



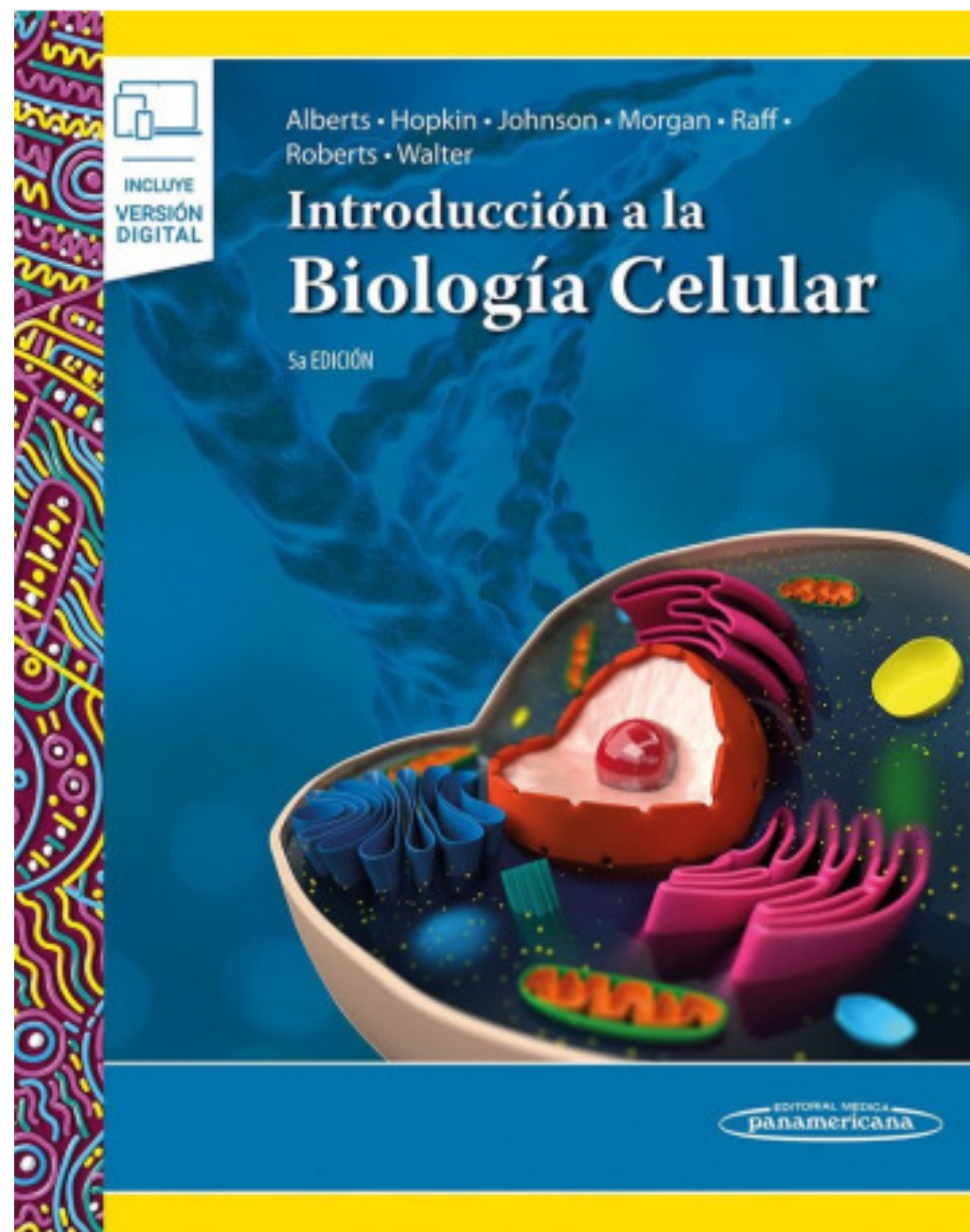
