

Atlas de Histología Vegetal y Animal

LA CÉLULA

TRÁFICO VESICULAR

Manuel Megías, Pilar Molist, Manuel A. Pombal

Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud.

Facultad de Biología. Universidad de Vigo

(Versión: Enero 2022)

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

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

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

Contenidos

1	Introducción	1
2	Retículo endoplasmático	3
3	Del retículo al Golgi	8
4	Aparato de Golgi	10
5	Exocitosis	14
6	Endocitosis	18
7	Endosomas	22
8	Lisosomas	26
9	En células vegetales	30
10	Vacuolas	32
11	Bibliografía	36

1 Introducción

Una célula eucariota se puede considerar como una gran ciudad con diversos distritos. En ellos se llevan a cabo trabajos necesarios como pueden ser la producción de energía, la fabricación de productos, la elaboración de tales productos, la exportación o la importación con otras ciudades, el reciclaje de la basura, etcétera. Para que todo este sistema sea eficiente se necesita que los distritos estén comunicados entre sí por carreteras y por transportadores.

Los distritos están representados en la célula por los compartimentos intracelulares y en las células eucariotas muchos de estos compartimentos están delimitados por membranas formando lo que llamamos orgánulos. Cada orgánulo celular está especializado en una o varias funciones. Por ejemplo, el retículo endoplasmático es un gran productor de lípidos y proteínas, el aparato de Golgi modifica tales moléculas, sintetiza glúcidos y los reparte a otros orgánulos, los lisosomas son centros de degradación, las mitocondrias y los cloroplastos son grandes centrales energéticas, las gotas de lípidos son centros de almacenamiento, etcétera.

La comunicación entre muchos de los orgánulos celulares está mediada por vesículas, las cuales transportan las moléculas en su interior o incluidas en sus membranas. Estas comunicaciones se denominan en conjunto tráfico vesicular (Figura 1).

Hay dos grandes rutas de comunicación por vesículas entre los orgánulos. La primera se inicia en el retículo endoplasmático, el cual envía vesículas al aparato de Golgi, que a su vez envía también vesículas a la membrana plasmática en un proceso denominado exocitosis. Ésta es la ruta secretora, es decir, la que liberará al exterior moléculas producidas por la célula, aunque tiene también otras misiones. La otra gran ruta es la importadora y comienza en la membrana plasmática donde se forman vesículas por un proceso denominado endocitosis. Estas vesículas se fusionan con los endosomas, los cuales terminan convirtiéndose en lisosomas donde se degradan las moléculas incorporadas del medio extracelular y de la propia membrana vesicular. Existen otras comunicaciones o ramificaciones de estas rutas. La complejidad es tal que da

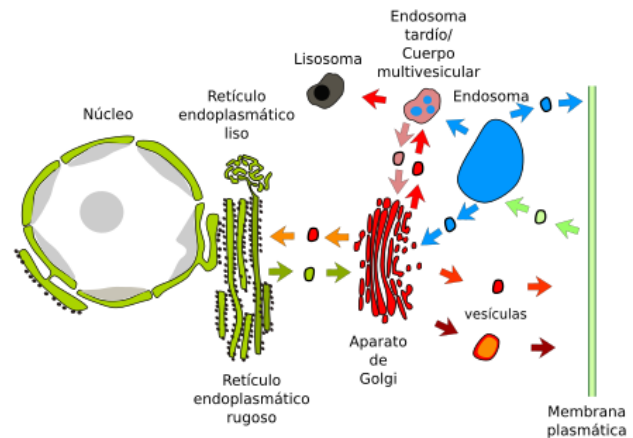


Figura 1: Esquema de las principales vías de comunicación mediante vesículas entre diferentes orgánulos que forman parte de la ruta vesicular. Existe comunicación bidireccional entre la mayoría de los orgánulos que se comunican directamente. No todas las conexiones están representadas.

la impresión de que cada orgánulo está comunicado con el resto de orgánulos. Además, parece existir la regla de que la comunicación entre dos orgánulos es bidireccional, es decir, un orgánulo que envía vesículas a otro, también suele recibirlas de dicho orgánulo. Por ejemplo, el retículo endoplasmático envía vesículas al aparato de Golgi, el cual a su vez crea vesículas destinadas al retículo endoplasmático; la membrana plasmática forma vesículas que se fusionan con los endosomas, pero éstos a su vez envían vesículas con destino a la membrana plasmática en una ruta de reciclaje.

La ruta vesicular es un medio para transportar moléculas que se van a secretar o que se van a degradar. Las moléculas que se transportan en las vesículas también tienen otras funciones. Por ejemplo, se transportan las enzimas degradativas que funcionan en los lisosomas, los receptores de la membrana plasmática y las glucosidasas del aparato de Golgi. Es decir, el tráfico vesicular sirve para aportar materiales específicos a cada compartimento y por tanto para que un orgánulo pueda llevar a cabo su función específica. Contribuye también a llevar las moléculas de membrana que permiten a cada orgánulo tener una identidad propia. Así, una vesícula del retículo tiene que fusionarse con la membrana del aparato de Golgi,

pero no con la de los endosomas.

Orgánulos como las mitocondrias, los cloroplastos y los peroxisomas no reciben ni forman vesículas de manera masiva para comunicarse con otros orgánulos. Aunque puedan formar y emitir vesículas, su papel en la ruta vesicular no parece ser muy importante, al menos si lo comparamos con otros orgánulos. Por tanto, estos orgánulos se suelen situar fuera de la ruta vesicular. De cualquier manera, se comunican con los

otros orgánulos mediante otros mecanismos. Uno de ellos son los contactos directos entre sus membranas. Por ejemplo, es frecuente observar contactos físicos entre membranas de mitocondrias con las del retículo endoplasmático, y en estos contactos se propone que se realizan intercambios de moléculas. De hecho, algunos autores proponen que esta transferencia de moléculas por contactos físicos podría ser un mecanismo de comunicación normal y frecuente en las células.

2 Retículo endoplasmático

El retículo endoplasmático es un complejo sistema de membranas dispuestas en forma de sacos aplanados y túbulos que están interconectados entre sí compartiendo el mismo espacio interno. Sus membranas se continúan con las de la envuelta nuclear y se pueden extender hasta las proximidades de la membrana plasmática. Llegan a representar más de la mitad de las membranas de una célula y son más delgadas que las de otros compartimentos celulares (unos 5 nm).

El retículo organiza sus membranas en regiones o dominios que realizan diferentes funciones. Los dos dominios más fáciles de distinguir son el retículo endoplasmático rugoso, con sus membranas formando cisternas aplanadas, a veces también túbulos más o menos rectos, y con numerosos ribosomas asociados, y el retículo endoplasmático liso, sin ribosomas asociados y con membranas organizadas formando túbulos muy curvados e irregulares (Figura 2). La envuelta nuclear se puede considerar como un tercer dominio puesto que se continúa físicamente con las membranas del retículo endoplasmático y se pueden observar ribosomas asociados a ella realizando la traducción.

El retículo endoplasmático rugoso y el liso suelen ocupar espacios celulares diferentes, como ocurre en los hepatocitos, en las neuronas y en las células que sintetizan esteroides. Sin embargo, en algunas regiones del citoplasma no existe una segregación clara entre ambos dominios y se aprecian áreas de membrana con ribosomas mezcladas con otras sin ribosomas. La disposición espacial del retículo endoplasmático en las células animales depende de sus interacciones con los microtúbulos, mientras que en las vegetales son los filamentos de actina los principales responsables.

Desde el retículo endoplasmático se generan las gotas de lípidos y los peroxisomas. Estos procesos los veremos en las páginas dedicadas a estos orgánulos.

1. Retículo endoplasmático rugoso

El dominio rugoso del retículo endoplasmático se caracteriza por organizarse en una trama de túbulos alargados o sacos aplanados y apilados, más o menos

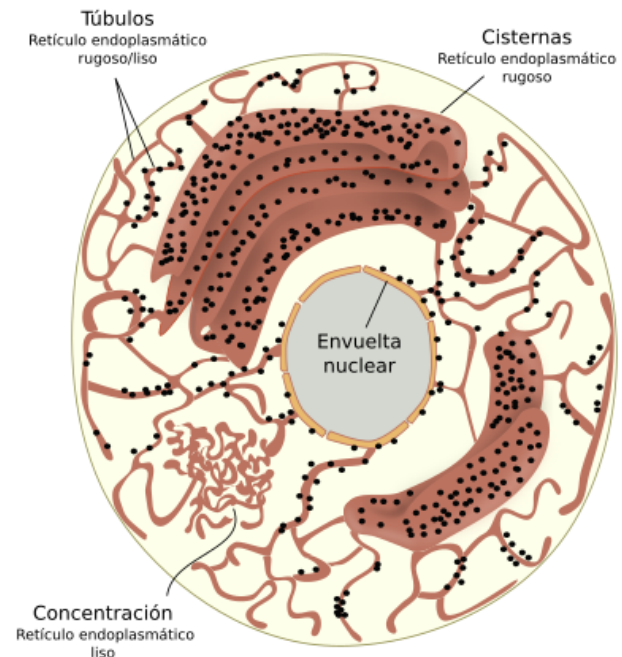


Figura 2: El retículo endoplasmático se extiende por toda la célula, llegando hasta las proximidades de la membrana plasmática. Está formado por cisternas y una red de túbulos, existiendo continuidad entre estos compartimentos. Los ribosomas se encuentran tanto en túbulos como en cisternas. Toda este sistema membranoso se continúa con la envuelta nuclear.

regulares en su forma, con numerosos ribosomas asociados a sus membranas (Figura 3). La cantidad de ribosomas asociados a sus membranas condiciona la forma de este orgánulo, de tal manera que cuando el número de ribosomas asociados aumenta, los túbulos se expanden adoptando la forma de cisternas aplanadas.

Síntesis de proteínas

La principal misión del retículo endoplasmático rugoso es la síntesis de proteínas, las cuales irán destinadas a diferentes lugares: a) el exterior celular, b) el interior de otros orgánulos que participan en la ruta vesicular, como los lisosomas, o c) formarán parte integral de las membranas, tanto plasmática como de otros orgánulos de la ruta vesicular. Las proteínas transmembrana de la membrana plasmática se sintetizan en el retículo endoplasmático. d) Además, el retículo endoplasmático rugoso tiene que sintetizar proteínas para sí mismo, denominadas proteínas res-

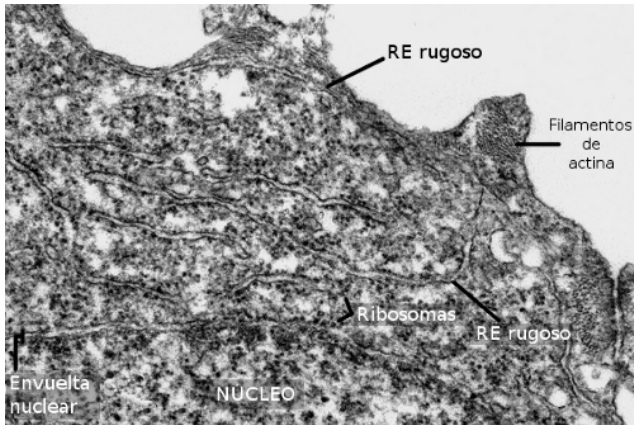


Figura 3: Imagen tomada con el microscopio electrónico de transmisión de una neurona. Se observan las cisternas de retículo endoplasmático rugoso que se extienden desde la envuelta nuclear hasta las proximidades de la membrana plasmática. Los ribosomas aparecen como bolitas negras asociadas a sus membranas. Obsérvese que también hay ribosomas asociados la membrana externa de la envuelta nuclear.

identas, las cuales, para ser retenidas, deben poseer una secuencia de cuatro aminoácidos concretos localizados en el extremo carboxilo (-COOH).

Casi cualquier proteína que se secrete o que forme parte de los orgánulos o compartimentos de la ruta vesicular empieza su proceso de síntesis en ribosomas libres del citosol, pero dicha síntesis terminará en el interior de una cisterna del retículo o formando parte de su membrana (Figura 4). El proceso comienza con la unión de un ARN mensajero (ARNm) a una subunidad pequeña ribosomal y posteriormente a una subunidad grande ribosomal para comenzar la traducción. Lo primero que se traduce de estos ARNm es una secuencia inicial de nucleótidos a partir de la cual se sintetiza una cadena de unos 70 aminoácidos denominada péptido señal. Una molécula conocida como SRP (sequence recognition particule), reconoce al péptido señal y enlentece el proceso de traducción. El complejo formado por ribosoma, ARNm, péptido señal, más el SRP difunde por el citosol hasta chocar con una membrana del retículo endoplasmático, a la cual se une gracias a la existencia de un receptor de membrana que reconoce al SRP. Todo el complejo anterior interacciona con un translocador, que es un complejo proteico transmembrana que forma un

canal por el cual penetra la cadena polipeptídica naciente hacia el interior de la cisterna del retículo endoplasmático. El péptido señal queda unido al translocador mientras que el resto de la cadena polipeptídica se va traduciendo y liberando hacia el interior. Una peptidasa presente en el retículo escinde el péptido señal del resto de la cadena de aminoácidos, quedando ésta libre en el interior. Una vez completada la síntesis, la cadena de aminoácidos adopta su conformación tridimensional, ayudada por chaperonas, y el ribosoma se libera de la membrana del retículo.

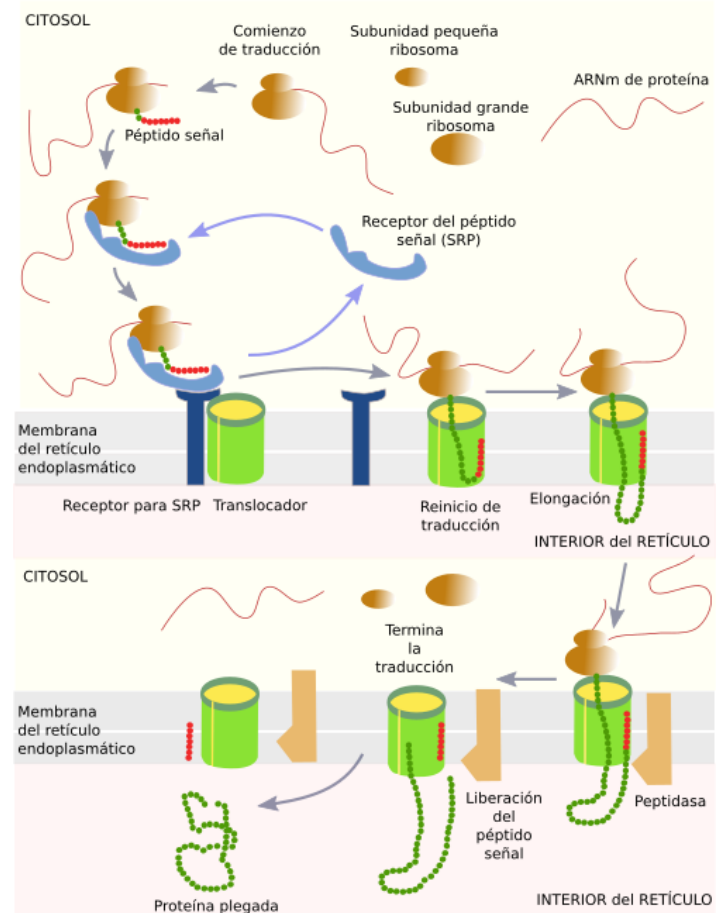


Figura 4: Proceso de síntesis de proteínas solubles, las cuales quedan libres en el interior de las cisternas del retículo.

La cadena polipeptídica de proteínas transmembrana tiene secuencias de aminoácidos hidrófobos que cuando se traducen facilitan su inserción directamente entre los ácidos grasos de la membrana gracias a la acción del translocador. El proceso es muy complejo

y diverso para los diferentes tipos de proteínas integrales puesto que, por ejemplo, algunos receptores transmembrana tiene siete cruces de membrana. Sólo en raras ocasiones el retículo importa proteínas que se sintetizan completamente en el citosol gracias a ciertos transportadores presentes en su membrana.

Las proteínas que se sintetizan en los ribosomas adosados a la membrana del retículo endoplasmático son modificadas conforme van siendo sintetizadas. a) Hay una glicosilación (N-glicosilación) de los aminoácidos asparragina. Éstos recibirán un complejo de 14 azúcares en su radical, que son transferidos desde un lípido embebido en la membrana denominado dolicol fosfato, perdiéndose algunos de estos azúcares en procesos posteriores. b) Se da hidroxilación sólo en algunas proteínas, sobre todo en aquellas que van a formar parte de la matriz extracelular. Aquí se hidroxilan los aminoácidos prolina y lisina, dando hidroxiprolina e hidroxilisina, que formarán parte del colágeno. c) Algunas proteínas de la membrana plasmática están unidas covalentemente a lípidos de la membrana, esta unión también se produce en este compartimento. d) Se establecen puentes disulfuro entre cadenas de aminoácidos.

