterios de Wilson-Jungner 185  
 cromátidas 97–8, 119, 120  
     entrecruzamiento meiótico 121  
 cromatina 92, 96–7  
     activa 101  
     metilación 101, 102  
 cromosomas 58, 96, 97  
     acrocéntricos 98, 99  
     bacterianos (nucleoide) 4  
     brazo corto (p) 98  
     brazo largo (q) 98  
     citogenética 139–42  
     empaquetamiento del ADN  
         96, 97, 101  
     en anillo 173, 179  
     metacéntricos 98, 99  
     segregación independiente de homólogos 121  
     submetacéntricos 98, 99  
     telómeros 99–100  
     tipos morfológicos 98, 99  
     Y 162  
 cubierta 5' 107  
 cuerpos polares 121

## D

DAZ (deleción en la azoospermia) 162  
 dedos de zinc 81  
 defectos del tubo neural 164, 186, 190  
 deficiencia de adhesión leucocítica de tipo 1 (LAD1) 68  
 deficiencia de  $\beta$ -glucosidasa (enfermedad de Gaucher) 60–1  
 deficiencia de glucosa-6-fosfato  
     deshidrogenasa 161, 192  
 deficiencia de hipoxantina guanina fosforribosil transferasa 94  
 deficiencia de la cadena  $\alpha$  de la hexosaminidasa A (enfermedad de Tay-Sachs) 61, 181, 186  
 deficiencia de manosa-6-fosfato  
     glucosiltransferasa 114

deleciones 123, 140, 141, 148, 154, 155, 173, 179  
 demecolcina 139  
 depresiones recubiertas por clatrina 59  
 deriva genética 183  
 dermatansulfato 69  
 dermatoglifos 164  
 deshidrogenasa dependiente del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) 81, 84  
 desmina 55  
 desmogleínas 62, 63  
 desmosomas 62  
 desoxiadenosina 90  
 desoxiazúcares 90  
 desoxirribosa 90, 92  
 desoxitimidina 90  
 despolarización 45  
 detección de portadores 184–7  
     métodos 185  
 detección precoz «en cascada» 187  
 detección selectiva de poblaciones 184–7  
     criterios 185  
     detección precoz «en cascada» 187  
     poblaciones «de riesgo» 185–6  
     pruebas prenatales 186  
     v. *también* pruebas genéticas  
 diabetes mellitus 164  
     tipo 1 167, 192, 193  
     tipo 2 148  
 diacinesis 121  
 diagnóstico genético preimplantación 196  
 diagnóstico prenatal 184  
     aspectos éticos 195–7  
 didanosina 21  
 difenilhidantoína (fenitoína) 113  
 diferencia de potencial electroquímico de los iones 43  
 difusión 38  
     facilitada 39–40, 41  
     fosfolípidos de membrana 37  
     pasiva (simple) 39, 41  
 dineína 29, 56, 57  
 diploteno 121  
 disacáridos 87, 88  
 disbindina 167  
 disociación iónica 38  
 disomía uniparental 163  
 distribución iónica a través de la membrana plasmática 39  
 distrofia miotónica 162  
 distrofia muscular de Duchenne 161  
 distrofina 161  
 división celular 56, 118  
     v. *también* meiosis; mitosis  
 división de tipo reducción 121  
 drepanocitosis 82, 147, 155, 160, 183, 185  
 duplicación 101, 154, 173, 179