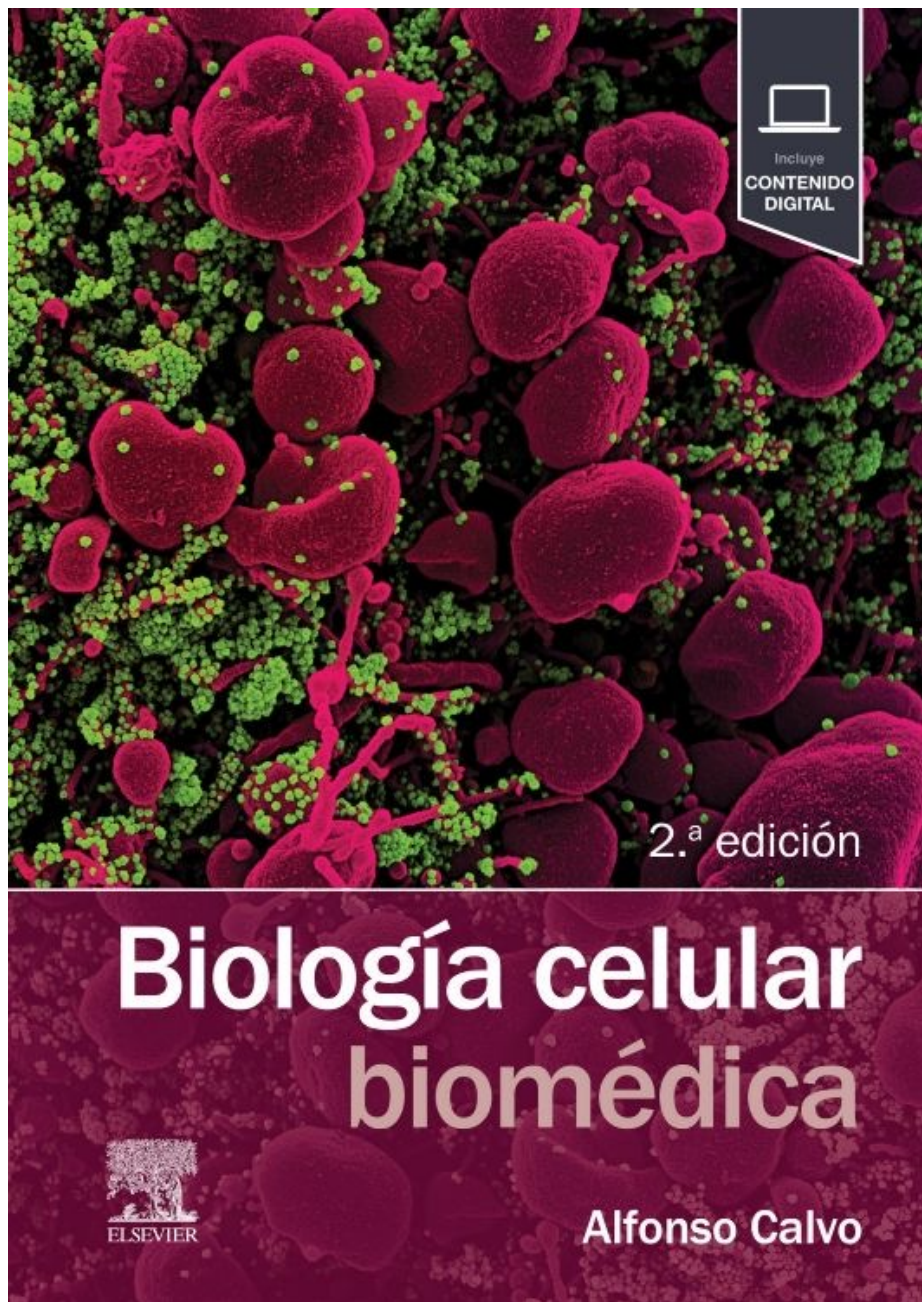
Universidad de Valladolid