En el retículo endoplasmático se produce un control de la calidad de las proteínas sintetizadas, de modo que aquellas que tienen defectos son sacadas al citosol y eliminadas. Existen unas proteínas denominadas chaperonas que juegan un papel esencial en el plegamiento y maduración de las proteínas recién sintetizadas. Son también ellas las encargadas de detectar errores y marcar las proteínas defectuosas para su degradación. Otras proteínas con dominios tipo lectina, reconocen determinados azúcares y comprueban la adición correcta de glúcidos. El mal plegamiento de proteínas es más frecuente de lo que podría parecer.

2. Retículo endoplasmático liso

Es un entramado de túbulos membranosos interconectados entre sí y que se continúan con las cisternas del retículo endoplasmático rugoso. No tienen ribosomas asociados a sus membranas, de ahí el nombre de liso. Por tanto la mayoría de las proteínas que contiene son sintetizadas en el retículo endoplasmático rugoso. Es abundante en aquellas células implicadas

en el metabolismo de grasas, detoxificación y almacén de calcio.

El retículo endoplasmático liso está involucrado en una serie de importantes procesos celulares de los que se pueden destacar:

Síntesis lipídica

En las membranas del retículo endoplasmático liso se producen la mayoría de los lípidos requeridos para la elaboración de las nuevas membranas de la célula, incluyendo glicerofosfolípidos y colesterol. Aunque gran parte de la síntesis de los esfingolípidos se lleva a cabo en el aparato de Golgi, su estructura básica, la ceramida, se sintetiza también en el retículo. Sin embargo, el retículo es más una plataforma de ensamblado que de síntesis desde cero. Los ácidos grasos se sintetizan en el citosol y son insertados posteriormente en las membranas del retículo endoplasmático liso donde son transformados en glicerofosfolípidos, inicialmente en la hemicapa citosólica de esta membrana. Como el cambio pasivo de los lípidos entre hemicapas, o movimiento "flip-flop", es difícil por el ambiente hidrófobo de las cadenas de ácidos grasos de la membrana, para que algunos de ellos lleguen a la hemicapa interna desde la citosólica se requiere la acción de transportadores de lípidos, denominados flipasas y flopasas y "mezcladoras" (scramblases en inglés).

El transporte de lípidos entre membranas se puede llevar a cabo mediante vesículas, proteínas transportadoras y en los lugares de contactos entre membranas (Figura 5). Por la vía vesicular, formando parte de vesículas, los lípidos sintetizados en el retículo endoplasmático liso se reparten a las membranas de otros orgánulos, también la membrana plasmática. Las mitocondrias y los peroxisomas no forman parte de la ruta vesicular pero muchos de sus lípidos de membrana deben ser importados desde el retículo endoplasmático. Para ello utilizan los transportadores de lípidos, que los toman en la membrana del retículo endoplasmático liso y los sueltan en las de estos orgánulos. Otro mecanismo para intercambiar lípidos entre membranas de orgánulos que no están en la ruta vesicular ocurre en zonas contacto físico entre sus membranas (Figura 4). Se ha observado con el microscopio electrónico que en algunos pun-

tos las membranas del retículo están muy próximas a las de las mitocondrias y a los peroxisomas, lo que parece indicar que el retículo procura lípidos a estos orgánulos de membrana a membrana mediado por proteínas transportadoras. En las células de los tejidos fotosintéticos son los cloroplastos los encargados de sintetizar sus propios glicerofosfolípidos y glicolípidos, aunque también se observan contactos directos de los cloroplastos con las membranas del retículo endoplasmático.

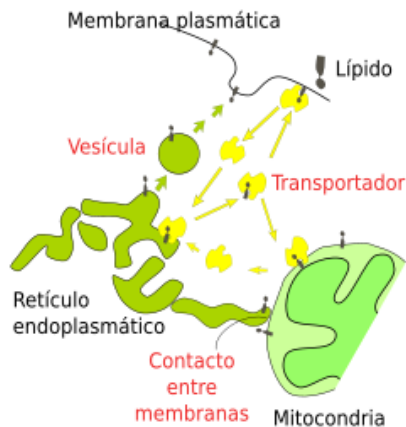


Figura 5: Esquema de los caminos propuestos para el transporte de lípidos desde el retículo endoplasmático hasta otras membranas celulares: en vesículas, mediante transportadores y en zonas de contactos entre membranas.

El colesterol es otro importante componente de las membranas, sobre todo de la plasmática, que se sintetiza mayoritariamente en el retículo endoplasmático liso. Desde aquí es transportado por la vía vesicular o por transportadores proteicos solubles (Figura 4). Por ejemplo, las levaduras, que poseen ergosterol en sus membranas en vez de colesterol, usan vías no vesiculares para transportar el ergosterol desde el retículo hasta la membrana plasmática. Estos transportadores son diversos y sus movimientos son independientes de ATP.

En el retículo endoplasmático liso también se sintetizan lípidos como los triacilgliceroles que serán almacenados en el propio retículo o en gotas lipídicas citosólicas. Este proceso es muy activo en los adipocitos, células que almacenan grasa, con dos funciones: reserva alimenticia y aislamiento térmico. También es el principal responsable de la síntesis de la parte

lipídica de las lipoproteínas, de la producción de hormonas esteroideas y de ácidos biliares.

Detoxificación

Los hepatocitos, las células típicas del hígado, tienen un retículo endoplasmático liso muy desarrollado. En él se sintetizan las lipoproteínas que transportarán al colesterol y a otros lípidos al resto del organismo. En sus membranas se encuentran también enzimas, como la familia de proteínas P450, responsables de la eliminación de productos del metabolismo potencialmente tóxicos, así como algunas toxinas liposolubles incorporadas durante la ingesta. La superficie de membrana del retículo se adapta a la cantidad de enzimas detoxificadoras sintetizadas, la cual depende a su vez de la cantidad de tóxicos presentes en el organismo. La forma de los túbulos y la carencia de ribosomas en sus membranas tendrían la ventaja de ofrecer más superficie de membrana respecto al volumen del orgánulo.

Desfosforilación de la glucosa-6 fosfato

La glucosa se suele almacenar en forma de glucógeno, fundamentalmente en el hígado. Este órgano es el principal encargado de aportar glucosa a la sangre, gracias a la regulación llevada a cabo por las hormonas glucagón e insulina. La degradación del glucógeno produce glucosa-6-fosfato que no puede atravesar las membranas y por tanto no puede abandonar las células. La glucosa 6-fosfatasa se encarga de eliminar ese residuo fosfato, permitiendo que la glucosa sea transportada al exterior celular.

Reservorio intracelular de calcio

Las cisternas del retículo endoplasmático liso están también especializadas en el secuestro y almacenaje de calcio procedente del citosol, gracias a bombas de calcio localizadas en sus membranas. La concentración de calcio en el interior del retículo es del orden de milimolar (mM), mientras que en el citosol es de nanomolar (nM). Este calcio puede salir de forma masiva en respuesta a señales extra o intracelulares gracias a cascadas de segundos mensajeros, y desencadenar respuestas de las células como la exocitosis. Otro ejemplo destacable es el retículo sarcoplasmático (nombre que recibe el retículo endoplasmático liso en las células musculares) que secuestra calcio gracias a

una bomba de calcio presente en sus membranas. El secuestro y la salida de calcio desde el retículo sarcoplasmático se produce en cada ciclo de contracción de la célula muscular.

3 Del retículo al Golgi

La mayoría de las proteínas y de los lípidos que abandonan el retículo endoplasmático lo hacen en vesículas o en otros compartimentos membranosos con formas tubulares que se desprenden del retículo (Figura 6). Tienen como destino inmediato el aparato de Golgi. Las vesículas y los procesos tubulares se forman y salen desde regiones especializadas del retículo endoplasmático denominadas zonas de transición o dominios de exportación reticular. Estas zonas son numerosas, carecen de ribosomas y se encuentran dispersas por las cisternas del retículo endoplasmático rugoso. Tienen unos 0.5 μm de diámetro y, en células de mamíferos, son bastante estables e inmóviles en el tiempo.

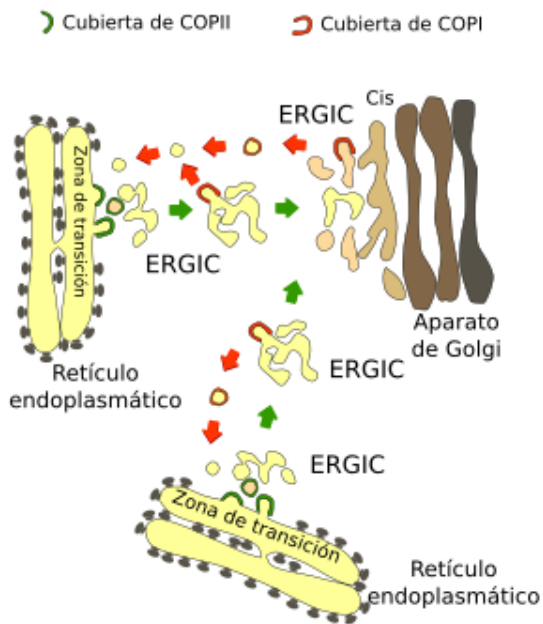


Figura 6: Las vesículas recubiertas con COPII parten desde la zona de transición del retículo endoplasmático y se fusionan formando el compartimento ERGIC, el cual se desplaza guiado por los microtúbulos hacia el lado cis del aparato de Golgi. En el lado cis, los compartimentos ERGIC y vesículas provenientes de diferentes zonas del retículo se fusionan para formar las primeras cisternas del aparato de Golgi. Desde los compartimentos ERGIC se forman vesículas de reciclado recubiertas por COPI que van de vuelta al retículo endoplasmático.

Las zonas de transición están asociadas a las pi-

las del aparato de Golgi. Suelen estar físicamente próximas. Esto tiene sentido porque aumenta la eficiencia, no es necesario que las vesículas recorran largas distancias, o porque la generación y mantenimiento del aparato de Golgi realmente se produce a partir de las vesículas que provienen del retículo. Se ha comprobado que cuando se forma una zona de transición nueva se crea un aparato de Golgi en las proximidades, y si una zona desaparece también lo hace la pila de cisternas asociadas. A veces, las zonas de transición se fusionan o se separan, haciéndolo también las pilas de cisternas de Golgi.

Las vesículas que se forman en las zonas de transición del retículo endoplasmático son vesículas recubiertas del tipo COPII (Figura 1). En la formación de estas cubiertas, y de la vesícula, participan varios tipos de proteínas citosólicas que incluyen a las Sec16, GTPasas Sar1, Sec 23/24 y Sec 13/31. Éstas se ensamblan en este orden en la superficie citosólica de las membranas de las zonas de transición. En estas zonas del retículo se crean las condiciones propicias para el ensamblaje de COPII: tienen una composición lipídica diferente al resto del retículo y hay una acumulación de la proteína Sec16, la cual tiene afinidad por las proteínas Sec23/24, y éstas su vez por las Sec13/36.

Las proteínas que forman COPII parecen realizar dos funciones: cooperan en la formación de las vesículas y participan, directa o indirectamente, en la selección de las cargas, las cuales son proteínas que han de ser incluidas en las vesículas.

La cubierta de COPII, sobre todo la capa externa formada por Sec 13/31, provoca la curvatura y evaginación de la membrana, creando tensiones y pliegues en la membrana para formar la vesícula. Además, COPII parecen intervenir en la escisión de la vesícula.

Hay dos tipos de cargas que han de ser transportadas: las que están en la membrana y las que son solubles en el interior del retículo endoplasmático. Las que son solubles han de ser reconocidas y "pescadas" por receptores transmembrana. Tanto estos receptores como las otras proteínas de membrana necesitan unirse por su dominio citosólico a la cubierta de COPII para ser incluidas en la vesícula. Esta interacción parece mediada por la proteína Sec 24. Por tanto, las proteínas COPII son necesarias para in-

corporar a la vesícula las moléculas que van a ser transportadas. Independientemente de ello, cualquier proteína que vaya a ser exportada debe estar apropiadamente plegada. Las que no lo están son eliminadas antes de que sean englobadas para su exportación. Es decir, en el retículo endoplasmático se lleva a cabo un control de calidad.

Las vesículas recubiertas con COPII liberadas desde las membranas del retículo pierden parcialmente su cubierta y se fusionan entre sí para formar un compartimento intermedio denominado transportador túbulo vesicular o ERGIC (endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment), que es dirigido por los microtúbulos (componentes del citoesqueleto) hacia el lado cis del aparato de Golgi, con el que se fusionará.

Aun siendo el transporte mediado por proteínas COPII descrito anteriormente el más frecuente entre el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi, debe haber variaciones para llevar ciertas moléculas de un orgánulo al otro. Por ejemplo, una vesícula típica COPII, de unos 60 a 90 nm de diámetro, no puede englobar a una molécula de procolágeno, que son proteínas a modo de barras rígidas de unos 300-400 nm de longitud. También el transporte de los quilomicrones entre el retículo y el aparato de Golgi necesita de vesículas especiales más grandes. Parece que la regulación de la actividad de la GTPasa Sar1 es importante para modificar la formación de la cubierta y así poder fabricar vesículas COPII de unas 500 nm de diámetro, en las que se acomoden las moléculas grandes.

El tráfico bidireccional tiene dos misiones, devolver moléculas residentes del compartimento fuente y mantener el tamaño de los orgánulos fuente y diana. El compartimento ERGIC madura durante el camino hacia el aparato de Golgi. Esta maduración supone una modificación de las moléculas de su membrana y permiten la asociación de otras proteínas citosólicas que forman una cubierta denominada COPI. COPI muestra el mismo mecanismo que COPII pero su función es formar vesículas y seleccionar moléculas que se devolverán al retículo endoplasmático. De esta forma,

mientras el compartimento ERGIC se mueve hacia el aparato de Golgi libera vesículas que retornarán al retículo, transportadas por los microtúbulos. Es una vía de reciclado. El sentido de este reciclado es devolver las proteínas que han escapado del retículo y que realmente tienen su misión en este orgánulo. A estas moléculas se les denomina residentes del retículo. Además de las vesículas COPI, parece haber otras maneras de devolver moléculas desde el Golgi al retículo, como por ejemplo formaciones tubulares que forman puentes directos entre ambos orgánulos. En el caso de las COPI, la presencia de la carga estabiliza la cubierta, por lo que cuanto más moléculas haya para transportar retrogradamente más vesículas se formarán.

Las vesículas COPI, además de membrana para reemplazar a la que se usó para formar las vesículas COPII, deben ir cargadas con las SNARE-v y con los receptores que seleccionaron a las moléculas transportadas en el retículo, pero además deben regresar a las proteínas residentes del retículo que entraron en las vesículas de manera no selectiva. La selección de las proteínas residentes del retículo en el compartimento ERGIC se realiza de dos maneras. Las proteínas transmembrana son reconocidas por COPI, mientras que las solubles son reconocidas por una proteína transmembrana denominada receptor KDEL. Las proteínas residentes, tanto transmembrana como solubles, poseen secuencias de aminoácidos que han de ser específicas. Una vez empaquetadas, las vesículas COPI llegan al retículo y se fusionan con él, dejando allí sus moléculas.

El receptor KDEL alterna entre el retículo y el compartimento ERGIC, puesto que también viaja en las vesículas recubiertas por COPII, pero en este caso sin unir ligando alguno. El proceso de unir un ligando en un orgánulo y liberarlo en el otro es posible porque hay un gradiente de pH entre estos dos compartimentos, más básico en el retículo, que le impide unirse a sus ligandos (y por tanto los libera), y más ácido en el aparato de Golgi, que le permite unirse a sus ligandos. Es decir, la variación de pH entre compartimentos modifica la afinidad del receptor KDEL por sus ligandos.

4 Aparato de Golgi

El aparato de Golgi fue descubierto por Camilo Golgi en 1889 cuando observaba neuronas y fue cuestionado durante décadas. Su estructura membranosa fue descrita en detalle por primera vez al microscopio electrónico por Dalton y Felix (1954), quienes introdujeron el concepto de complejo del Golgi.