**E**

- E2F 117
- E-CAD (CDH1) 65
- EcoR1 130
- ecuación de Henderson-Hasselbalch 77
- ecuación de Nernst 43–4
- efavirenz 21
- efecto de fundador 183, 184
- elastina 70, 80
- electroforesis, fragmentos de ADN 130–1
- electroforesis en gel 130–1
  - de campo pulsado 131
- elemento sensible a hormonas (HRE) 50
- elementos transponibles 17–18
- emparejamiento aleatorio 182, 183
- emparejamiento anticodón-codón 109, 110
- encefalopatías espongiiformes transmisibles 81
- endocitosis 23, 58
  - mediada por receptor 58, 59, 60
- endonucleasas 130
- endorreplicación (endomitosis) 122
- energía de activación 83
- enfermedad cardiovascular 27, 148, 166
- enfermedad de Alzheimer 27, 167
- enfermedad de células I (mucopolidosis de tipo II) 114
- enfermedad de Charcot-Marie-Tooth 158, 162
- enfermedad de Danon 60
- enfermedad de Fabry 60, 161
- enfermedad de Gaucher 60–1, 192
- enfermedad de Hunter 60
- enfermedad de Huntington 144, 158, 162, 188
  - pruebas presintomáticas 195
- enfermedad de Niemann-Pick 34
- enfermedad de Parkinson 193
- enfermedad de Tay-Sachs 61, 181, 186
- enfermedad de Wilson 192
- enfermedad mixta del tejido conjuntivo 108
- enfermedad priónica 81
- enfermedades autoinmunitarias 108
- enfermedades autosómicas dominantes 184
  - evaluación del riesgo en el árbol genealógico 188
  - herencia 156, 157–8
- enfermedades autosómicas recesivas
  - cálculo de la frecuencia alélica 182
  - complementación 160
  - detección de portadores 184–7
  - evaluación del riesgo en el árbol genealógico 188
  - herencia 156, 159–60
  - portadores 159, 188
- enfermedades congénitas 174
- enfermedades cromosómicas 123, 173–80
  - estructurales 173, 178–80
  - nomenclatura 173
  - numéricas 173–7
- enfermedades genéticas 153–80
  - consejo genético 188–90
  - estudios familiares/análisis de árboles
    - genealógicos 146–7
  - evaluación del riesgo 187–8
  - fuentes de información 182
  - identificación de genes 144–8
    - clonación del ADN 142–3
  - limitadas por el sexo 158
  - mapeo génico 143–4
  - monogénicas 156–62
  - multifactoriales 164–7
    - modelo de umbral 165–6
    - riesgos de recurrencia 166
  - presentaciones comunes 191
  - tratamiento 192–4
- enfermedades inmunoampollosas 63
- enfermedades ligadas al cromosoma X
  - dominantes 156, 160–1
  - herencia 160–1
  - recesivas 156, 161
    - evaluación del riesgo en el árbol genealógico 188
- enfermedades monogénicas 156–62
  - herencia mendeliana 156–62
  - herencia no mendeliana 162–4
  - heterogeneidad 162
- enfermedades por almacenamiento lisosómico 34, 59–61, 114
- enfisema 156, 192
- enlaces de hidrógeno 74, 78, 79, 81
- enlaces electrovalentes (iónicos) 74, 78, 79
- enlaces fosfodiéster 92, 97
- enlaces glucosídicos 87, 89
- enlaces iónicos 74, 78, 79
- enlaces peptídicos 73, 78
- enlaces/hibridaciones hidrófobas 74, 78, 79
- entrecruzamientos (quiasmas) 121, 145
- envejecimiento 105, 123
- envuelta, viral 18
- envuelta nuclear 91, 119
- enzimas 82–6
  - cinética 84–6
  - constitutivas 113
  - de restricción 130
  - enfermedades autosómicas recesivas 160
  - hepáticas del metabolismo de fármacos 113
  - inducibles 113
  - inhibidores 85–6
  - isoformas (isoenzimas) 83
  - lisosómicas 58
  - mecanismo catalítico 83
  - modificadoras de aminoglucósidos 17
  - propiedades 82–3
  - regulación de la actividad 84
  - represibles 113
  - sitios activos 83–4
  - suicidas 124
  - sustratos (ligandos) 83

- ul style="list-style-type: none;">
- enzimas (*cont.*)
  - terapia de reposición 192
  - velocidades de reacción 83, 84–5
- epilepsia 164
- equilibrio de Gibbs-Donnan 44
- equilibrio de Hardy-Weinberg 181–2
  - factores que influyen en él 182–4
- eritrocitos 56
- eritromicina 16, 113
- errores congénitos del metabolismo, diagnóstico
  - prenatal/presintomático 185
- Escherichia coli*
  - endonucleasa EcoR1 130
  - polimerasa de ARN 10
  - replicación del ADN 7, 8–9
- escisión, activación proteica 115
- esclerosis tuberosa 158
- E-selectina 66, 67
- esferocitosis hereditaria 56
- esfingomielina 34, 35
- especificidad farmacológica 51
- espectrina 56
- espermatogénesis 122
- espliceosoma 108
- esquizofrenia 164, 166, 167
- estenosis pilórica 164, 166, 192
- estradiol no conjugado (uE3) 186
- estructura secundaria de las proteínas en hoja
  - plegada  $\beta$  78, 79, 81
- estudios en gemelos 164
- eucariotas
  - células 23, 24
    - comparación con procariotas 24
  - genes 100–2
  - modificación postranscripcional 107–9
  - organelas 23–31
  - regulación de la expresión génica 113
  - replicación del ADN 102–5
    - comparación con procariotas 104
  - síntesis proteica 111–13
  - traducción 109–13
    - comparación con procariotas 112
  - transcripción 105–9
    - comparación con procariotas 110
- euromatina 97, 102
- evaluación del riesgo 187–8
  - enfermedades genéticas multifactoriales 166
  - información a partir del árbol genealógico 188
- evolución, cambios genéticos 101–2
- exones 100, 108, 109
- exonucleasas 100
- expansiones por repetición de trinucleótidos 138, 148, 154–5, 156, 162
- expresión constitutiva 14
- expresión génica
  - efectos de las mutaciones 123
  - en el cáncer 117–18
  - inmunotransferencia de Northern 134
  - reacción en cadena de la polimerasa/transcriptasa
    - inversa 134
  - regulación 109, 113
    - procariotas 14
- expresión inducida 14
- expresividad 158
- extremos cohesivos 130, 143
- extremos romos, fragmentos de los ácidos nucleicos 130
- F**
- factor C de replicación (RFC) 104
  - factor de necrosis tumoral 102
  - factor promotor de la maduración 117
  - factor  $\rho$  (p) 11
  - factor sigma ( $\sigma$ ) 10
  - factor-1 de crecimiento similar a la insulina 48
  - factores ambientales 164, 166
  - factores de crecimiento 117
  - factores de elongación 13, 112
  - factores de iniciación 12, 13
  - factores de transactivación 107
  - factores de transcripción 46, 51, 81, 106
  - factores F 6, 7
  - factores liberadores
    - eucariotas (eRF) 112, 113
    - procariotas 13
  - factores que actúan en *cis* 105, 107
  - factores que actúan en *trans* 105, 107
  - fagocitos 58
  - fagocitosis 58
  - familias multigénicas 101
  - fase  $G_0$  116
  - fase  $G_1$  115
    - punto de restricción 117, 118
  - fase  $G_2$  115
  - fase M 116
  - fase S 102, 115
  - fenilalanina 73, 75
  - fenilalanina hidroxilasa 160
  - fenilcetonuria 147, 160, 185, 192
  - fenómeno de Lyon (inactivación del cromosoma X)
    - 161, 164
  - fibrilina 70, 156
  - fibrinógeno 68
  - fibroblastos 71
  - fibronectina 68, 70
  - fibrosis quística 41, 144, 181, 186
    - heterogeneidad alélica 162
    - terapia génica 151
  - filamentos intermedios 29, 53, 55–6, 92
    - sitios de anclaje 62
  - filamina 54
  - fimbrina 54
  - flagelos 5, 29