Introducción. Organización de los seres vivos

Prof. Ricardo Usategui Martín

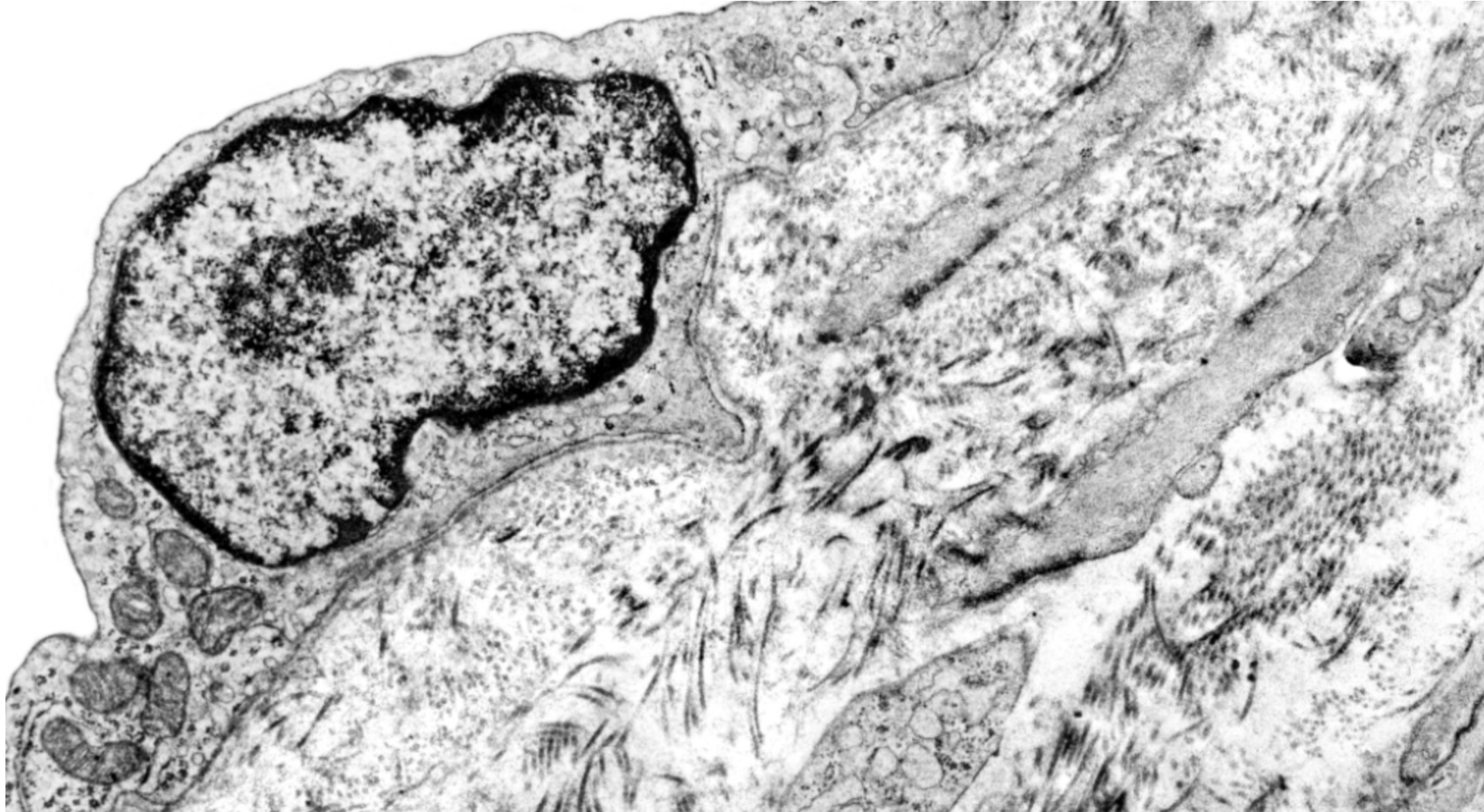
Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