1. Morfología

En las células animales es un orgánulo que se localiza generalmente próximo al centrosoma, el cual suele estar en las cercanías del núcleo. Esta posición central depende de la organización del sistema de microtúbulos, que en las células animales parten en su mayoría del centrosoma de forma radial. El aparato de Golgi está formado por cisternas aplanadas que se disponen regularmente formando varias pilas o dictiosomas (Figuras 7 y 8). Generalmente las cisternas están ensanchadas en los bordes (como una pizza) y curvadas teniendo las pilas de cisternas una parte cóncava y una convexa. En una célula suele haber varios de estos dictiosomas y algunas cisternas localizadas en dictiosomas próximos están conectadas lateralmente (Figura 7). El número (normalmente de 3 a 8) y el tamaño de las cisternas en cada dictiosoma es variable y depende del tipo celular, así como del estado fisiológico de la célula. A todo el conjunto de dictiosomas y sus conexiones se le denomina complejo o aparato de Golgi.

En las células animales, entre las cisternas, dentro de cada dictiosoma, existen numerosas proteínas fibrosas en las que se encuentran embebidas las cisternas. Este entramado, denominado matriz, podría ayudar en el mantenimiento de la estructura del orgánulo. También se ha demostrado que la posición e integridad del aparato de Golgi depende de la organización de los microtúbulos (Figura 9). La posición del complejo de Golgi parece depender de los microtúbulos nucleados desde el centroma, mientras que la integridad de cada dictiosoma se cree que depende de microtúbulos generados desde las propias cisternas. La actina y la miosina ayudarían también de una manera más fina en la organización de los dictiosomas. Además, el aparato de Golgi depende del tráfico vesicular desde el retículo endoplasmático. Si

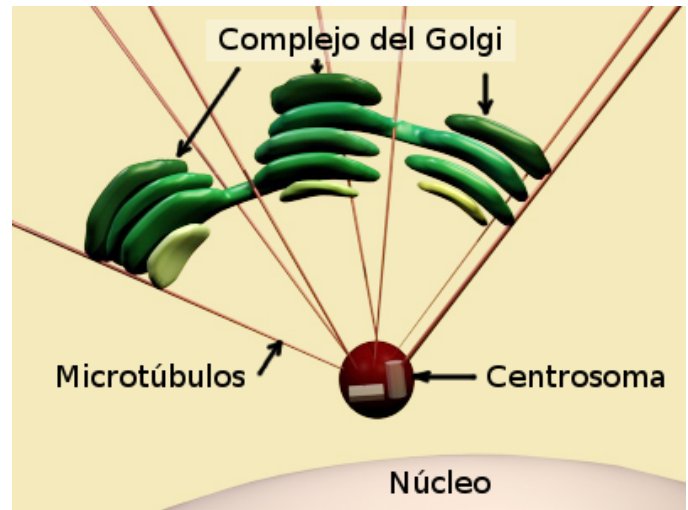


Figura 7: En las células animales el complejo del Golgi está formado por varios dictiosomas, localizados próximos al centrosoma, cerca del núcleo. Algunas de los dictiosomas adyacentes están conectados lateralmente.

éste se detiene el Golgi también desaparece.

En las células de las plantas, que no tienen centrosoma, hay numerosas estructuras similares a dictiosomas del Golgi poco desarrolladas, o incluso cisternas individuales dispersas por el citoplasma (Figura 9). Cada una de estas pilas de cisternas actúan de manera independiente. Es como si el complejo de Golgi estuviera distribuido por toda la célula. En las células vegetales las cisternas del aparato de Golgi son más pequeñas que en las células animales, aunque el número de cisternas dispersas puede variar entre decenas y más de cien. Hay otras diferencias en las plantas respecto a los animales: no se ha observado compartimento ERGIC (ver más abajo), y el TGN está muy desarrollado. Las cisternas o grupos de cisternas son móviles gracias a los filamentos de actina y parecen moverse por zonas de producción de vesículas del retículo endoplasmático, como si fueran recolectándolas. Estos movimientos no alteran la morfología de las pilas de cisternas. Los filamentos de actina son también los que dirigirán las vesículas que salen del Golgi hacia las vacuolas. En las plantas, ni estos grupos dispersos, ni las cisternas, desaparecen durante la división celular puesto que son necesarios para crear la pared celular nueva que separará a las dos células hijas.

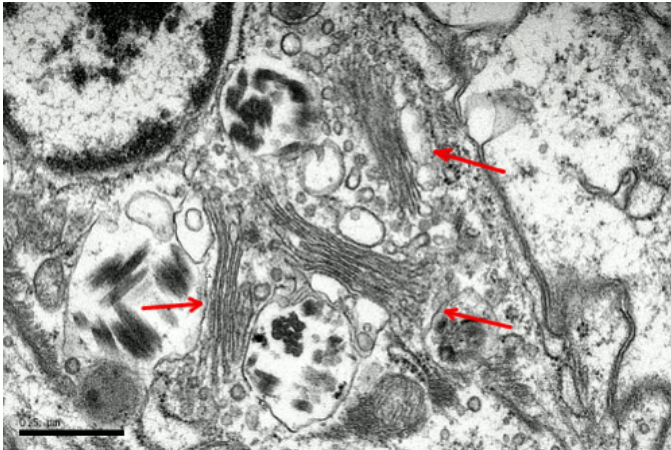


Figura 8: Figura 2. Imagen tomada con un microscopio electrónico de transmisión de un complejo de Golgi con varios dictiosomas.

Hay variaciones morfológicas en el aparato de Golgi dependiendo del tipo celular y de la especie. Por ejemplo, en las células de la mosca del vinagre, aunque tienen centrosoma, poseen una organización similar de cisternas del Golgi a la de las plantas. Las conexiones laterales de las pilas de cisternas sólo se han observado en células de mamíferos.

2. Organización

Es un orgánulo polarizado y cada dictiosoma contiene dos dominios, un lado cis y un lado trans (Figura 10). Entre ambos se encuentran las cisternas intermedias. En el lado cis existe un proceso continuo de formación de cisternas con material procedente de la fusión de compartimentos túbulo vesiculares denominados ERGIC (endoplasmic reticulum Golgi intermediate compartment), los cuales se forman con material proveniente del retículo endoplasmático. El lado trans también posee una organización túbulo-vesicular denominada TGN (entramado trans del aparato de Golgi o trans Golgi network), donde las cisternas con las moléculas procesadas se deshacen en vesículas que se dirigen a otros compartimentos celulares. Por tanto se da un trasiego constante de moléculas desde el lado cis al trans, pasando por las cisternas intermedias. Es un orgánulo en constante renovación y el flujo de moléculas afecta a su organización y a su tamaño. Este orgánulo está especialmente desarrollado en células con fuerte secreción. La dirección del

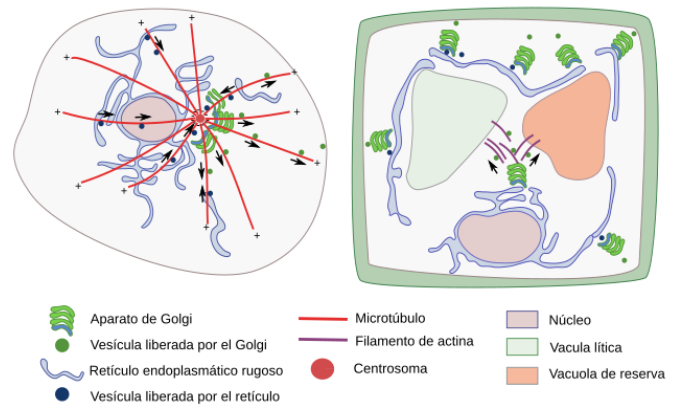


Figura 9: Organización del aparato de Golgi en una célula animal y en una vegetal. La diferencia más llamativa es la dispersión de los dictiosomas y el papel predominante de la actina en las células vegetales respecto a los animales. Las flechas indican el sentido del movimiento de la vesícula más próxima.

flujo de sustancias determina una polarización de la distribución de las enzimas en las cisternas que están próximas al lado cis o al trans.

3. Modelos de transporte a través del Golgi

a) Modelo de la maduración de cisternas (Figura 11). Se postula que los cuerpos túbulo vesiculares (ERGIC) provenientes del retículo endoplasmático se fusionan formando una cisterna en el lado cis. Esta cisterna se mueve progresivamente y madura hasta llegar al lado trans donde se descompone en vesículas para su reparto a otros compartimentos celulares. Hoy en día se tiende a aceptar este modelo porque hay observaciones que son explicadas por él pero no por otros modelos.

b) Modelo de los compartimentos estables. En este modelo los cuerpos túbulo vesiculares (ERGIC) provenientes del retículo endoplasmático se unen al lado cis y desde esas cisternas salen vesículas que transportan material a la siguiente cisterna, y así sucesivamente hasta llegar al lado trans donde son empaquetadas en vesículas para su reparto. Este modelo no tiene actualmente muchos seguidores.

c) Modelo de la conexión de túbulos. Se ha visto con el microscopio electrónico que en ocasiones existen conexiones tubulares entre cisternas adyacentes. Estas conexiones parecen pasajeras y dependientes del

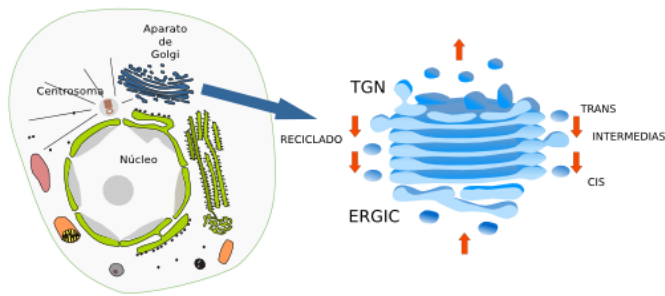


Figura 10: El aparato de Golgi se divide en varios dominios. El lado cis es donde el compartimento ERGIC y las vesículas se fusionan para formar las primeras cisternas. El compartimento ERGIC no se puede considerar como un compartimento perteneciente al aparato de Golgi, sino que es intermedio entre el retículo endoplasmático y el propio aparato de Golgi. Las cisternas que se encuentran en la zona intermedia de la pila se denominan intermedias. En el lado trans es donde las cisternas se deshacen en vesículas y estructuras tubulares que contienen moléculas ya procesadas. El TGN es este complejo de vesículas y estructuras tubulares que se forman en el lado trans. Desde las partes laterales de las cisternas se forman vesículas que viajan y se fusionan con cisternas más próximas al lado cis, son vesículas de reciclado. Las flechas laterales indican el sentido del reciclado y las centrales el sentido que siguen las moléculas en su tránsito por el aparato de Golgi.

tipo de material a secretar. Este modelo no es incompatible con el de maduración de cisternas y ambos procesos podrían ocurrir simultáneamente.

4 Funciones

a) Es uno de los principales centros de glucosidación en la célula. Se añaden y modifican glúcidos que formarán parte de las glucoproteínas, proteoglicanos, glucolípidos y polisacáridos como la hemicelulosa de las plantas. Entre los azúcares específicos que se añaden en el aparato de Golgi está el ácido siálico. En el aparato de Golgi se añade oligosacáridos con unión tipo O a los grupos hidroxilos de aminoácidos como la serina, la treonina y la hidroxilisina. Este tipo de glucosilación ocurre en los proteoglicanos. También en el Golgi se añaden los grupos sulfatos a los glicosaminoglucanos. En el aparato de Golgi también se producen otras modificaciones además de la glucosidación y sulfatación, como son fosforilación, palmitoilación, metilación y otras. En las plantas su papel es crucial, puesto que sintetiza los glicoconjugados que



Figura 11: Modelo de transporte de moléculas (color naranja) a través del aparato de Golgi. En el modelo de maduración de cisternas las cisternas se crean en el lado cis y se desplazan, mientras van madurando, hacia el lado trans donde se transforman en vesículas.

forman parte de la pared celular, menos la celulosa que se sintetiza en la membrana plasmática.

Todas las funciones relacionadas con los glúcidos las llevan a cabo las enzimas glicosiltransferasas (añaden glúcidos) y las glicosidasas (eliminan glúcidos). Pueden existir unos 200 tipos de estas enzimas en el aparato de Golgi. Las diferentes cisternas del aparato de Golgi tienen papeles específicos dentro del procesamiento de los glúcidos, que es una reacción secuencial. Hay evidencias de que existe un gradiente de enzimas relacionadas con la glucosidación desde el lado cis al trans, estando más concentradas cerca del lado cis aquellas enzimas implicadas en los primeros pasos del proceso de glucosidación.

b) En el aparato de Golgi se terminan de sintetizar los esfingolípidos como las esfingomielinas y los glicoesfingolípidos. La ceramida sintetizada en el retículo endoplasmático es la molécula sobre la que trabajan las enzimas del aparato de Golgi para formar dichos tipos de lípidos de membrana. En el aparato de Golgi también se ensamblan las apolipoproteínas como las VLDL.

c) Es un centro de reparto de moléculas que provienen del retículo endoplasmático o que se sintetizan en el propio aparato de Golgi. Una vez procesadas en el aparato de Golgi, las diferentes moléculas son seleccionadas y empaquetadas en vesículas diferentes para dirigirse a sus respectivos destinos. El TGN es la plataforma desde la cual salen las vesículas para los distintos compartimentos (ver figura). Desde el lado trans saldrán vesículas con moléculas seleccionadas hacia la membrana plasmática en dos rutas: la exocitosis constitutiva y la exocitosis regulada. También desde el TGN se envía vesículas hacia la ruta de los endosomas tardíos/cuerpos multivesicu-

lares/lisosomas, o las vacuolas en el caso de las plantas y se envían vesículas de reciclado hacia cisternas del propio aparato de Golgi. Pero el TGN es también un compartimento que recibe vesículas de los endosomas y parece participar en los procesos de reciclado de moléculas entre la membrana y compartimentos internos como los endosomas. En las plantas también puede recibir vesículas de endocitosis. Por tanto este dominio participa en las vías de exocitosis y endocitosis.

Las vesículas que se forman en el TGN no son típicamente redondeadas sino con forma diversa y surgen de expansiones tubulares membranosas. El reparto de moléculas para las diferentes rutas supone una selección de las cargas. En el caso de las moléculas que van a los endosomas (y a membranas basolaterales) se seleccionan por una secuencia específica que poseen las proteínas transmembranas en su lado citosólico. Sin embargo, las moléculas que se

dirigen hacia la membrana celular (o apical en las células polarizadas) son seleccionadas por selectinas que reconocen los enlaces glucosídicos tipo O y N. En los animales estas vesículas son conducidas a todos sus destinos por los microtúbulos, mientras que en las plantas son los filamentos de actina los que llevan las vesículas hasta las vacuolas, mientras que se desconoce lo que las conduce hasta la membrana plasmática.

d) Hay otra serie de funciones no "convencionales" en las que recientemente se ha descubierto que participa el aparato de Golgi. Éstas incluyen ser centro de almacenamientos de calcio, actuar como una plataforma de señalización intracelular, participa en el control de los niveles de estéroles en la célula, en él se da parte de la respuesta de las células a la falta de alimentos, centro nucleador de microtúbulos en la células que se desplazan, etcétera

5 Exocitosis

La exocitosis es la fusión de vesículas con la membrana plasmática. Las vesículas son producidas principalmente por el aparato de Golgi, desde su dominio trans, y viajan hasta la membrana plasmática con quien se fusionan. También pueden provenir vesículas de otros compartimentos como los endosomas (ver más adelante).

1. Tipos de exocitosis

Hay dos tipos de exocitosis de las vesículas que vienen desde el aparato de Golgi: constitutiva y regulada (Figura 12). La exocitosis constitutiva se produce en todas las células y se encarga de liberar moléculas que van a formar parte de la matriz extracelular o bien llevan moléculas en la propia membrana de la vesícula que sirven para regenerar la membrana plasmática. Es un proceso constante de producción, desplazamiento y fusión de vesículas, con diferente intensidad de tráfico según el estado fisiológico de la célula. La exocitosis regulada se produce sólo en aquellas células especializadas en la secreción, como por ejemplo las productoras de hormonas, las neuronas, las células del epitelio digestivo, las células glandulares y otras. En este tipo de exocitosis se liberan moléculas que realizan funciones para el organismo como la digestión o que afectan a la fisiología de otras células que están próximas o localizadas en regiones alejadas en el organismo, a las cuales llegan a través del sistema circulatorio, como es el caso de las hormonas. Las vesículas de secreción regulada no se fusionan espontáneamente con la membrana plasmática sino que necesitan una señal que normalmente es un aumento de la concentración de calcio. Además, necesitan ATP y GTP.