flipasa 37  
 fluoxetina 113  
 fodrina 54  
 Fos 118  
 foscarnet 21  
 fosfatidilcolina 34, 35  
 fosfatidiletanolamina 34, 35  
 fosfatidilserina 34, 35, 37  
 fosfofructocinasa I 86  
 fosfolípidos 34, 35  
   movilidad 37  
 fosforilación 115, 116, 117  
 fracción de recombinación 145, 146  
 fragmentos de Okazaki 8, 9, 102, 103, 104  
 FtsZ 4  
 fucosa 90  
 fuentes de información en Internet 129  
 fuerzas de van der Waals 79–80

## G

galactosamina 90  
 gametogénesis 118, 121  
 GAP 118  
 gelsolina 54  
 genes 100–2  
   APC 168, 171, 196  
   candidatos 147  
   constitutivos 113  
   corte y empalme 108–9  
   estructurales 14  
   eucarióticos 100–2  
   evolución 101–2  
   reguladores 14  
   secuencias 3' 100–1  
   supresores de tumores 118, 168, 170  
     en cánceres hereditarios 169  
   técnicas moleculares 129–42  
 genética 195  
   de poblaciones 181–4  
   inversa v. clonación posicional  
 genómica 148  
 glicina 73, 75, 77, 82  
 glucocálix (cápsula) 4, 5  
 glucógeno 86, 89  
 glucólisis 86  
 glucopéptidos 16  
 glucoproteínas 69  
 glucosamina 90  
 glucosaminoglucanos 68, 69, 89  
 glucosilación de proteínas 114–15  
 glucosiltransferasas 68, 114  
 glutamato 73, 76  
 glutamina 73, 76  
 GMP-140. v. P-selectina  
 gonadotropinas humanas 186  
 gota 94  
 gradiente electroquímico 39, 40  
 gradientes de morfógenos 64  
 gráfico de Lineweaver-Burk 85  
 grupos de ligamiento 142  
 grupos hemo 82, 84  
 grupos prostéticos 82, 84  
 guanina 93, 94

## H

haploinsuficiencia 156, 158  
 haplotipo 102  
 hemidesmosomas 62  
 hemocromatosis 160  
 hemofilia A 154, 161, 192  
 hemoglobina 82, 84  
 hemoglobinopatías 82, 185  
 heparansulfato 69  
 heparina 69, 90  
 hepatitis A 19  
 hepatitis B 19  
 hepatitis C 19  
 heredabilidad 166  
 herencia horizontal 159  
 herencia ligada al Y/holándrica 156, 162  
 herencia mendeliana 156–62  
   autosómica dominante 157–8  
   autosómica recesiva 159–60  
   ligada al X 160–1  
   ligada al Y 162  
 herencia mitocondrial 163–4  
 herencia no mendeliana 162–4  
 herencia poligénica 164–7  
 herencia vertical 157  
 hermano salvador 196  
 herpes virus 19, 21  
 heterocromatina 92, 97, 102  
 heterofagia 58  
 heterogeneidad alélica 162  
 heterogeneidad de locus 162  
 heterogeneidad genética 162  
 heteropolisacáridos 87, 89  
 hibridación con fluorescencia in situ (FISH) 140  
 hibridación genómica comparativa 140  
 hibridación in situ con fluorescencia  
   múltiple (M-FISH) 140  
 hidratos de carbono 86–90  
   derivados de azúcares 90  
 hidrolasas 83  
 hidroxilación de proteínas 115  
 hipercolesterolemia familiar 158  
 hiperpolarización 45  
 hiperpotasemia 45  
 hipertensión 164  
   esencial (primaria) 167  
 hipofosfatemia ligada al X (raquitismo dependiente del cromosoma X) 161

hipopotasemia 45  
 hipotiroidismo congénito 185  
 histidina 73, 76  
 histonas 92, 103  
     en la cromatina activa 101  
     fosforilación 116  
     octámeros 97  
     unión a ADN 97  
 homeostasis de los solutos séricos 38  
 homocisteína 77  
 homopolisacáridos 87, 89  
 hormonas 117  
     antidiurética 38  
 horquillas de replicación del ADN 8, 103  
 huellas dactilares de ADN 138, 190  
 Human Fertilisation and Embryology Authority 196  
 huso mitótico 23, 58, 98–9, 119, 121