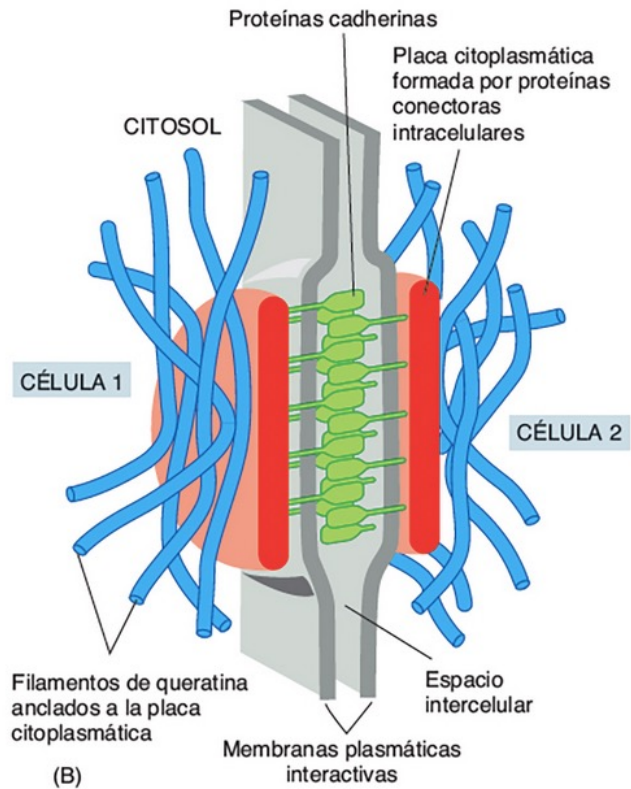
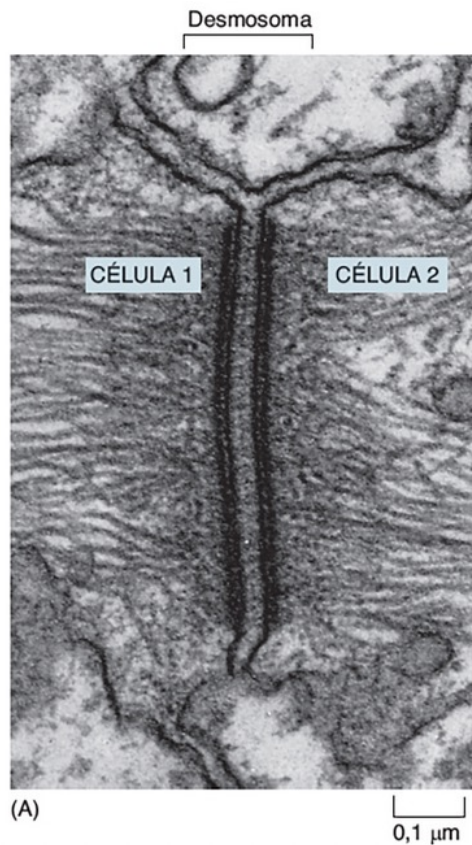
Biología celular