2. Selección de cargas en el Golgi

Los dos tipos de exocitosis empaquetan moléculas diferentes, luego el complejo TGN debe arreglárselas para separar ambos tipos de cargas. Parece ser que las moléculas que no tienen una señal específica serán empaquetadas en vesículas de exocitosis constitutiva. Sin embargo, no todas las moléculas sin señal son transportadas de la misma manera. Por ejemplo, hay un tipo de vesículas que salen desde el trans del Golgi

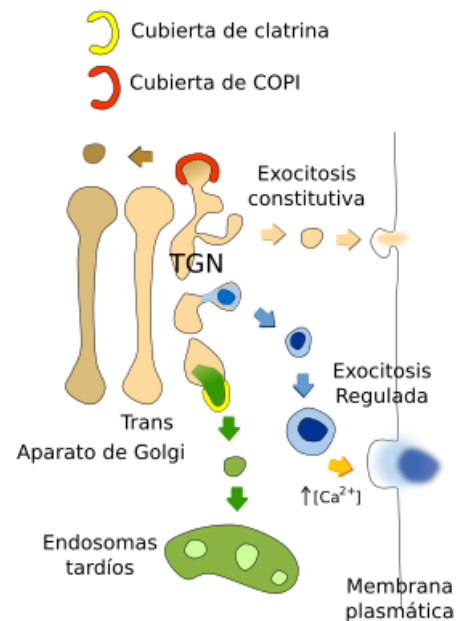


Figura 12: Desde el TGN del aparato de Golgi salen vesículas con diferentes destinos. Hacia la membrana plasmática parten dos rutas. Una denominada exocitosis constitutiva, que poseen todas las células, y otra, exocitosis regulada, que está presente en las células secretoras. En esta última se necesita una señal, aumento de la concentración de calcio, para que se produzca la fusión de las vesículas con la membrana plasmática. Las otras dos rutas desde el TGN van hacia los endosomas, se forman mediadas por una cubierta proteica de clatrina, y hacia el retículo endoplasmático rugoso, cubiertas de COP-I (aunque mucho menos frecuentes).

hacia la membrana plasmática que están enriquecidas en esfingomielinas. Estas vesículas se podrían formar en dominios del trans con abundancia de este lípido. La lipoproteína lipasa es una proteína soluble y, sin embargo, se empaqueta preferentemente en estas vesículas. Esta proteína tiene una apetencia natural para unirse a la membrana y tiene un dominio molecular que reconoce a cadenas de heparán sulfato. Se ha visto que el heparán sulfato sindecan es una carga típica y abundante de este tipo de vesículas puesto que tiene apetencia por meterse en los dominios ricos en esfingomielina. Así, la lipoproteína lipasa asociada al sindecan es empaquetada y secretada.

¿Cómo se seleccionan las moléculas para las vesículas de exocitosis regulada? El mecanismo

parece basarse en la formación de agregados moleculares. Estos agregados están formados por las moléculas que serán liberadas y que tienen actividad fisiológica, así como por las enzimas que se encargan de su procesamiento. Hay que tener en cuenta que muchas de las moléculas que se liberan por exocitosis regulada son incorporadas a las vesículas en formas no activas, por ejemplo propeptidos, que son procesadas a sus formas activas una vez que las vesículas se han formado. Los agregados están formados por moléculas que no han sido secuestradas por las vesículas cubiertas de clatrina, que son otro tipo de vesículas que se forman en el TGN y que van dirigidas a los endosomas, ni por las vesículas cubiertas por COPI, que van al retículo endoplasmático.

3. Secreción regulada

Las vesículas de la secreción regulada provienen fundamentalmente del aparato de Golgi y se acumulan en el citoplasma. Cuando reciben la señal para su liberación se dirigen hacia regiones concretas de la membrana plasmática, luego es un proceso dirigido no sólo en el tiempo sino también en el espacio. Las células nerviosas representan un ejemplo extremo. Una vez empaquetadas las vesículas en el soma neuronal tienen que ser dirigidas hacia el terminal presináptico, que en algunas neuronas puede estar a centímetros de distancia. Además de las neuronas existen otras células polarizadas, como es el caso de las del epitelio digestivo, que poseen una parte apical y otra basal. Sería un desastre que las células epiteliales intestinales fusionasen las vesículas y liberasen las enzimas digestivas que contienen en la región de la membrana plasmática orientada hacia los tejidos internos y no hacia la luz del tubo digestivo. La direccionalidad del camino de estas vesículas está determinada por la acción de los microtúbulos y filamentos de actina del citoesqueleto, el cual, mediante la intervención de las proteínas motoras, las transporta hasta su lugar de fusión apropiado.

La liberación de moléculas al exterior celular supone la fusión de la membrana de la vesícula con la membrana plasmática, de la cual terminará por formar parte. Sin embargo, en base a las imágenes obtenidas con el microscopio electrónico se ha propuesto otra posibilidad adicional, el modelo de exocito-

sis denominado "besa y corre" (kiss-and-run) (Figura 13). Aquí la vesícula no se fusiona completamente con la membrana sino que lo hace de una manera incompleta formando un poro que comunica el interior de la vesícula con el exterior celular por donde liberará su contenido. Posteriormente se cierra el poro quedando la vesícula vacía en el citosol. Este tipo de exocitosis se ha propuesto para las sinapsis y para las células cromafines. En algunos casos se ha observado que las vesículas se pueden fusionar entre sí pero sólo algunas de ellas llegan a fusionarse con la membrana plasmática. Es lo que se llama exocitosis compuesta puesto que el contenido de varias vesículas se mezclan entre sí (Figura 2).



Figura 13: Maneras de fusión de las vesículas de exocitosis con la membrana.

4. Otras fuentes de vesículas

No todas las vesículas que se fusionan con la membrana plasmática provienen del aparato de Golgi. Los endosomas tempranos son orgánulos especializados en recibir vesículas formadas en la membrana plasmática, proceso denominado endocitosis (Figura 14). Tras su fusión con el endosoma parte del contenido vesicular es reciclado y llevado de vuelta a la membrana plasmática por medio de vesículas que se forman en el propio endosoma. Otro ejemplo lo tenemos en los terminales presinápticos del sistema nervioso (Figura 15). Estos sitios de exocitosis están muy alejados del aparato de Golgi, localizado en el soma neuronal. La liberación de neurotransmisores en la sinapsis no puede depender en exclusiva del empaquetado de éstos en el TGN, sería una comunicación nerviosa muy ineficiente y demasiado lenta. En los terminales nerviosos existe un reciclado de vesículas que permite una exocitosis permanente e independiente del TGN. En el terminal presináptico se produce la exocitosis en la zona de liberación, mientras que en

la membrana plasmática lateral del propio terminal se producen vesículas por invaginación que se volverán a llenar con neurotransmisores gracias a la existencia de transportadores específicos en sus membranas. Estas vesículas rellenas sufren un nuevo proceso de exocitosis. Normalmente liberan neurotransmisores pequeños con vías de síntesis poco complejas. De este modo existe un proceso constante de formación de vesículas localizado en el propio terminal presináptico seguido de exocitosis.

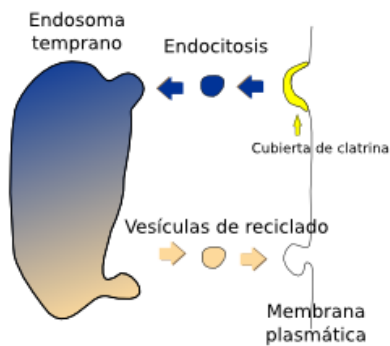


Figura 14: En la membrana plasmática se forman vesículas, endocitosis, que se fusionan con los endosomas tempranos. Desde estos orgánulos parten vesículas de reciclado que se fusionan con la membrana citoplasmática.

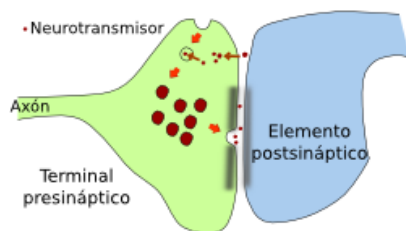


Figura 15: En los terminales presinápticos se produce un ciclo local de formación de vesículas y exocitosis. Se forman en la membrana plasmática lateral del terminal, se rellenan de neurotransmisor por transportadores y se fusionan con la membrana citoplasmática en la zona de fusión, densidad sináptica, liberando su contenido.

5. Fusión de orgánulos

Los cuerpos multivesiculares, orgánulos con vesículas internas, pueden en ocasiones fusionarse con la membrana plasmática y liberar al exterior celular su contenido vesicular (Figura 16). A estas vesículas liberadas se les denomina exosomas. Este mecanismo de exocitosis fue descrito, y el término

exosoma acuñado, en los años 80 del siglo XX. Se descubrió en el proceso de maduración de los reticulocitos a eritrocitos. Durante esta maduración los reticulocitos se deshacen del receptor de la transferrina localizado en la membrana plasmática mediante su incorporación en vesículas que se fusionan con los endosomas tempranos. Cuando éstos maduran se producen invaginaciones en sus propias membranas, que contienen a los receptores, resultando en pequeñas vesículas internas. El endosoma temprano se convierte así en cuerpo multivesicular. Posteriormente estos cuerpos multivesiculares se fusionan con la membrana plasmática y liberan su contenido, que incluye a las vesículas, al exterior celular.

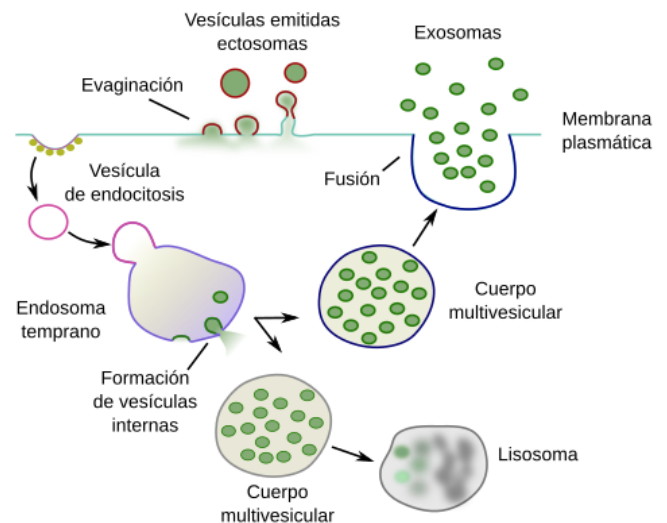


Figura 16: Esquema de la formación de exosomas y vesículas emitidas (modificado de Théry, 2011).

En una misma célula pueden coexistir dos tipos de cuerpos multivesiculares, aquellos que se fusionarán con los lisosomas para la degradación de su contenido y aquellos que se fusionarán con la membrana plasmática para liberar a su contenido al exterior. La diferencia entre estas dos poblaciones parece ser el contenido en proteínas en su superficie, por ejemplo proteínas rab, así como el contenido de colesterol de sus membranas. Incluso en algunas células se ha podido distinguir morfológicamente estas dos poblaciones de cuerpos multivesiculares. Los exosomas son pequeñas vesículas de unos 30 nm a 150 nm de diámetro liberadas como tales por una gran variedad

de células: epiteliales, células del sistema inmunitario, neuronas, glía y células tumorales, entre otras. Inicialmente se pensó que era un mecanismo que tenía la célula para deshacerse de material desechable, y por ello no se les prestó mucha atención. Pero unas décadas más tarde se sugirió un papel en la comunicación célula-célula, en la presentación de antígenos, en patologías víricas, incluidas el VIH, en los procesos de metástasis.

Por último, mencionar que bajo circunstancias excepcionales, distintos orgánulos pueden fusionarse con

la membrana plasmática. Es el caso los lisosomas, cisternas de retículo endoplasmático y lisosomas cuando las células sufren roturas grandes de sus membranas y tienen que sellarlas. La fusión de todos estos orgánulos contribuyen con sus propias membranas a este sellado. Otro ejemplo es la fagocitosis, donde se necesita una gran cantidad de membrana plasmática para englobar a las enormes partículas que se introducen en el interior celular. En este caso ayudan las cisternas de retículo endoplasmático a aportar membrana plasmática extra fusionándose con ella.

6 Endocitosis

La incorporación de sustancias externas por parte de las células animales es esencial para su supervivencia. La célula dispone de un mecanismo para incorporar grandes cantidades de moléculas extracelulares de forma masiva: la endocitosis. Mediante endocitosis se incorporan moléculas extracelulares englobadas por membrana plasmática, que al cerrarse quedan en el interior celular, sobre todo en forma de vesículas. De la misma manera que mediante exocitosis hay un viaje de ida y fusión de vesículas con la membrana plasmática, la endocitosis es un proceso de formación de vesículas en la membrana plasmática con contenido extracelular, las cuales se fusionan posteriormente con compartimentos internos, principalmente con los endosomas.

La endocitosis, además de la incorporación de moléculas externas en grandes cantidades, principalmente para su degradación, tiene otras funciones. Sirve para reciclar moléculas de la membrana plasmática que se incorporarán como parte de la membrana de las propias vesículas o compartimentos que se formen. Otra función menos aparente es compensar los procesos de exocitosis, es decir, eliminar el exceso de membrana plasmática añadida por las vesículas de exocitosis y mantener así una superficie de membrana estable y funcional.

1. Selección de moléculas

Hay tres maneras por las que las moléculas son incorporadas en la endocitosis: en forma soluble inespecífica o pinocitosis, unidas a receptores de membrana o endocitosis mediada por receptor, o formando parte de la propia membrana que constituirá la vesícula o compartimento que origina (Figura 17).

Pinocitosis

El término pinocitosis se refiere a la incorporación inespecífica de moléculas disueltas. No cabe duda de que parte del contenido de cualquier vesícula que se forme en la membrana plasmática tendrá moléculas disueltas que se hayan colado en el interior de la vesícula de manera inespecífica. Por tanto, en mayor o menor medida todas las rutas de endocitosis realizan pinocitosis. Hay tipos de endocitosis especializa-

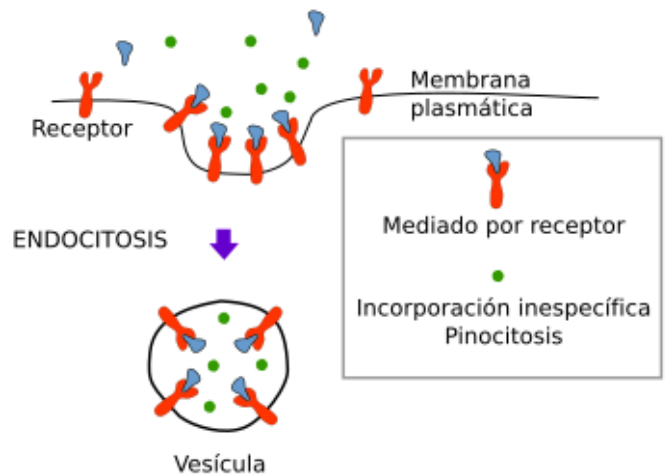


Figura 17: Las moléculas pueden ser incorporadas por endocitosis de forma específica unidas a receptores de la membrana plasmática o de manera inespecífica en disolución o pinocitosis.

dos pinocitosis, como es la macropinocitosis, donde la incorporación inespecífica de moléculas es su principal característica, como veremos más adelante.

Endocitosis mediada por receptor

La endocitosis mediada por receptor es el mecanismo de incorporación de moléculas específicas reconocidas por receptores de la membrana plasmática. Se han descrito unos 25 tipos de receptores que actúan en este tipo de endocitosis. Con ellos la célula puede incorporar de forma muy eficiente moléculas o partículas que se encuentran disueltas a bajas concentraciones. Estas moléculas se unen a sus receptores y los complejos receptor-ligando convergen en una zona de la membrana plasmática donde se produce la formación de la vesícula que posteriormente viaja hacia el interior celular. El ejemplo más llamativo es la captación de colesterol por parte de las células, el cual se transporta en la sangre unido a proteínas como, por ejemplo, las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Las LDL son unos complejos que contienen una gran cantidad de moléculas de colesterol rodeadas por una monocapa lipídica y poseen una molécula proteica que sobresale al exterior. Cuando una célula necesita colesterol sintetiza receptores para los LDL y los traslada a la membrana plasmática. Entonces se produce el reconocimiento entre receptor y LDL,

ambos se unen y se agrupan en una zona de la membrana plasmática donde se produce una invaginación. Una vez formada la vesícula, se dirige a orgánulos intracelulares donde las LDL son digeridas y el colesterol es liberado y metabolizado. Cuando se produce algún impedimento en la captación de colesterol, fundamentalmente por fallos en el reconocimiento por parte de los receptores de LDL o por su ausencia, el colesterol se acumula y puede producir arterioesclerosis e infarto de miocardio.