## I

impronta 158, 162–3  
 inactivación del cromosoma X (fenómeno de Lyon)  
     161, 164  
 incesto 190  
 inductor angiogénico rico en cisteína 61, 167  
 infección por virus lisogénico 19  
 infección por virus lítico 19  
 infección viral persistente 20  
 informática de proteínas 149  
 inhibidores alostéricos 86  
 inhibidores competitivos 85, 86  
 inhibidores de la dihidrofolato reductasa 17  
 inhibidores de la función de la membrana celular 17  
 inhibidores de la neuraminidasa 21  
 inhibidores de la proteasa 21  
 inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos 16  
 inhibidores de la síntesis de la membrana celular 16  
 inhibidores de la transcriptasa inversa 21  
     análogos de nucleótidos (ITInt) 21  
     no nucleosídicos (ITINN) 21  
     nucleosídicos (ITIN) 21  
 inhibidores de las cinasas dependientes de ciclina 117  
 inhibidores no competitivos 85, 86  
 inhibina-A dimérica 186  
 iniciación  
     dependiente de cubierta 111  
     replicación del ADN 8–9  
     transcripción 10  
 INK4 117  
 inmunodeficiencia combinada grave (IDCG) 193  
 inmunotransferencia de Northern 134  
 inmunotransferencia de Southern 134–5, 136, 148  
     comparación con la reacción en cadena  
     de la polimerasa 134  
 inmunotransferencia de Western 134  
 inserciones 123, 140, 148, 154, 155  
 insulina 80, 82, 192

integrinas 64, 67–8  
     unión 68  
 integrones 17  
 inteligencia 164  
 interacciones fármaco-receptor 51  
 intercambio (*flip-flop*), componentes  
     de membrana 37, 38  
 interfase 116  
 International Standard Chromosome Nomenclature  
     (ISCN) 173  
 intolerancia a la lactosa 87, 156  
 intrones 100, 107, 108, 109  
     redistribución 101  
 inversiones 154, 173, 178  
 iones, diferencia de potencial electroquímico 43  
 iones calcio 27  
     vías de segundos mensajeros 47  
 iones potasio 45  
 iones sodio 45  
 isocromosoma 173, 179  
 isoenzimas 83  
 isoleucina 73, 75  
 isomaltosa 88  
 isomerasas 83

## J

justicia 195

## K

kanamicina 16

## L

labio leporino y fisura palatina 164, 166, 192  
 lactasa 87  
 lactato deshidrogenasa 83  
 lactosa 87, 88  
 laeverina 167  
 láminas 53, 55, 92  
     fosforilación 116  
 laminina 70  
 lectinas 66  
 lentivirus 150, 192  
 leptoteno 121  
 leucemia 193  
 leucina 73, 75  
 Lewis X 66  
     sialilado 66  
 ley de Hardy-Weinberg 181  
 LFA1 67  
 liasas 83  
 ligasas 83  
 limitación de sustratos 192  
 linfoma de Burkitt 168  
 lipidación de proteínas 115  
 lípidos, componentes de las membranas 33  
 lisina 73, 76

lisosomas 28, 58–61, 113, 115  
 definición 58  
 enzimas 58  
 funciones 58–9  
 lisozima 82  
 L-selectina 66  
 lupus eritematoso sistémico 108  
 luxación congénita de cadera 164–5  
 luz ultravioleta, lesión del ADN 123

## M

MAC1 67  
 malformaciones congénitas 164  
 maltosa 88  
 manitol 90  
 mapas de genes físicos 144  
 proyecto genoma humano 148  
 mapas genéticos 142–3, 145  
 mapeo genético 146  
 marcadores polimórficos 144  
 detección de portadores 185  
 estudios de familias/análisis de árboles  
 genealógicos 146  
 mastocitos 90  
 matriz extracelular 68–71  
 adhesión celular 61, 67  
 componentes 68  
 membrana basal 68  
 unión a integrina 68  
 uniones celulares 61, 62  
 matriz nuclear 92  
 mecanismos epigenéticos 109  
 megacariocitos 122  
 meiosis 118, 120–2  
 no disyunción 121, 173  
 recombinación 145, 146  
 membranas  
 asimetría 37  
 basal 68  
 celular. v. membranas, plasmática  
 componentes 33–8  
 movilidad 37–8  
 distribución iónica 39  
 fluidez 36–7  
 gradiente electroquímico 39, 40  
 modelo del mosaico fluido 33  
 naturaleza dinámica 33, 34  
 nuclear 121  
 permeabilidad 38  
 plasmática 23, 33–51  
 bombas iónicas 39, 40  
 componentes 33–8  
 distribución iónica 39  
 gradiente electroquímico 39, 40  
 modelo de mosaico fluido 33  
 naturaleza dinámica 33, 34  
 procariotas 3  
 transporte a través de la membrana 38–42  
 propiedades 36–8  
 semipermeable 38, 39  
 transporte 38–42  
 metabolómica 149  
 metafase 119, 120, 121, 139  
 metilación  
 cromatina 101, 102  
 defectos 101  
 metionina 73, 76  
 micoplasmas 4  
 microfilamentos 29, 53, 54  
 microsatélites 138, 144  
 microtúbulos 23, 29, 53, 56, 57, 58, 99  
 microvellosidades 29, 54, 57  
 del epitelio intestinal 57  
 migración 183–4  
 minisatélites 138  
 mioglobina 81  
 miosina 54, 56, 57  
 isoformas 56, 78  
 mitocondrias 23, 25, 27  
 efectos de los fármacos antimicrobianos 17  
 mitógenos 117  
 mitosis 23, 116, 118–20  
 modelo de mosaico fluido 33  
 modificación ambiental 192  
 modificación postraduccional 113–15  
 modificación postranscripcional  
 eucariotas 107–9  
 adición de cubierta 5' 107  
 corte y empalme 108–9  
 poliadenilación 108  
 procariotas 11  
 mola completa 162  
 mola hidatiforme 162  
 mola parcial 162  
 moléculas de adhesión 61, 64–8  
 celular endotelial plaquetaria (PECAM) 66  
 células neurales (NCAM) 66  
 intercelular (ICAM) 66, 67, 68  
 vascular (VCAM) 66, 67  
 monosacáridos 86–7  
 estructuras cíclicas 87  
 monosomías 140, 173  
 mosaicismo 164  
 MreB 4  
 mucopolipidosis de tipo II (enfermedad  
 de las células I) 114  
 mutaciones 123, 153–6  
 amorfas (nulas) 155  
 análisis de secuencias 147  
 antimorfas (negativas dominantes) 156, 158, 193  
 asociaciones con cáncer 118, 168  
 con ganancia de función 156, 158, 193

mutaciones (*cont.*)

- con pérdida de función (hipomorfas) 155–6
  - de aminoácidos 155
  - de interrupción 155
  - de marco de lectura 123, 155
  - del gen de la globina  $\beta$  155
  - del gen del receptor de LDL 158
  - detección de portadores 185
  - detección mediante reacción en cadena de la polimerasa 132, 148
  - efectos del equilibrio de Hardy-Weinberg 183
  - efectos estructurales sobre las proteínas 154, 155
  - efectos funcionales sobre las proteínas 155–6
  - hipermorfas 156
  - hipomorfas (con pérdida de función) 156
  - mecanismos 153–5
  - negativas dominantes (antimorfas) 156, 158, 193
  - neomorfas 156
  - nulas (amorfas) 155
  - por sustitución de tipo transición 154
  - por sustitución de tipo transversión 154
  - puntuales 123, 124, 153–4
    - activación de oncogenes 168
  - silentes 154, 155
- mutágenos 123
- químicos 117, 123
- Myc 118

**N**

- National Center for Biotechnology Information 129
- N-CAD (CDH2) 66
- nelfinavir 21
- neuroblastoma 168
- neurofilamentos 55
- neuropatía óptica hereditaria de Leber 164
- neurorregulina 1 167
- nevirapina 21
- niños, pruebas genéticas 196
- no disyunción 121, 173
- no maleficencia 195
- nocodazol 56
- núcleo 25, 27, 91–2
- nucleoide 4
- nucleolo 25, 27, 91
- nucleoproteínas 92
- nucleósidos 90, 92–3
- nucleosomas 97
- nucleótidos 92–3

**O**

- obesidad 164
- occludinas 61
- oligosacáridos 87
  - glucosilación de proteínas 114
- oncogenes 118, 168
- operón 14
- operón *lac* 14

- organelas 23–31
    - membranosas 23–8
    - no membranosas 28–9
    - procariotas 3–4
  - organismos pluricelulares 29–31
  - oseltamivir 21
  - osmolaridad plasmática 38
  - ósmosis 38
  - osteocitos 70, 71
  - osteogénesis imperfecta 67, 69, 82, 158
  - ovocitos 121
  - ovogénesis 121
  - oxidorreductasas 83
- P**
- p53 117, 118, 171
  - paludismo 183
  - paquitenio 121
  - parálisis periódica 41
  - pared celular 4
  - parotiditis 19
  - partículas ribonucleoproteínas nucleares pequeñas (snRNP) 108, 109
  - parvovirus B19 19
  - P-CAD (CDH2) 66
  - penetrancia 158, 190, 195
  - pénfigo 63
  - penicilamina 192
  - penicilinas 16
  - péptido natriurético auricular 38
  - péptido señal (secuencia conductora) 113–14
  - pérdida de heterocigosidad constitucional 169
  - periplasma 91
  - peristaltismo 64
  - peroxisomas 28
  - pili 5–6
  - pilus sexual 5, 6
  - pinocitosis 58
  - pinturas cromosómicas 140
  - pirimidinas 93
    - biosíntesis 94
    - vías de reciclaje 94
  - placa ecuatorial 119
  - plaquetas 122
  - plásmidos
    - análisis molecular 131, 132
    - factores F 6, 7
    - factores R 7
    - R 7
  - Pol II 106
  - poliadenilación 108
  - policistina 2 36
  - polimerasa Pfu 132
  - polimerasa Taq 132, 134
  - polimixinas 17
  - polimorfismos
    - análisis de secuencia de ADN 137–9