2. Tipos de endocitosis

Dependiendo del tamaño del tipo de vesícula o compartimento, su mecanismo de formación y la naturaleza del material a incorporar, se han descrito diversos tipos de endocitosis. Nosotros los vamos a agrupar en: endocitosis mediada por vesículas recubiertas de clatrina, endocitosis mediada por caveolas, endocitosis mediada por vesículas no recubiertas y macropinocitosis. Vamos a estudiar también a la fagocitosis, una endocitosis un tanto especial porque es un proceso de incorporación de grandes partículas como bacterias o restos celulares, también englobados en membranas (Figura 18).

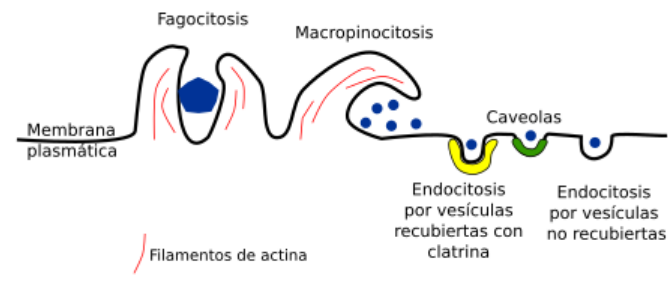


Figura 18: Distintos tipos de endocitosis.

Vesículas recubiertas de clatrina

Es el principal mecanismo por el que se incorporan proteínas integrales y lípidos de la membrana plasmática, así como macromoléculas extracelulares que generalmente no exceden los 156 nm, incluyendo algunos virus. Las vesículas se forman en áreas de la membrana plasmática donde se encuentra la proteína clatrina, que es citosólica. Podría parecer que este sitio de nucleación inicial de la vesícula es aleatorio, pero hay muchos ejemplos en los que no es

así. Hay regiones que favorecen esta nucleación. Por ejemplo, una alta concentración de PI(4,5)P2 facilita el acople de unas proteínas denominadas adaptadoras. También se pueden dar concentraciones de cargas, bien porque han sido excitadas cerca o porque pueden oligomerizar. En los fibroblastos estas áreas de inicio de formación de la vesícula suponen un 2 % del total de la superficie de la membrana plasmática. La clatrina posee una estructura con tres brazos que se ensamblan entre sí formando pentágonos. Su estructura y su manera de asociarse parece que ayudan a la invaginación y cierre de la vesícula. La polimerización de la clatrina forma vesículas de unos 120 nm. Aparte de la clatrina, hay otras 50 proteínas diferentes involucradas en la formación de la vesícula, todas ellas provenientes del citosol. Entre la clatrina y la membrana celular se disponen otras proteínas que ayuda al ensamblaje de las moléculas de clatrina para formar una especie de cesta que engloba a la vesícula. Las proteínas adaptadoras, y otras proteínas de la cubierta, son las que principalmente van a decidir qué tipo de receptores de la membrana plasmática, junto con sus ligandos, van a ser transportados por las vesículas. Las vesículas de clatrina transportan muy diversas cargas y existe una variedad de proteínas que reconocen el lado citosólico de las proteínas que serán incluidas en la vesícula.

La curvatura de la membrana plasmática para formar la vesícula se produce por la acción coordinada de la cubierta de clatrina, los filamentos de actina y las proteínas de escisión. La actina parece actuar en estadios tardíos cuando la invaginación ya se ha producido, y despolimeriza cuando la vesícula se ha formado. Una vez que la vesícula se ha cerrado e internalizado, la clatrina se desensambla y la vesícula puede ir a orgánulos específicos dentro de la célula, normalmente endosomas tempranos.

Caveolas

Se describieron en los años 50 del siglo XX por P. Palade gracias a imágenes de microscopía electrónica. Son unas pequeñas invaginaciones en la membrana plasmática (45-80 nm) presentes en la mayoría de las células eucariotas que posteriormente se transforman en vesículas, aunque la proporción en que esto ocurre no está del todo clara. Son especialmente abundantes

en las células endoteliales, musculares y adipocitos. Su membrana se caracteriza por poseer unas proteínas llamadas caveolinas, además de proteínas periféricas ancladas a glicosilfosfatidil-inosoles, esfingolípidos (esfingomiélin y glicosfingolípidos) y colesterol. La propia existencia de caveolinas hace que las células formen caveolas. Hay de 100 a 200 moléculas de caveolina por caveola y existen diferentes tipos en una sola caveola. No sólo se forman caveolas en la membrana plasmática sino que también se observan en el aparato de Golgi. Así que podría funcionar como mecanismo de transporte entre el aparato de Golgi y la membrana plasmática para determinados tipos de moléculas. Cuando se internan desde la membrana plasmática, las vesículas resultantes de las caveolas se fusionan con los endosomas tempranos, aunque algunos autores consideran que lo hacen con un tipo especial de endosoma denominado caveosoma.

Las funciones de las caveolas, sin embargo, no están del todo claras. Aunque se ha propuesto un papel relevante en la endocitosis, esto no parece tener un gran soporte experimental. Se han propuesto otras funciones que incluyen modulación de la transducción de señales celulares puesto que contienen numerosos receptores en sus membranas que son eliminados de la superficie celular como los receptores tirosina quinasa, el tráfico de lípidos entre la membrana y orgánulos interno, incluso se han postulado como participantes en los mecanismos de supresión de algunos tumores. Moléculas como la toxina colérica, el ácido fólico y otras moléculas entran a la célula gracias principalmente a las caveolas.

Vesículas no recubiertas

Es la endocitosis de vesículas que no dependen de la clatrina ni de la caveolina. Este tipo de endocitosis se ha identificado frecuentemente de dos formas: por la morfología de sus invaginaciones y vesículas, y porque se produce tras inhibir la clatrina y caveolina, es decir, se siguen produciendo procesos de endocitosis cuando se bloquean selectivamente las vías mediadas por clatrina y por caveolina. Algunas toxinas como las del cólera entran preferentemente por esta vía. No se conoce en detalle cuales son los mecanismos por los que este tipo de endocitosis selecciona a las moléculas que transportan. Se sospecha que se

pueden concentrar e incorporar moléculas gracias a la acción de las balsas de lípidos. Tampoco se conoce si la formación de estas vesículas es un proceso regulado o no.

Macropinocitosis

Es un proceso mediante el cual se incorporan grandes cantidades de fluido extracelular. En la superficie celular se crean evaginaciones o extensiones del citoplasma a modo de ola con base más o menos circular cuyas crestas se fusionan o caen sobre la membrana plasmática y se fusiona con ella formando una gran vesícula interna o macropinosoma. El mecanismo de formación de los macropinosomas involucra a los mismos componentes que actúan durante la fagocitosis: los filamentos de actina y las proteínas motoras miosina. La macropinocitosis no sólo se utiliza para captar alimento, como ocurre en las amebas, sino que también sirve para renovar la membrana plasmática, se activa durante el movimiento celular para transportar grandes porciones de membrana hacia el frente de avance, incluso algunas bacterias son capaces de inducirla para introducirse en los macropinosomas y así evitar la fagocitosis.

Fagocitosis

Es un tipo especial de endocitosis que consiste en la incorporación de partículas de gran tamaño como son bacterias, restos celulares o virus. Este mecanismo lo llevan a cabo células especializadas como son los macrófagos, neutrófilos y las células dendríticas. Un ejemplo claro son los macrófagos que fagocitan a los complejos formados por inmunoglobulinas unidas a otras partículas que pueden ser virus o bacterias. También son los encargados de eliminar miles de glóbulos rojos al día. Los macrófagos suelen ser residentes de tejido. Por ejemplo, las células de Kupffer en el hígado, la microglía se localiza en el encéfalo y otros en la médula ósea, que tienen además la misión de eliminar los núcleos de los eritrocitos liberados durante su maduración. Los protozoos utilizan la fagocitosis para alimentarse. Es probable que la fagocitosis haya evolucionado de un mecanismo de conseguir comida por parte de los organismos unicelulares a un mecanismo de defensa en los pluricelulares.

El proceso de fagocitosis supone un reconocimiento

de la partícula por parte de la célula mediante receptores de membrana y la emisión de unas protuberancias laminares o pseudópodos de citoplasma rodeados por membrana. Los receptores que reconocen a las partículas a fagocitar se unen a moléculas de la superficie de los patógenos, o a la fosfatidilserina de las células apoptóticas, o a las inmunoglobulinas G y componentes del complemento del sistema inmune. Cuando estos receptores unidos a sus ligandos se agrupan disparan el proceso de fagocitosis. Se necesita una cantidad mínima de receptores unidos a sus ligandos para que se de la fagocitosis, si no es así ésta se detiene. De manera que cuando la partícula no tiene suficiente ligando no será incorporada. Sin embargo,

los macrófagos tienen una gran diversidad de receptores con diferentes selectividades, que trabajan de manera cooperativa.

Este proceso de emisión de expansiones citoplasmáticas para englobar a la partícula está mediado por los filamentos de actina y las proteínas motoras miosina. Tales protuberancias rodean a la partícula, fusionan sus frentes de avance y encierran a la partícula formando una gran vesícula o fagosoma que se separa de la superficie y se interna en la célula para ser digerida. La fagocitosis requiere de una señal de reconocimiento para disparar el proceso. Una vez formado el fagosoma se fusionará con los lisosomas para la degradación de su contenido.

7 Endosomas

Los endosomas son unos compartimentos membranosos que presentan una forma irregular, generalmente con aspecto de grandes "bolsas", que a veces también forman túbulos membranosos. Se comportan en la vía de endocitosis de manera similar a como lo hace el TGN (trans Golgi network) en la vía de exocitosis, es decir, son una estación de llegada, clasificación y reparto de moléculas que se comunica con otros compartimentos de la célula. A los endosomas llega material en las vesículas que provienen de la membrana plasmática vía endocitosis y otras vesículas que provienen del TGN del aparato de Golgi. El compartimento que se forma tras una fagocitosis o una macropinocitosis es directamente un endosoma. Desde los endosomas salen vesículas de reciclado hacia la membrana plasmática y hacia el aparato de Golgi llevando de vuelta sobre todo membrana y receptores transmembrana, mientras que el resto de las moléculas sigue su procesamiento hacia los lisosomas.

1. Modelos

Los endosomas de una célula son heterogéneos tanto morfológica como funcionalmente. Incluso en un mismo endosoma puede haber regiones de su membrana realizando funciones diferentes. Al conjunto de los endosomas de una célula se le llama compartimento endosomal. Hay dos propuestas sobre cómo se organiza el compartimento endosomal:

a) Diferentes tipos de endosomas. Habría en una misma célula endosomas con características estables en el tiempo encargados de realizar tareas concretas. Estarían los endosomas tempranos próximos a la membrana plasmática que reciben las vesículas de endocitosis; endosomas de reciclaje desde los que parten vesículas a la membrana plasmática y al aparato de Golgi; cuerpos multivesiculares o endosomas tardíos localizados en zonas más internas de la célula, que reciben vesículas cargadas de hidrolasas ácidas desde el TGN del aparato de Golgi, y envían otras recicladas de vuelta al TGN, y que terminan fusionándose con los lisosomas para la degradación de las moléculas y vesículas que contienen. Todos estos tipos de endosomas estarían comunicados por vesículas.

b) Maduración de los endosomas. Una segunda teoría propone que los endosomas tempranos se formarían por la convergencia y fusión de las vesículas de endocitosis. Esto ocurriría en las proximidades de la membrana plasmática. Después se desplazarían hacia el interior celular. Durante su trayecto van madurando, convirtiéndose en endosomas de reciclado, produciendo vesículas de vuelta hacia la membrana plasmática. Progresivamente, los endosomas de reciclado se transformarían en endosomas tardíos/cuerpo multivesiculares, que reciben vesículas del aparato de Golgi, y envían otras de vuelta al aparato de Golgi. Finalmente se convertirían en los lisosomas o se fusionan con ellos. De manera que todos los tipos de endosomas descritos son sólo estados de un proceso continuo de maduración. Todavía no está resuelto cual de las dos propuestas es la correcta, o si ambos mecanismos actúan simultáneamente. Sin embargo, los datos más recientes apuntan al modelo de maduración.

2. Distribución

Los endosomas se distribuyen espacio-temporalmente en la célula de una manera particular (Figura 19). Los endosomas tempranos se sitúan en la periferia celular, próximos a la membrana plasmática. A medida que van madurando se van internando en la célula y se concentran en la región perinuclear, donde se encuentran los cuerpos multivesiculares/endosomas tardíos. De esta manera también se segregan las funciones de los endosomas. La idea es que el sistema endo-lisosomal periférico está más orientado a la señalización, mientras que los perinucleares a la degradación. Al conjunto de endosomas que hay en el espacio perinuclear se le llama nube perinuclear. En la periferia se capta material y en el interior de la célula se degrada y recicla. La posición y movimiento de los endosomas por la célula y su viaje a las proximidades del núcleo está mediado por las proteínas Arf, Rab y Arf-like (Arl). Es interesante que los endosomas tardíos mantendrían su posición perinuclear mediante su interacción con el retículo endoplasmático. El retículo no sólo podría participar en su localización sino también en su fisión, como ocurre con las mitocondrias, y en su movimiento.

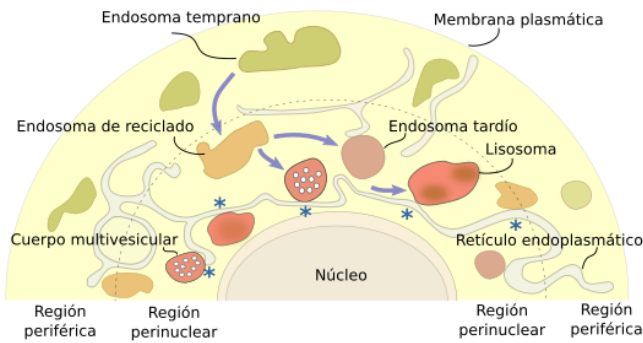


Figura 19: Los distintos tipos de endosomas se suelen localizar en regiones diferentes de la célula. Los tempranos en la periferia celular, que al desplazarse al interior se van transformando en endosomas de reciclaje, posteriormente en cuerpos multivesiculares/endosomas tardíos, ya en la región perinuclear. Por último, se fusionarán con los lisosomas. Los asteriscos indican sitios de contacto con las membranas del retículo endoplasmático.

3. Endosomas tempranos / de reciclado

Los endosomas tempranos son los encargados de recibir las vesículas de endocitosis (Figura 20). En este momento, o tras un proceso de maduración en endosomas de reciclaje, se da un intenso proceso de reciclado de moléculas que vuelven a la membrana plasmática, pudiendo representar hasta el 90 % de las proteínas y el 60 % de los lípidos endocitados. El interior del compartimento endosomal temprano se mantiene a pH más ácido (aproximadamente 6.5) que el del citosol (aproximadamente 7.2) gracias a las bombas de protones dependientes de ATP que se encuentran en sus membranas. El medio ácido del endosoma permite que muchos receptores transmembrana y sus ligandos unidos, transportados en vesículas desde la membrana plasmática, liberen dichos ligandos en el interior del endosoma. Los receptores, ya sin ligando unido, vuelven a la membrana plasmática en vesículas de reciclado y el ligando sigue hacia otros compartimentos para su degradación. Normalmente la salida de estas vesículas recicladas se realiza en un dominio del endosoma físicamente segregado del resto del espacio endosomal. En realidad se propone que el endosoma temprano posee varios dominios o regiones: uno donde se fusionan las vesículas de endocitosis procedentes de la membrana plasmática, otro desde donde se reciclan vesículas hacia la mem-

brana plasmática, otro desde donde parten complejos membranosos que forman los cuerpos multivesiculares, otro desde el que parten vesículas al aparato de Golgi y algunos autores proponen la existencia de otros menos conocidos.

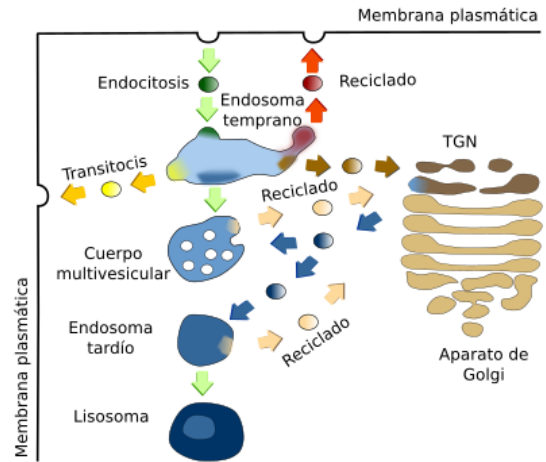


Figura 20: Tipos de endosomas y principales rutas de comunicación vesicular en las que participan.