- de nucleótido único (SNP) 137–8, 144
  - proyecto genoma humano 148
  - repeticiones en tándem de número variable (VNTR) 138–9
- poliovirus 19
- polipéptidos 73, 78, 100
- poliploidía 174
- poliposis adenomatosa familiar del colon 158, 168, 171, 196
- poliquistosis renal autosómica dominante 36
- polisacáridos 87
- poros nucleares 27, 91
- potenciadores 100, 107, 109
- potencial de membrana 42–5
  - definición 42
  - mantenimiento 43–5
  - papel de los iones potasio 45
  - potencial en reposo 45
- presenilina 1 167
- presentación de antígenos 101
- presión arterial 164
- presión osmótica 38, 89
- principios éticos 195
- probabilidad 186, 188
  - ley de adición 188
  - ley de multiplicación 188
- probando 166
- procariotas
  - especializaciones celulares 4–6
  - estructura celular 3–6
    - comparación con eucariotas 24
  - mecanismos de transferencia de ADN 6–7
  - modificación postranscripcional 11
  - organelas 3–4
  - regulación génica 13–14
  - replicación del ADN 7, 8–9
    - comparación con eucariotas 104
  - traducción 12–13
    - comparación con eucariotas 112
  - transcripción 10–11
    - comparación con eucariotas 110
- profase 116, 119, 120–1
- Programa de detección neonatal 185
- Programa de detección selectiva de drepanocitosis y talasemia 185
- prolina 73, 75
- prometafase 119
- promotores 10, 14, 100
- protección de datos 198
- protección/propiedad de los datos genéticos 198
- proteínas 73, 78–82
  - A de replicación (RPA) 103
  - ácida gliofibrilar 55
  - asociadas a microtúbulos 56
  - citoplásmicas 115
  - complejos estructurales 82
  - componentes de la membrana 34, 36, 37, 39
    - movilidad 38
  - de membrana 115
  - de membrana periféricas 36
  - de puntos de control 116
  - de unión a la actina 54
  - del complemento 102
  - del retinoblastoma 157
    - fosforilación 116
  - desnaturalización 82
  - efectos de las mutaciones
    - estructurales 154, 155
    - funcionales 155–6
  - estabilidad 82
  - estructura
    - cuaternaria 78, 79
    - primaria 78, 80
    - secundaria 78, 79, 80
    - terciaria 78, 79, 80
  - estructuras en su interior 81–2
  - fibrosas 81
  - fuerzas que les dan forma 78–80
  - funciones 78
  - G 47, 48
  - globulares 74, 81
  - glucosilación 114–15
  - inmunotransferencia de Western 134
  - integrales de membrana 34, 36
  - interacciones de las cadenas laterales 80
  - isoformas 78
  - ligandos 78
  - modificación postraducciona 113–15
  - plegado 80–1
  - precursora de amiloide 167
  - proteoma humano 149
  - receptoras 39, 46
  - secretadas 115
  - transportadoras 39, 41–2
- proteincinasa C 37
- proteoglucanos 68–9
- proteoma humano 149
- proteómica 149
- protooncogenes 118, 167
- proyecto genoma humano 144, 146, 148–9
- prueba de Guthrie 185
- prueba de paternidad 190
- pruebas bioquímicas, diagnóstico prenatal/presintomático 185
- pruebas de detección selectiva prenatal 186
- pruebas de susceptibilidad v. pruebas genéticas
- pruebas genéticas
  - aspectos éticos 195
  - niños 195
  - para rasgos no patológicos 198
  - presintomáticas (predictivas) 184, 185
  - v. *también* detección selectiva de poblaciones



pruebas presintomáticas (predictivas) 184  
 aspectos éticos 195  
 métodos 185  
 P-selectina 66, 67  
 pubertad precoz 158  
 puentes disulfuro 74, 78, 80  
 punto de control de ensamblaje del huso mitótico 117  
 punto de restricción 117, 118  
 punto isoeléctrico 77  
 puntuación LOD (logaritmo del *odds ratio*) 146  
 purinas 93  
 biosíntesis 93  
 vías de reciclaje 94

## Q

queratansulfato 69, 89  
 queratinas 29, 53, 55, 81  
 quiasmas (entrecruzamientos) 121, 145  
 quimioterapia antiviral 20–1  
 quinolonas 16

## R

radiación, lesión del ADN 117, 123  
 radiación ionizante, lesión del ADN 123  
 raquitismo resistente a la vitamina D (hipofosfatemia ligada al X) 161  
 Ras/ras 37, 118  
 rasgos codominantes 156  
 rasgos dominantes 156, 157  
 rasgos recesivos 156, 157  
 reacción en cadena de la polimerasa 131–4  
 ADN diana 131  
 ADN polimerasas 132  
 aspectos prácticos 133  
 cebadores 132  
 clonación del ADN 143  
 comparación con la inmunotransferencia de Southern 134  
 con fluorescencia cuantitativa 142  
 controles 133–4  
 detección de microsatélites 144  
 detección de mutaciones 132, 148  
 reactivos 131–2  
 transcriptasa inversa 134  
 visualización de los productos 133  
 reacción en cadena de la polimerasa/transcriptasa inversa 134  
 reacciones biológicas 83  
 catalizadas 83  
 realización de la historia clínica, consejo genético 190  
 realización de la historia clínica genética 190  
 receptores 45–51  
 acoplados a proteínas G 46–7  
 asociados a histidina cinasa 48, 50  
 asociados a tirosina cinasa 48, 50  
 $\beta$ -adrenérgico 47

de esteroides 50–1  
 de la hormona del crecimiento 48  
 efectos farmacológicos 51  
 guanililciclasas 48, 50  
 inotrópicos 46  
 intercelulares 50–1  
 ligados a enzimas 48, 49, 50  
 mecánicos 42  
 metabotrópicos 46–7  
 nicotínico de acetilcolina 46, 47  
 serina/treonina cinasas 48, 50  
 tipos 46–51  
 tirosincinasas 48, 50  
 TK 47  
 vías de transducción de señales 45–6  
 recombinación 145–6  
 análisis de ligamiento 145  
 mapas genéticos 143  
 red terminal 54  
 región operadora 14  
 regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) 37, 41, 162  
 reparación de desacoplamiento 126  
 reparación del ADN 116, 118, 123–6  
 daño bicatenario 126  
 daño monocatenario 124–6  
 genes 118  
 mecanismos 124–5  
 reparación por escisión de bases 124–5  
 reparación por escisión de nucleótidos 125–6  
 reparación por recombinación homóloga 126  
 repeticiones en tándem de número variable (VNTR) 138–9, 190  
 replicación del ADN 7–9, 102  
 elongación de la cadena 9  
 eucariotas 102–5  
 comparación con procariotas 104  
 iniciación 8–9  
 procariotas 7, 8–9  
 objetivos de los fármacos antimicrobianos 14–15  
 proteínas asociadas 103  
 síntesis de la cadena adelantada 103  
 síntesis de la cadena retrasada 105  
 terminación 9  
 replicación semiconservadora 7  
 replisomas 9  
 represores 14  
 resistencia a los antibióticos 7, 17  
 respiración aerobia 27  
 RET 172  
 retículo endoplásmico rugoso 25, 27  
 retículo endoplásmico 91, 113, 114  
 liso 27  
 retinitis pigmentosa 162  
 retinoblastoma 118, 157, 158, 169

retraso de la anafase 173  
 retrotransposición 102  
 retrovirus 19, 20, 150, 192  
   objetivos de los fármacos antivirales 20  
 ribitol 90  
 ribonucleasa 80  
 ribosa 92  
 ribosomas  
   eucariotas 25, 27, 28–9, 95, 96  
   síntesis de proteínas 111, 113  
   interacciones con fármacos antimicrobianos 16–17  
   procariotas 4  
   mecanismo de transcripción 12–13  
 rifampicina 16, 113  
 ritonavir 21  
 rotavirus 19  
 rubéola 19

## S

sacarosa 88  
 saquinavir 21  
 sarampión 18  
 secuencia conductora (péptido señal) 113–14  
 secuencia de Shine-Dalgarno 12  
 secuencia RGD, unión a integrina 68  
 secuenciación de ADN 135, 137–9  
   análisis de mutaciones 147  
   análisis de polimorfismos 137–9  
   método de Sanger 137  
   proyecto genoma humano 148  
 secuenciación de Sanger 137  
 segundos mensajeros 46, 47  
 selección 183  
 selectinas 64, 66–7  
 señalización autocrina 46  
 señalización endocrina 46  
 señalización paracrina 46  
 señalización transmembrana 45–6  
 serina 73, 76  
 seudogenes 102  
 seudópodos 29, 58  
 silenciadores 107, 109  
 simportadores 41, 42  
 síndrome de Aicardi 161  
 síndrome de Angelman 162–3, 180  
 síndrome de Beckwith-Wiedemann 163  
 síndrome de Down (trisomía 21) 121, 164, 174, 181, 186  
 síndrome de Edwards (trisomía 18) 121, 175  
 síndrome de Gilbert 105  
 síndrome de Gorlin 172  
 síndrome de ICF 101  
 síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) 20  
 síndrome de Kartagener 29  
 síndrome de Klinefelter (47,XXY) 177  
 síndrome de la Chapelle (varón XX) 178  
 síndrome de Laron 48  
 síndrome de Li-Fraumeni 169, 172  
 síndrome de Lynch (cáncer de colon hereditario no poliposo) 171  
 síndrome de Marfan 70, 156, 190–2  
 síndrome de maullido de gato 180  
 síndrome de neoplasia endocrina múltiple (MEN) 171–2  
   MEN I 172  
   MEN IIa 172  
   MEN IIb 172  
 síndrome de Patau (trisomía 13) 121, 175  
 síndrome de Prader-Willi 162–3, 180  
 síndrome de Rett 101, 161  
 síndrome de trisomía X (47,XXX) 178  
 síndrome de Turner (45,XO) 161, 177  
 síndrome de Wolf-Hirschhorn 180  
 síndrome de X frágil 101  
 síndrome de Zellweger 28  
 síndrome MELAS 164  
 síndrome MERRF 164  
 síntesis del ácido fólico 17  
 síntesis proteica 111–13  
   inhibidores 16–17  
   regulación 113  
 sistema endomembrana 28  
 sitio activo 83–4  
 sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) 111  
 sitios hipersensibles a nucleasa 97  
 Smal 130  
 solenoide 97  
 soluciones hipertónicas 39  
 soluciones hipotónicas 39  
 soluciones isotónicas 39  
 soluciones molares 38  
 sondas fluorescentes  
   detección de la hibridación de ácidos nucleicos 134  
   secuenciación automatizada del ADN 137, 138  
 sorbitol 90  
 SRY (región determinante del sexo) 162  
*Streptococcus pneumoniae* 5  
 sulfadiazina 17  
 sulfamidas 17  
 sulfatación de proteínas 115  
 superfamilia de las inmunoglobulinas 64, 66, 101  
 sustitución v. mutaciones, puntuales

## T

T-20 20  
 TAF (factores asociados a TBP) 106  
 talasemia 82, 160, 185  
 talina 54  
 tampones 77  
 Tau 56  
 taxol 56  
 TBP (proteína de unión a TATA) 106