4. Cuerpos multivesiculares, endosomas tardíos

Los cuerpos multivesiculares, y los endosomas tardíos (Figura 2), son la antesala de la degradación de las moléculas endocitadas, la cual se realiza finalmente en los lisosomas gracias a unas enzimas denominadas hidrolasas ácidas. Las moléculas destinadas a la degradación llegan desde los endosomas tempranos, mientras que las hidrolasas ácidas desde el TGN del aparato de Golgi empaquetadas en vesículas. La acción de las bombas de protones localizadas en las membranas de estos endosomas irán acidificando progresivamente el pH interno y por tanto favoreciendo la acción de las hidrolasas ácidas, cuya actividad óptima se da a un pH próximo a 5, el cual se alcanza ya en los lisosomas. Desde los cuerpos multivesiculares y desde los endosomas tardíos se producirá reciclado mediante vesículas hacia endosomas tempranos y hacia el TGN del aparato de Golgi.

Los cuerpos multivesiculares se definen primeramente por criterios morfológicos (Figura 21). Son orgánulos redondeados con una membrana que encierra a múltiples vesículas internas (desde dos a docenas de ellas). Típicamente tienen un diámetro

entre 250 y 1000 nm. Aunque su forma es redondeada pueden presentar apéndices tubulares. Los cuerpos multivesiculares pueden estar rodeados por compartimentos tubulares o conectados a ellos. Se mueven dentro de la célula por microtúbulos. El aspecto multivesicular que se observa a microscopía electrónica de estos orgánulos se debe a que en sus membranas se producen invaginaciones que resultarán en vesículas en su interior. De esta manera se pueden degradar las moléculas que forman parte integral de las membranas, aunque en dichas invaginaciones entra además parte del fluido citosólico, que también será degradado. Como dijimos anteriormente los endosomas tardíos se forman por maduración de los cuerpos multivesiculares. Las moléculas del interior de un cuerpo multivesicular pueden tener tres destinos: liberadas al medio extracelular o degradarse en los lisosomas. Hay una tercera posibilidad denominada back-fusion que se ha encontrado en las sinapsis de las neuronas, donde las vesículas se podrían fusionar con la membrana plasmática. Es interesante puesto que podría suponer un papel de almacén para los cuerpos multivesiculares. De hecho es raro que sean tan frecuentes en el lado postsináptico.

El destino de las moléculas del interior de los endosomas tardíos es ser degradadas en los lisosomas. Hay dos maneras no excluyentes en que esto puede ocurrir: una maduración de los endosomas tardíos que con la disminución del pH se convierten en lisosomas o mediante la fusión de endosomas tardíos con lisosomas ya existentes en el citoplasma.

5. El viaje de las hidrolasas ácidas

El empaquetado en vesículas de las hidrolasas ácidas, necesarias para la degradación en los lisosomas, se produce en el TGN gracias a un mecanismo de reconocimiento por receptor (Figura 22). Así, estas enzimas son sintetizadas en el retículo endoplasmático y al pasar por el lado cis del aparato de Golgi son modificadas por otras enzimas que le añaden una manosa-6-fosfato. En el TGN son segregadas del resto de moléculas de la vía de exocitosis gracias a la existencia de un receptor transmembrana que reconoce este residuo glucídico. El complejo receptor-hidrolasa se concentra en zonas recubiertas con clatrina y son finalmente incorporados en vesículas. Estas vesículas

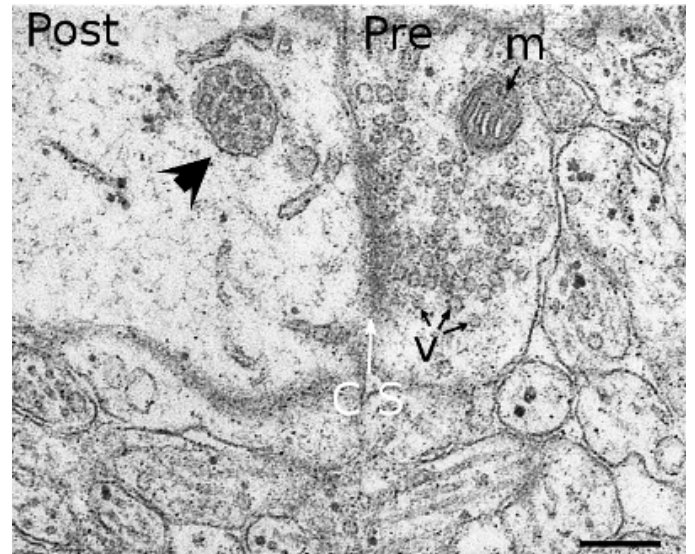


Figura 21: Cuerpo multivesicular típico (indicado con la cabeza de flecha) en una dendrita de una motoneurona el núcleo del nervio hipogloso. El cuerpo multivesicular tiene numerosas vesículas internas y está localizado próximo a una sinapsis. Barra de escala = 250 nm. El tejido se procesó como se describe en Rind et al., 2005. Post: elemento postsináptico, dendrita; Pre: elemento presináptico, axón; m: mitocondria; v: vesículas; CS: contacto sináptico. (Foto cedida por Chris von Bartheld. Department of Physiology and Cell Biology, University of Nevada School of Medicine. USA)

viajan hasta los cuerpos multivesiculares y endosomas tardíos con quienes se fusionan. El pH más ácido de estos endosomas respecto al que hay en el TGN hace que las hidrolasas se desliguen de su receptor, el cual puede volver a ser incluido en vesículas de reciclado que se dirigen de nuevo al TGN del aparato de Golgi.

6. Transcitosis

En algunos tipos celulares existe una ruta vesicular adicional denominada transcitosis. En estas células las moléculas unidas a receptor que llegan en vesículas a los endosomas tempranos no se desligan de su receptor y ambos, receptor y ligando, son de nuevo empaquetados en otras vesículas para ser transportadas a otros lugares de la membrana citoplasmática distintos a aquellos en los que se originaron, donde se fusionan y liberan su contenido al espacio extracelular. Estas rutas suelen darse en las células polarizadas como las epiteliales. Por este mecanismo se incorporan elementos como el hierro.

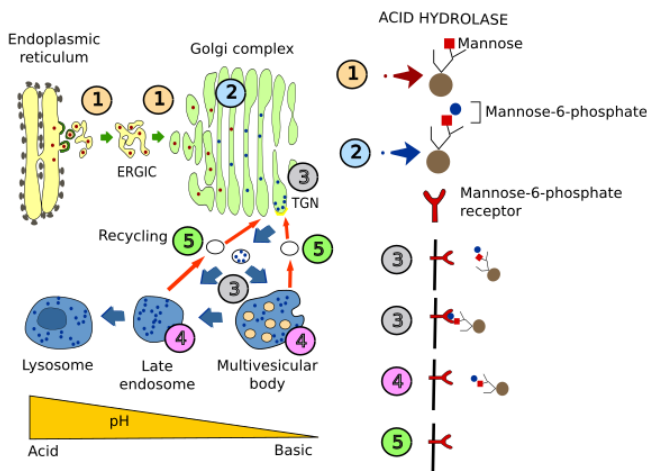


Figura 22: Ruta de las hidrolasas ácidas. Estas enzimas se sintetizan en el retículo endoplasmático (1) y son trasladadas hasta el aparato de Golgi (1) donde se le añade un grupo fosfato a un residuo de manosa (2). En el TGN esta manosa-6-fosfato es reconocida por receptores específicos (3), receptor-hidrolasa son englobados en vesículas (3) y transportados hasta los cuerpos multivesiculares y endosomas tardíos. En estos orgánulos hay una acidez mayor que hace que la hidrolasa se desligue de su ligando (4). El receptor es devuelto al TGN en vesículas de reciclado (5).

7. Exosomas

Algunos tipos celulares como las células hematopoyéticas, los linfocitos, las células dendríticas, las células epiteliales intestinales, los mastocitos y las células tumorales, realizan un tipo de tráfico vesicular un tanto extraño. Los cuerpos multivesiculares, en vez de convertirse en lisosomas, se fusionan con la membrana plasmática liberando sus vesículas internas (de 30 a 60 nm de diámetro) al espacio extracelular (Figura 23). A estas vesículas liberadas se les denomina exosomas y poseen una composición molecular distinta a otros compartimentos intracelulares, por ejemplo poseen mucho colesterol y esfingomielina.

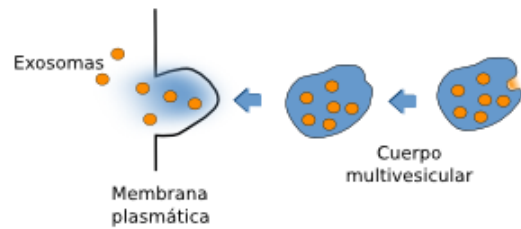


Figura 23: Liberación de las vesículas internas de los cuerpos multivesiculares por fusión con la membrana plasmática, que una vez en el exterior celular se denominan exosomas.

8. Macroautofagia

Hay un mecanismo para formar endosomas que no depende de la endocitosis. Todas las células realizan un proceso de digestión de orgánulos o componente celulares internos denominado autofagia. Hay distintos tipos de autofagia, una de ellos es la macroautofagia, que se pone en marcha bajo diversas circunstancias como la escasez de alimentos, inducción por ligandos, o estrés celular en general. La macroautofagia consiste en el englobamiento por parte de cisternas del retículo endoplasmático de orgánulos o una porción del citoplasma celular. Cuando se cierran las membranas del retículo se forma un compartimento denominado autofagosoma, el cual madurará hasta fusionarse con los lisosomas, igual que ocurre con los endosomas tardíos/cuerpos multivesiculares.

9. Patología

Numerosas bacterias usan la vía endocítica, sobre todo fagocitosis, aunque también macropinocitosis, para infectar a las células. El ambiente ácido de los endosomas les es favorable para proliferar y después cruzar su membrana hasta el citosol. Incluso tienen moléculas inhibitoras de la fusión de los endosomas con los lisosomas y así evitar su degradación. También numerosos virus infectan las células a través de los endosomas.

8 Lisosomas

Metchnikoff y sus colaboradores articularon a finales del siglo XIX la idea de que el material fagocitado era digerido en compartimentos intracelulares acidificados. Estos compartimentos fueron descubiertos por C de Duve en 1955 y denominados lisosomas. Aparecen en todas las células eucariotas. Se diferencian de los endosomas porque no poseen receptores para la manosa 6-fosfato y por poseer un pH más ácido. Los lisosomas son orgánulos donde se produce la degradación de moléculas que provienen vía endocitosis o del interior celular a partir de autofagia. Recientemente, a los lisosomas se le atribuye una función trascendental para la célula como sensores del estado metabólico de la célula.

1. Estructura

Son corpúsculos generalmente esféricos de dimensiones variables, de unos 100 a 150 nm de diámetro, con una unidad de membrana y pueden llegar a representar el 5 % del volumen celular, dependiendo de la tasa de digestión que se esté llevando en la célula. El pH interno de los lisosomas es ácido, en torno a 5, y es en ese valor donde las enzimas lisosomales muestran su máxima actividad, por lo que se llaman hidrolasas ácidas. Este pH se consigue gracias a bombas de protones que hay en sus membranas (bomba de protones vacuolar: v-ATPasa) y que introducen protones en el lisosoma acidificando su interior. La membrana de los lisosomas protege al resto de la célula de esta actividad destructora. Esta protección se cree que se lleva a cabo por la capa de glúcidos unidos a las proteínas de la membrana que recubre la superficie interna, y que forman una especie de "glicocálix lisosomal" con los azúcares muchos más compactados pero de tan sólo unos 8 nm de espesor. Es decir, los glúcidos asociados a la monocapa interna actuaría como barrera para impedir el contacto entre las enzimas y la membrana lisosomal. Pero si ésta se rompiera, el pH citoplasmático, próximo a 7,2, sería un obstáculo para la actividad de estas enzimas.

No todos los lisosomas son iguales y pueden contener juegos diferentes de enzimas. Cualquier defecto en alguna de las enzimas que existen en los lisosomas puede acarrear graves consecuencias, puesto que

los productos que ellas deberían degradar quedarían almacenados en la célula como productos residuales. Por ejemplo, la enfermedad de la glucogenosis tipo II. En estos individuos la β -glucosidasa, que cataliza la degradación del glucógeno, está ausente y por ello hay grandes cúmulos de glucógeno en los órganos, que suelen ser letales. Los lisosomas reciben distintos nombres según el estado de degradación de las moléculas que contienen: primarios, secundarios y cuerpos residuales. Los cuerpos residuales contienen material que ya no puede ser degradado y quedan almacenados en el interior celular o, como veremos más adelante, se fusionan con la membrana plasmática expulsando dicho material al medio extracelular.

Los lisosomas contienen transportadores de membrana específicos que van a permitir que los productos de la degradación, tales como aminoácidos, azúcares, nucleótidos, puedan ser transportados al citosol. También en la membrana del lisosoma hay canales que permiten el paso de iones como el potasio, sodio, cloro y calcio. El movimiento de estos iones crean un potencial de membrana en la membrana lisosomal de unos -40 a -20 mV en reposo. Este potencial ayuda a regular el gradiente de protones, y otras actividades lisosomales. También posibilita la liberación de calcio durante la exocitosis de los lisosomas. El ión más abundante en el interior del lisosoma es el sodio.

2. Funciones

Degradación

La función degradativa de los lisosomas es esencial para muchas funciones: degradar comida durante la falta de alimentos, eliminación de componentes celulares dañados, terminación de las señales mitóticas, eliminación de patógenos intracelulares e intracelulares y remodelación de tejidos y células.

Hay tres vías por las que llegan a los lisosomas las moléculas que se tienen que degradar:

a) Los lisosomas son considerados como la estación final de la vía endocítica. La mayoría de las moléculas que van a ser degradadas por esta vía tienen que pasar previamente por los endosomas. Las proteínas que no se reciclan de nuevo a la membrana plasmática o al TGN del aparato de Golgi desde los compartimentos endosomales son degradadas en los lisosomas. La for-

mación de los lisosomas es un asunto controvertido. Unos autores proponen que se forman por gemación o maduración a partir de los endosomas tardíos que ya contienen todas las enzimas degradativas necesarias así como las moléculas a degradar. Otros autores proponen que los lisosomas son orgánulos independientes de los endosomas y que la llegada de moléculas al lisosoma se produce por fusión entre endosomas tardíos y lisosomas. De hecho se han encontrado moléculas que favorecen el reconocimineto y fusión entre endosomas y lisisomas. Sin embargo, ambos procesos podrían ocurrir en la misma célula.

Para que las proteínas integrales de la membrana plasmática sean dirigidas a los lisosomas se ha de producir una ubiquitinación de su parte citosólica, es decir, la adición de una molécula denominada ubiquitina. Ello es necesario para que las proteínas de membrana interaccionen con la maquinaria de reparto que se encuentran en los endosomas y no vuelvan a la membrana citoplasmática en vesículas de reciclado. Las interacciones con diversos complejos proteicos mantienen a las proteínas ubiquitinadas en zonas limitadas de la membrana endosomal, que poseen una cubierta en la que está presente la clatrina. Todo ello hace que sean retenidas en los endosomas tempranos y después transportadas a los cuerpos multivesiculares, a los endosomas tardíos, y de ahí a los lisosomas, donde se degradan. Este mecanismo afecta a receptores, transportadores, canales, etcétera. Los receptores que no son ubiquitinados, pero sí endocitados, cuando llegan a los endosomas tempranos suelen reciclarse hacia la membrana celular.

b) Las partículas obtenidas por fagocitosis siguen una vía propia. Las partículas como bacterias o restos celulares quedan en el interior celular englobadas por membrana formando un compartimento que madurará y se convertirá en el denominado fagosoma. La degradación de estas partículas se produce cuando se fusionan los fagosomas con los lisosomas.

c) Una tercera vía de llegada de moléculas a los lisosomas es la autofagia. Es un proceso ubicuo por el que los orgánulos deteriorados o material interno celular son eliminados. Los lisosomas participan en los diferentes tipos de autofagia. En la macroautofagia cisternas del retículo endoplasmático engloban material

interno celular que va a ser degradado formándose un compartimento denominado macroautofosoma. Este compartimento se fusionará con lisosomas y el material que contiene será degradado.