- TDF (factor de determinación testicular) 162
- técnicas de hibridación 134–5
- ADN 134–5
  - ARN 134
  - proteínas 134
- técnicas moleculares 129–42
- teicoplanina 16
- tejido conjuntivo 30, 70
- tejido epitelial 30
- tejido muscular 30
- tejido nervioso 30
- telofase 119, 121
- telomerasa 100, 105
- telómeros 99–100, 105
- tenascina 70
- tenofovir 21
- teorema de Bayes 188
- terapia con células progenitoras 193–4
- terapia génica 149–51, 193
- ensayos clínicos 149
  - posibles enfermedades diana 150
  - sistemas vectores 18, 149–51, 192
- terapias de bloqueo génico 193
- terminación dependiente de Ro 10, 11
- terminación intrínseca 10, 11
- tetraciclina 16
- TFII A-H 106, 107
- timidina 90
- timidina cinasa del herpes simple 20
- timina 93, 94
- tinción con bromuro de etidio 131, 133
- tinción con Giemsa 139
- tirosina 73, 75
- tirosina cinasas 74
- tirosinfosfatasa similares a receptor 48, 50
- tiroxina 77
- toxina diftérica 112
- traducción 4, 12
- eucariotas 109–13
    - comparación con procariotas 112
    - elongación 112
    - iniciación 111
    - terminación 112–13
  - inhibición por fármacos antimicrobianos 16–17
  - procariotas 11–13
    - elongación 12–13
    - iniciación 12
    - terminación 13
- transcripción 12
- cadena codificante 105
  - cadena molde 105
  - definición 105
  - eucariotas 94, 105–9
    - comparación con procariotas 110
    - elongación 107
    - iniciación 106
    - regulación 109
    - terminación 107
  - factores que actúan en *cis* 105
  - factores que actúan en *trans* 105
  - procariotas 10–11
    - elongación 10
    - iniciación 10
    - terminación 10–11
- transcriptasa inversa 19
- transducción 6, 17–18
- de señales 45–6, 68
- transferasas 83
- transformación 6, 17–18
- translocaciones 123, 140, 148, 173, 178
- activación de oncogenes 168
  - recíproca (balanceada) 178
  - robertsoniana (no-balanceada) 178
- transportadores 159, 188
- de glucosa 42
  - enfermedades ligadas al X 161
- transporte activo 38, 40–1
- primario 40
  - secundario 40–1
  - transportadores 42
- transporte axónico 57
- transporte de oxígeno 82
- trasplante de órganos 101
- compatibilidad de haplotipo HLA 102
- trasplante renal 102
- trastornos de los cromosomas sexuales 175, 177
- tratamiento génico ADA-IDCG 193
- treonina 73, 76
- triacilglicerol 86
- triglicéridos 33
- trimetoprima 17
- triptófano 14, 15, 73, 75
- trisomía 13 (síndrome de Patau) 121, 175
- trisomía 18 (síndrome de Edwards) 121, 174–5
- trisomía 21 (síndrome de Down) 121, 164, 174, 181, 186
- trisomías 121, 140, 141
- autosómicas 174–5
- tropocolágeno 82
- troponina 54, 56
- tubulina 29, 53, 56, 99
- tumores
- citogenética 140
  - expresión de cadherinas 66

## U

- uniones 29, 61–4
- adherentes 62
  - comunicantes 63–4
  - poro 63–4
- de anclaje 62
- de extremos no homólogos 126

estrechas (occludens) 61  
 occludens (estrechas) 61  
 uniportadores 41  
 uracilo 93

## V

valina 73, 75  
 vancomicina 16  
 varón XX (síndrome de la Chapelle) 177  
 vectores  
   clonación de ADN 142  
   físicos 150, 192  
   liposómicos 150, 151, 192  
   terapia génica 149–51  
   virales 18, 150, 151, 192  
 velocidades de reacción, enzimas 83, 84–5  
 ventaja heterocigota 183  
 verrugas genitales 20  
 vesículas secretoras 28  
 vía de la adenilato ciclasa 48  
 vía de la fosforilación oxidativa 110  
 vía de la proteincinasa activada por  
   mitógeno (MAPK) 117  
 vía de señalización de fosfolípidos de inositol 47, 49  
 vimentina 55  
 vinblastina 56  
 vinculina 54  
 virión 18  
 virus 18–21  
   asociado a adenovirus 19, 150, 192  
   ciclos vitales 20  
   dianas de los fármacos antivirales 20–1  
   de ADN  
     bicatenario 19

    con transcripción inversa 19  
     genoma 19  
     monocatenario 19  
 de ARN  
   bicatenario 19  
   con transcripción inversa 19  
   genoma 18–20  
   monocatenarios 19  
 de la gripe 18, 20, 21  
 de la inmunodeficiencia humana (VIH) 19, 20  
   quimioterapia antiviral 20, 21  
 del linfocito T humano 1 18  
 del linfocito T humano 2 18  
 del papiloma humano 19  
 Ébola 19  
 genomas 18–20  
   actividad mutágena 123  
   integración en el cromosoma del huésped 117  
 herpes simple 21  
 patogenia de la infección 20  
 VLA4 67

## X

xerodermia pigmentosa 172  
 45,XO (síndrome de Turner) 161, 175  
 XPA 118  
 47,XXX (síndrome de trisomía X) 175  
 47,XXY (síndrome de Klinefelter) 175  
 47,XYY 178

## Z

zanamivir 21  
 zidovudina (azidotimidina; AZT) 21, 85  
 zwitterion 74, 77