Hidrolasas ácidas

Pero además a los lisosomas han de llegar las hidrolasas ácidas encargadas de la degradación. Se han encontrado aproximadamente 60 tipos de enzimas lisosomales que degradan proteínas (proteasas), lípidos (lipasas), sacáridos (glicosidasas) y nucleótidos (nucleasas). Éstas enzimas se empaquetan en vesículas en el TGN del aparato de Golgi, las cuales se fusionarán con los endosomas tardíos y desde ahí llegarán a los lisosomas. El mecanismo de selección de estas enzimas lo vimos en el apartado dedicado a los endosomas. En el aparato de Golgi se añade a las enzimas lisosomales un grupo glucídico fosfatado, la manosa-6-fosfato, que es reconocido por un receptor en el TGN del aparato de Golgi. La interacción del dominio citosólico de este receptor con la cubierta de clatrina permite englobar al receptor más la hidrolasa en vesículas que se dirigirán hacia los endosomas tardíos, y desde ahí hasta los lisosomas. Aunque éste sea el mecanismo principal existen otras proteínas que no requieren la fosforilación de las manosas para ir a los lisosomas. Estas proteínas son las integrales de la membrana. Estas proteínas contienen una secuencia de aminoácidos de destino que se encuentra en la cara citosólica de la proteína. Cuando alguna de estas hidrolasas están mutadas los lisosomas no pueden degradar ese molécula concreta y se producen diversas enfermedades según la acumulación de productos determinados. Cuando se acumulan lípidos hay además daños colaterales en mitocondrias y una inhibición de la autofagia.

Sensor metabólico

Los lisosomas no sólo son lugares de degradación sino que participan en la percepción del estado metabólico de la célula. Se ha observado que hay dos poblaciones de lisosomas según su localización en la célula. Una perinuclear más involucrada en la degradación, y otra periférica relacionada con la percepción de la disponibilidad de recursos. Esta población periférica también participa en la reparación de la membrana plasmática tras roturas.

mTOR (en inglés: target of rapamycin) es una quinasa de serina/treonina muy conservada evolutivamente. Hay dos isoformas: mTORC1 y mTORC2. mTORC1 regula el crecimiento y la división celular, y responde a bajos niveles de nutrientes, señales de crecimiento o energía en la célula, equilibrando anabolismo (síntesis) y catabolismo (degradación). La localización de esta proteína en la superficie del lisosoma es crítica para su función. En la membrana del lisosoma hay sensores que detectan el nivel de aminoácidos dentro y fuera del lisosoma. mTORC1 está activada en condiciones de abundancia de alimento. Cuando hay escasez de alimento mTORC1 es inactivada y se inicia el proceso de macroautofagia (degradación de material interno para obtener energía mediante englobamiento por membranas). La inactivación de mTORC1 produce en primer lugar la activación de los genes que disparan la macroautofagia y en segundo lugar el desplazamiento de los lisosomas periféricos hacia el interior celular para que éstos se unan a los autofagosomas (grandes compartimentos que acaban de englobar material interno celular) y producir así la degradación de su contenido para obtener energía.

En estos procesos de degradación intensa relacionados con la macroautofagia hay un aumento de la actividad lisosomal, pero a la vez una disminución del número de lisosomas, puesto que se han fusionado con los autofagosomas para crear los autofagolisosomas (compartimentos que ya están realizando la degradación). Hay un mecanismo denominado ALR (en inglés: autophagic lysosome reformation), o regeneración autofágica de los lisosomas, mediante el cual, tras producirse la degradación del material en los autofagolisosomas, las membranas de estos compartimentos empiezan a formar túbulos y a generar vesículas de los extremos de esos túbulos. Estas nuevas vesículas son en realidad proto-lisosomas que irán madurando (acidificándose) hasta formar lisosomas maduros, regenerando así la población normal de lisosomas. En este proceso participan fosfoinosítidos de la membrana del compartimento, proteínas adaptadoras como la AP2, clatrina, dinamina, microtúbulos y kinesina.

Exocitosis

Se ha creído tradicionalmente que los lisosomas tienen una intercomunicación muy limitada en la ruta vesicular cuando se compara con cualquier otro compartimento membranoso y se han considerado como un compartimento terminal. Durante los últimos años se han ido acumulando evidencias acerca de otra función de los lisosomas: su capacidad de participar en una exocitosis regulada. Por ejemplo, en el hígado se secretan enzimas lisosómicas a la bilis. También se ha observado la exocitosis de orgánulos con características similares a los lisosomas como es el caso de los melanocitos (los gránulos de melanina que pasarán a los queratinocitos que darán el color moreno a la piel). El acrosoma de los espermatozoides, una vesícula cargada de numerosas enzimas hidrolíticas, se libera durante la fecundación. Se ha propuesto desde hace tiempo que las células eucariotas son capaces de eliminar las sustancias que no pueden degradar más y esto sería posible si los lisosomas terminan por expulsar su material cuando se fusionan con la membrana plasmática. En las células de mamíferos donde sólo se produce secreción constitutiva se ha visto que bajo ciertas condiciones pueden realizar exocitosis regulada, por ejemplo, por una elevación de la concentración de calcio intracelular, lo cual ocurre, por ejemplo, durante las pequeñas roturas de la membrana citoplasmática, como vimos en el apartado dedicado a las membranas.

3. Orgánulos relacionados

Algunas células tienen orgánulos que se pueden relacionar con los lisosomas (LRO: lysosomal related organelles) por su composición molecular y características fisiológicas, o son directamente lisosomas modificados. Entre ellos están los melanosomas de los melanocitos, gránulos azurófilos y basófilos de los leucocitos y mastocitos, gránulos líticos de los linfocitos T, gránulos densos de los megacariocitos, cuerpos lamelares de las células tipo II del pulmón, cuerpo Weibel-Palade de las células endoteliales y gránulos de los osteoclastos. La función de la mayoría de estos orgánulos es liberar contenido cuando la célula recibe ciertos estímulos.

4. Patologías

Se han detectado más de 60 enfermedades asociadas a los lisosomas. Fallos en las hidrolasas o permeasas llevan a enfermedades severas denominadas desórdenes de almacenamiento lisosomales, que conllevan malfuncionamiento metabólico, neurodegeneración, e in-

hibición severa del crecimiento. Por ejemplo, la enfermedad de Niemann-Pick tipo C se debe a la ausencia de transportadores de colesterol (NPC1 y NPC2) que lleva a una acumulación de colesterol en los lisosomas. Durante el envejecimiento se produce una pérdida progresiva de la actividad lisosomal que parece contribuir a los problemas asociados a la edad.

9 En células vegetales

Las rutas del tráfico vesicular en las células vegetales siguen el mismo esquema básico que el de las células animales. Sin embargo, presentan algunas diferencias (Figura 24). En las células vegetales destacan las vacuolas, orgánulos que realizan funciones esenciales y que necesitan comunicarse con otros orgánulos celulares. Además, los procesos de endocitosis y exocitosis están menos desarrollados que en las células animales, y no se han encontrado endosomas tempranos ni de reciclado, haciendo esta función el compartimento TGN del aparato de Golgi.

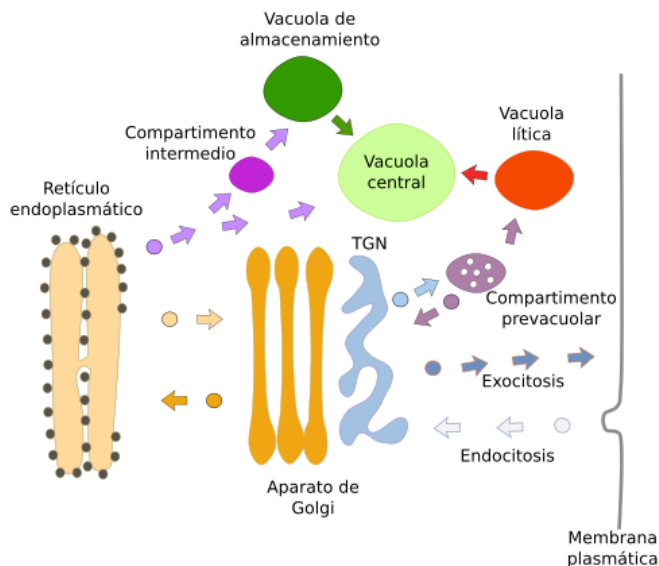


Figura 24: Esquema resumido del tráfico vesicular en una célula vegetal (Modificado de Hawes et al., 1999. Para incorporar tráfico no convencional ver Gorin y Di Sansebastiano 2017).

Al igual que en las células animales, el retículo endoplasmático es el lugar de síntesis de nuevas proteínas, lípidos y algunos azúcares que entran en la ruta vesicular. En el retículo se dan también procesos de control de calidad de las proteínas sintetizadas.

Las zonas del retículo endoplasmático que se comunican con el aparato de Golgi y las propias cisternas del aparato de Golgi están muy próximas físicamente. En las células vegetales no existe un aparato de Golgi centralizado como ocurre en las células animales sino varios dispersos por la célula. Algunos autores incluso

dudan de que ambos orgánulos estén comunicados por vesículas, sino por contacto directo mediante puentes membranosos. De cualquier modo, sea comunicación vesicular o no, lo que parece no existir es un compartimento ERGIC (complejo intermedio entre el retículo y el Golgi).

Además de hacia el aparato de Golgi, el retículo endoplasmático puede enviar vesículas hacia las vacuolas. Esta ruta se ha demostrado porque en algunas vacuolas de almacenamiento la mayoría de las proteínas no están glucosidadas. Esta comunicación puede ser indirecta puesto que las vesículas del retículo endoplasmático se fusionan con un compartimento denominado intermedio, el cual se fusionaría con las vacuolas de almacenamiento. Otra vía directa entre retículo endoplasmático y vacuolas mediado por vesículas parece estar relacionado con la autofagia. También existen indicios de que existe una vía directa desde el retículo endoplasmático hasta la membrana plasmática, aunque no está completamente demostrado.

La vía por defecto es la que lleva desde el retículo endoplasmático al aparato de Golgi. En el aparato de Golgi se sintetizan carbohidratos importantes para la pared celular y es una estación de reparto de material. Desde el aparato de Golgi se envían vesículas hacia los compartimento prevacuolares, los cuales, tras madurar, se fusionarán con las vacuolas, y tanto sus membranas como su contenido formará parte de la vacuola. Se cree que las vacuolas de almacenamiento y líticas se fusiona en las célula adultas modificando por tanto las rutas de tráfico vesicular. Existe también una vía de reciclado desde el compartimento prevacuolar al aparato de Golgi. El destino por defecto desde el aparato de Golgi es la membrana plasmática con la función principal de renovar sus moléculas y contribuir a la síntesis y modificación de la pared celular. Tanto las proteínas destinadas a las vacuolas de almacenamiento como a las líticas necesitan señales que las etiqueten hacia sus destinos, pero las que van a la membrana no necesitan señal y no se conoce el mecanismo por el cual son empaquetadas en vesículas hacia la membrana.

Las vesículas de endocitosis se fusionan principalmente con el dominio TGN del aparato de Golgi o

directamente con las vacuolas. La endocitosis en plantas es poco conocida y parece que su importancia es menor que en los animales. Poseen endocitosis mediada por vesículas recubiertas por clatrina y también endocitosis independiente de clatrina. Aunque hay evidencias de la existencia de endocitosis y de su maquinaria en plantas, se han perdido algunas proteínas, como algunas Rab, respecto a otros grupos de eucariotas. Son aquellas relacionadas con los fagosomas, los cilios y los lisosomas. Por ejemplo, Rab20 y Rab22 son importantes para los autofagosomas. Estas Rab se habrían perdido en la línea evolutiva de las plantas. Tampoco se ha encontrado endocitosis mediada por caveolina. La endocitosis está regulada por muchos factores. Así, hormonas como la auxina, por unión a sus ligandos, controlan los transportadores de metales y por tanto la concentración de metales que absorbe la raíz.

En las plantas no se han caracterizado compartimentos que se asemejen a los endosomas tempranos y de reciclado que hay en las células de los animales. Esta función la desempeña el dominio TGN del aparato de Golgi. Sin embargo, los compartimentos prevacuolares se han homologado con los endosomas tardíos/cuerpos multivesiculares. Estos compartimentos prevacuolares se originarían a partir del TGN del aparato de Golgi (o desde el retículo endoplasmático). En las células de las plantas hay evidencias de la liberación de exosomas, las vesículas de los compartimentos prevacuolares que quedan en el exterior celular tras fusionarse estos compartimentos

con la membrana plasmática. Las células vegetales no poseen lisosomas típicos, pero sí procesos degradativos que se dan en las vacuolas digestivas o líticas.

Las vacuolas son orgánulos delimitados por una membrana con diversas funciones (digestión, almacenamiento, mantenimiento de la presión hídrica, etcétera). También son variadas en cuanto a formas y tamaños. Aunque funcionalmente distintas, pueden fusionarse y formar una gran vacuola central. Las vacuolas líticas son equivalentes a los lisosomas de las células animales y se encargan de degradar materiales de desecho. Las de almacenamiento son importantes durante la germinación de semillas o para la respuesta de los vegetales a señales ambientales. Sin embargo, la más importante es la vacuola central que regula el balance hídrico de la célula.

En plantas existe otro compartimento membranoso que es pasajero y que se forma durante la división celular. Se denomina fragmoplasto. El fragmoplasto es la estructura formada por microtúbulos y vesículas a partir de la cual se formarán las membranas plasmáticas de dos células durante la citocinesis y también formará la lámina media de la pared celular que las separará. Su creación está condicionada por la actuación del citoesqueleto, el cual dirige las vesículas que previenen desde el aparato de Golgi hasta la zona central, donde se fusionan para formar la placa central. Ésta es el ruta vesicular por defecto cuando la célula se está dividiendo.

10 Vacuolas

Las vacuolas son compartimentos delimitados por una sola membrana y presentes en las células vegetales y hongos, incluidas las levaduras. Son un elemento esencial para la función de las células de las plantas: mantienen la forma y el tamaño de la célula mediante turgencia y almacenan sustancias de diverso tipo, además de ser centros de degradación.

1. Características

Normalmente son orgánulos muy grandes, pudiendo representar en las células maduras hasta el 90 % del volumen celular total (Figuras 25 y 26). Son el compartimento más grande de las células vegetales. El nombre de vacuola viene del latín "vacuus" que significa vacío, lo cual es claramente un error puesto que siempre están llenas de soluciones acuosas más o menos concentradas. La membrana de las vacuolas se denomina tonoplasto y es una parte esencial en la función de estos orgánulos.

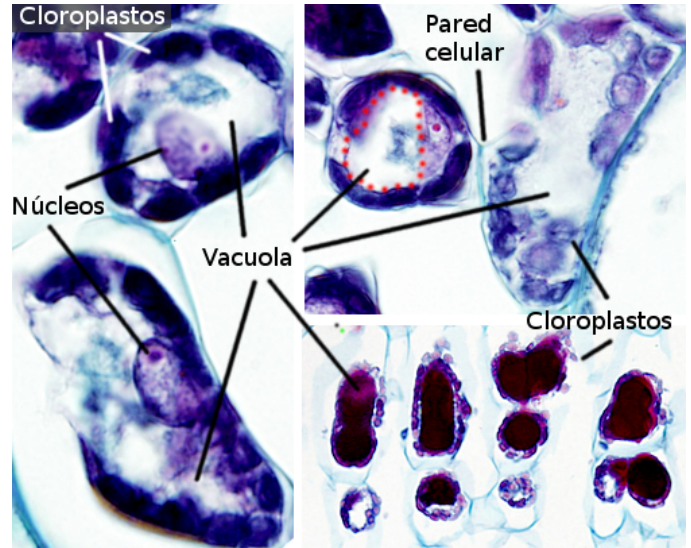


Figura 26: Imágenes de parénquima clorofílico de tojo (izquierda y arriba) donde se observan los cloroplastos, los núcleos y la vacuola (espacio claro) ocupando la mayor parte del volumen celular. La imagen de abajo (derecha) es parénquima clorofílico de hoja de pino a menor aumento donde se observan las vacuolas con su contenido teñido.

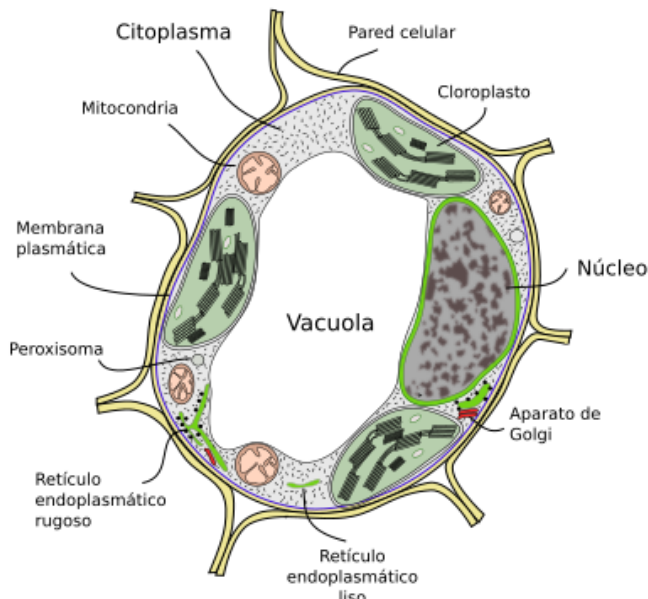


Figura 25: Esquema de una célula parenquimática típica que contiene una vacuola central.

La forma de las vacuolas es normalmente redondeada, aunque en realidad depende de las circunstancias de la célula. Así, puede alternar entre una gran vacuola con su membrana lineal ocupando la

mayor parte de la célula o hacer numerosos repliegues en su membrana y crear estructuras pasajeras y móviles tales como las hebras transvacuolares y los bulbos. Las hebras transvacuolares son pequeños canales o conductos que están en el interior de la vacuola y comunican diferentes partes del tonoplasto. Por estos conductos viaja citosol e incluso algunos orgánulos como cisternas del aparato de Golgi, mitocondrias, plastos, y endosomas. Son caminos por los que se comunican directamente regiones del citoplasma periférico, incluyendo a la región perinuclear. Contribuyen también a la posición del núcleo. Son gobernados por los filamentos de actina. Los bulbos son estructuras independientes y esféricas de 1 a 22 μm de diámetro que se localizan en el interior vacuolar. Están formados por una doble membrana y hay material citoplasmático entre ambas membranas. Algunos autores proponen que podrían ser artefactos.

La formación de nuevas vacuolas se produce por la fusión de vesículas liberadas desde el lado trans del aparato de Golgi. La fusión de estas vesículas forman las denominadas provacuolas, de las cuales puede haber cientos en las células meristemáticas. Las provacuolas a su vez se fusionan para formar vacuolas

de mayor tamaño hasta que forman la vacuola principal. Sin embargo, el retículo endoplasmático podría estar también directamente implicado en la formación y crecimiento de las vacuolas en algunos tipos celulares, sobre todo en las semillas. Una vez formadas, la llegada de vesículas desde principalmente el aparato de Golgi y la membrana plasmática contribuyen a su tamaño.

En las plantas hay diferentes tipos de vacuolas dependiendo de la función que lleven a cabo. Una misma célula puede contener distintos tipos de vacuolas, incluso una misma vacuola puede cambiar su repertorio de moléculas para realizar una función diferente a la que venía haciendo. Hay dos grandes tipos de vacuolas: las que almacenan proteínas y las líticas. Se diferencian por su pH, que es ácido en las líticas y neutro en las que funcionan como almacén. Las que almacenan proteínas se encuentran sobre todo en semillas donde acumulan muchas proteínas para la germinación. También almacenan moléculas antipatógenas. Las vacuolas líticas son las predominantes en la mayoría de las células de la planta. Por eso también se llaman vacuolas vegetativas o principales. Éstas forman un gran compartimento con una solución ácida diluida que contiene sales (potasio, sodio), metabolitos (azúcares, ácidos orgánicos) y algunos pigmentos. Algunos de estos componentes son introducidos en contra de gradiente de concentración desde el citosol. El pH típico de la vacuola vegetativa es de 5 a 5.5, aunque puede llegar a 2 en el limón, o incluso 0.6 en algunas algas.

2. Funciones

La vacuola es un orgánulo central en la fisiología y homeostasis de las células vegetales, lo cual implica realizar una variedad de funciones, las cuales pueden depender del tipo celular considerado. Entre las principales funciones de las vacuolas están las de mantener la forma y tamaño de la célula mediante turgencia, almacén (azúcares, metabolitos, lípidos, aminoácidos, enzimas, proteínas, antocianinas). También sustancias tóxicas y moléculas dedicadas a la defensa de las plantas contra patógenos y herbívoros.

Turgencia

La turgencia celular es una medida de la presión

hidrostática ejercida contra las paredes celulares de las células vegetales. Esta turgencia está controlada por las vacuolas, las cuales pueden incorporar sustancias, como iones, en su interior para crear ambientes osmóticos variables respecto al citoplasma, lo que produce flujos de entrada y salida de agua. Esta capacidad de transporte de moléculas en contra de gradientes reside fundamentalmente en la membrana de la vacuola, donde hay dos bombas (ATPasa-H⁺ y pirofosfatasa-H⁺) que crean gradientes de protones con gasto de energía, y que son utilizados para el transporte de otras moléculas. La capacidad de acumular agua en la vacuola es crucial para el crecimiento del tamaño celular tras la mitosis, que se puede incrementar de 10 a 20 veces el tamaño inicial, lo cual es un factor importante en el crecimiento de los órganos vegetales. El crecimiento mediante turgencia es una buena estrategia, puesto que se gasta menos energía en introducir agua en la célula que en sintetizar proteínas nuevas (que es lo que hacen las células animales para crecer). Es interesante que esta acumulación de agua se haga en la vacuola, porque si se hiciera en el citoplasma, el contenido de éste se diluiría tanto que la célula no sería viable.

Almacén de sustancias

Las vacuolas son un punto de llegada del tráfico vesicular y, dependiendo del tipo celular, son centros de almacenamiento de azúcares y proteínas. Esto es particularmente claro en las semillas donde las vacuolas son centros de almacenamiento proteico, reservas que serán movilizadas durante la germinación. Después, en las células diferenciadas, estas vacuolas se convierten en líticas. Por otra parte, las plantas no tienen un sistema de excreción como los animales, ni se pueden mover para evitar sustancias tóxicas, de manera que la estrategia es almacenarlas. Así, en las vacuolas se almacenan algunos productos de desecho del metabolismo y sustancias potencialmente tóxicas para la célula como metales pesados tales como el cadmio, zinc o níquel. Pero también almacenan otras sustancias como algunos pigmentos, por ejemplo las antocianinas en los pétalos (acumuladas en las células epidérmicas), sustancias tóxicas para evitar a los herbívoros, resinas, alcaloides como el opio, etcétera. Gran parte del sabor de las frutas y verduras se debe a las moléculas que se acumulan en

las vacuolas. Degradación

Las vacuolas líticas se dan en tejidos vegetativos de la planta, por eso también se llaman vacuolas vegetativas. En estas vacuolas se acumulan enzimas como proteasas y nucleasas, además de un conjunto de proteínas relacionadas con la defensa frente a patógenos. Las vacuolas tienen un pH ácido que consiguen con bombas de protones localizadas en sus membranas. De este modo actúan como lugares para la degradación de moléculas. Tendrían una misión similar a los lisosomas de las células animales. Al igual que los lisosomas, también participan en los procesos degradativos durante la autofagia. En las vacuolas se encuentran las denominadas enzimas vacuolares procesadoras las cuales participan en la conversión de los precursores moleculares que llegan a la vacuola en productos activos y también en el mecanismo de apoptosis.

Apoptosis

Las vacuolas participan en la apoptosis de plantas por un proceso denominado autólisis. Hay un tipo de muerte celular de las células vegetales que se llama muerte celular hipersensitiva, que se produce cuando se rompe la membrana de la vacuola.

Otras

Hay vacuolas especializadas en diferentes tejidos. Por ejemplo, en los tegumentos internos de la cubierta de las semillas acumulan flavonoides, los cuales dan color a los pétalos, protegen de los rayos ultravioleta a semillas y a otras estructuras, sirven como defensa frente a estrés. Estas moléculas son sintetizadas en las membranas del retículo, pero en su lado citosólico y translocados a las vacuolas para su procesamiento final. Cruzan la membrana gracias a unos transportadores específicos. Aunque podrían también entrar en el propio retículo y desde ahí ser transportados a las vacuolas por el tráfico vesicular.

Algunas plantas, como las brassicales, tienen vacuolas en sus partes vegetativas que funcionan como repelestes de hervíboros puesto que acumulan proteínas, como las mirosinasas, que al ser liberadas por el hervívoro degradan otros compuestos de la hoja y dan productos tóxicos para el animal. Las células que acumulan mirosinasas en sus vacuolas se llaman

células de mirosina y se localizan cerca de los haces conductores de las hojas.

Las plantas carecen de sistema inmune por lo que cada célula tiene que protegerse a sí misma. En la vacuola se hayan proteínas de defensa y enzimáticas. Hay dos mecanismos de defensa que llevan a cabo las vacuolas (Figura 27): el colapso de su membrana y la fusión de esta con la membrana plasmática. Las infecciones víricas llevan a la rotura de la membrana de la vacuola y a la liberación de sus enzimas al citosol, donde degrada los virus que se encuentren proliferando en el citosol. La fusión de la membrana de la vacuola con la membrana permite liberar las enzimas y proteínas de defensa al exterior celular y atacar a las bacterias que proliferan extracelularmente.

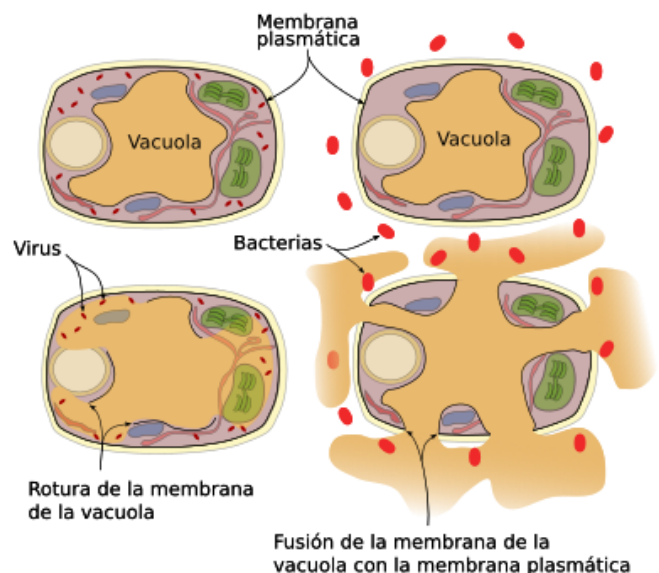


Figura 27: Mecanismos de protección de las vacuolas. Rotura de su membrana y degradación del contenido citoplasmático o fusión con la membrana plasmática y liberación de las enzimas líticas al exterior celular. (Modificado de Shimada et al., 2018)

3. Ruta vesicular

Las vacuolas forman parte de la ruta del tráfico vesicular. Más concretamente se pueden considerar como producto final resultado del tráfico vesicular, puesto que la formación y mantenimiento de las vacuolas depende del sistema de este tráfico. A ellas llegan vesículas con moléculas que tiene que almacenar,

o enzimas para la degradación, así como todos las moléculas que componen su membrana. A la vacuola se puede llegar por diferentes caminos:

Retículo endoplasmático - Aparato de Golgi - Vacuola; Retículo endoplasmático - Aparato de Golgi - Compartimento prevacuolar - Vacuola. Esta ruta es la típica para llevar enzimas hidrolíticas a la vacuola. Los compartimentos prevacuolares se podrían equiparar a los cuerpos multivesiculares de los animales. Al contrario que en las células animales, las enzimas líticas no poseen una manosa-6 fosfato para su selección en el lado trans del aparato de Golgi, sino que se realiza mediante un péptido señal que contienen en su secuencia de aminoácidos. Hay péptidos señal específicos para las vacuolas líticas y otros para las vacuolas de almacén. Todas las proteínas que van a las vacuolas necesitan un señal de reparto específica. Hay 3 señales: secuencias específicas de aminoácidos, aminoácidos hidrófobos y otras no conocidas. Para cada una tiene que haber receptores específicos.

Retículo endoplasmático - Vacuola. Directamente desde el retículo endoplasmático rugoso. Vía que parece importante en células como las de las semillas, donde el material que se aporta es fundamentalmente de reserva. Esta ruta sería muy frecuente en estas células, mientras que en otros tipos celulares como en las hojas sería relativamente rara. Las vesículas que se forman para este transporte son independientes de la cubierta COP II, que es necesaria para llegar al aparato de Golgi. En este camino directo a la vacuola hay a veces una parada en forma de compartimentos intermedios, los cuales son compartimentos pasajeros donde se retienen a las proteínas antes de que lleguen a la vacuola. Esta vía directa retículo-vacuola parece ser una modificación del mecanismo molecular de la autofagia que las plantas utilizan para almacenar sustancias en la vacuola.

Membrana celular - Vacuola. Las vesículas de endocitosis se pueden fusionar directamente con la vacuola, la cual actuaría como los endosomas tempranos.

11 Bibliografía

Antonny B, Schekman R. 2001. ER export: public transportation by the COPII coach. *Current opinion in cell biology*. 13:438-443.

Cabrera M, Ungermann C. 2010. Guiding endosomal maturation. *Cell*. 141:404-406.

Cheng JPX, Nichols BJ. 2016. Caveolae: one function or many? *Trends in cell biology*. doi:10.1016/j.tcb.2015.10.010.

Dikeakos, J.D., Reudelhuber, T.L. 2007. Sending proteins to dense core secretory granules: still a lot to sort out. *Journal of cell biology*. 117; 191-196.

English AR, Zurek N, Voeltz GK. 2009. Peripheral ER structure and function. *Current opinion in cell biology*. 21:506-602.

Daleke DL. 2007. Phospholipid Flippases. *The journal of biological chemistry*. 282:821-825.

Farquhar, MG, Palade GE. 1981. The Golgi apparatus (Complex) - (1954-1981) - from artifact to center stage. *The journal of cell biology*. 91: 77s-173s.

Glick, BS, Luni A. 2011. Models for Golgi traffick: a critical assessment. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 3: a005215.

Gorin DR, Di Sansebastiano GP. 2017. Protein and membrane trafficking routes in plants: conventional or unconventional? *Journal of experimental botany*. 69: 1-5.

Hawes CR, Brandizzi F, Andreeva AV. 1999. Endomembranes and vesicle trafficking. *Current opinion in plant biology*. 2:254-461.

Marty F. 1999. Plant vacuoles. *Plant cell* 11:587-600.

Mayor S, Pagano RE. 2007. Pathways of clathrin-independent endocytosis. *Nature reviews in molecular and cell biology*. 8:603-612.

Neefjes J, Jongsma MML, Berlin I. 2017. Stop or go? Endosome positioning in the establishment of compartment architecture, dynamics, and function.

Trends in cell biology. 27:580-594.

Nixon-Abell J, Obara, CJ, Weig VA, Li D, Legant WR, Xu CS, Pasolli HA, Harvey K, Hess HF, Betzig E, Blackstone C, Lippincott-Schwartz J. 2016. Increased spatiotemporal resolution reveals highly dynamic dense tubular matrices in the peripheral ER. *Science*. 354: 3928-2.

Paez-Valencia J, Goodman K, Otegui MA. 2016. Endocytosis and endosomal trafficking in plants. *Annual review in plant Biology*. 67:309-335.

Pereira C., Pereira S, Pissarra J. 2014. Delivering of proteins to the plant vacuole—an update. *International journal of molecular sciences* 15: 7611-762.

Rind HB, Butowt R, von Bartheld CS. 2005. Synaptic targeting of retrogradely transported trophic factors in motoneurons: comparison of glial cell line-derived neurotrophic factor, brain-derived neurotrophic factor, and cardiotrophin-1 with tetanus toxin. *Journal of Neurosciences*. 25, 539-549.

Saito K, Maeda M, Katada T. 2017. Regulation of the Sar1 GTPase cycle is necessary for large cargo secretion from the endoplasmic reticulum. *Frontiers in cell and development biology*. 5: 75.

Shimada T, Takagi J, Ichino T, Shirakawa M, Hara-Nishimura I. 2018. Plant vacuole. *Annual review in plant biology*. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040508>.

Taiz L. 1992. The plant vacuole. *Journal of experimental biology* 172: 113-122.

Théry C. 2011. Exosomes: secreted vesicles and intercellular communications. *F100 Biology reports*. 3:15. doi:10.3410/B3-15.

Vildanova MS, Wang W, Smirnova EA. 2015. Specific organization of Golgi apparatus in plant cells. *Biochemistry (Moscow)*. 79: 894-906.

Witkos TM, Lowe M. Recognition and tethering of transport vesicles at the Golgi apparatus. *Current opinion in cell biology*. 2017. 47:16–23.

Zanetti G, Pahuja KB, Studer S, Shim S, Schekman R. 2012. COPII and the regulation of protein sorting in mammals. *Nature cell biology*. 14: 20-28.

Zhang C, Hicks G R, Raikhel NV. 2014. Plant vacuole morphology and vacuolar trafficking. *Frontiers in plant sciences* 5: 476.