Estructura, función y el comportamiento de las células

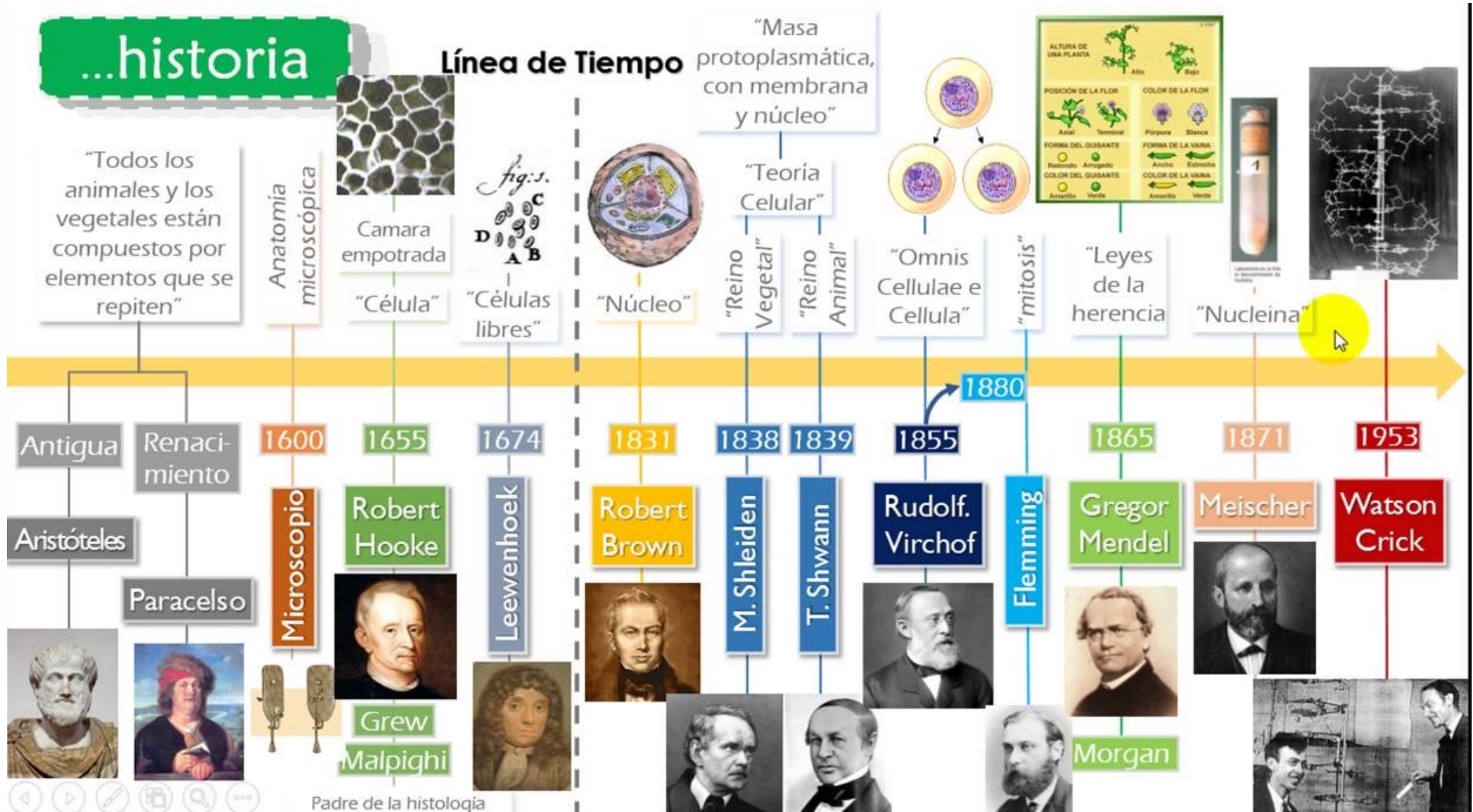


Biología celular

Estructura, función y el comportamiento de las células



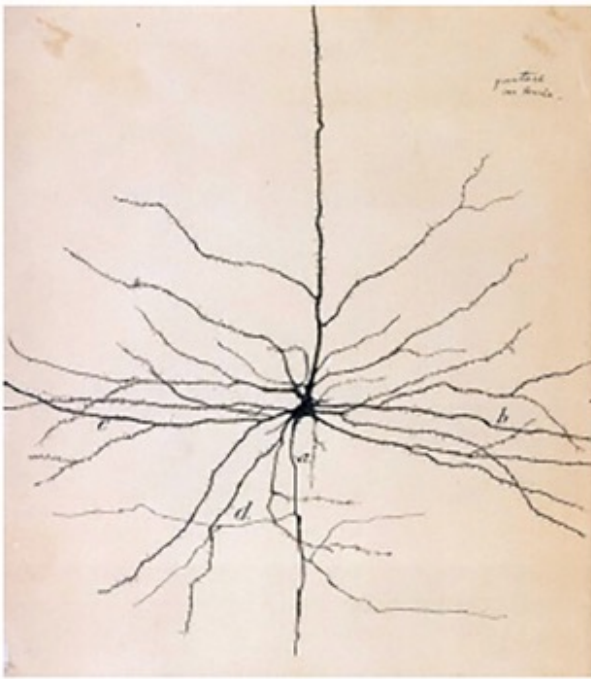
Todos los organismos estamos formados por células



Todos los organismos estamos formados por células

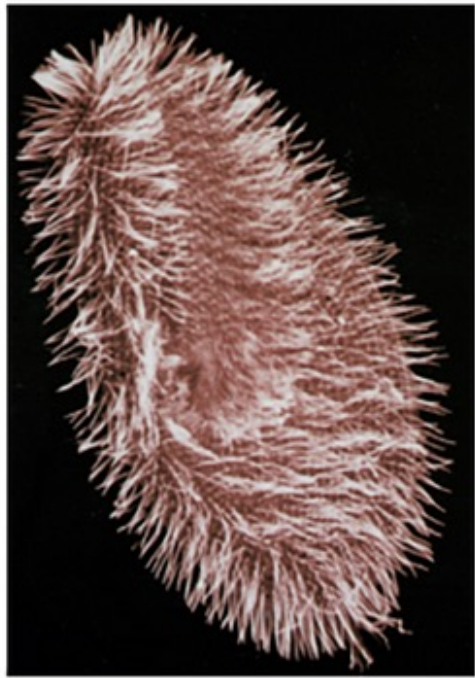
Las células varían enormemente en aspecto y función

Neurona



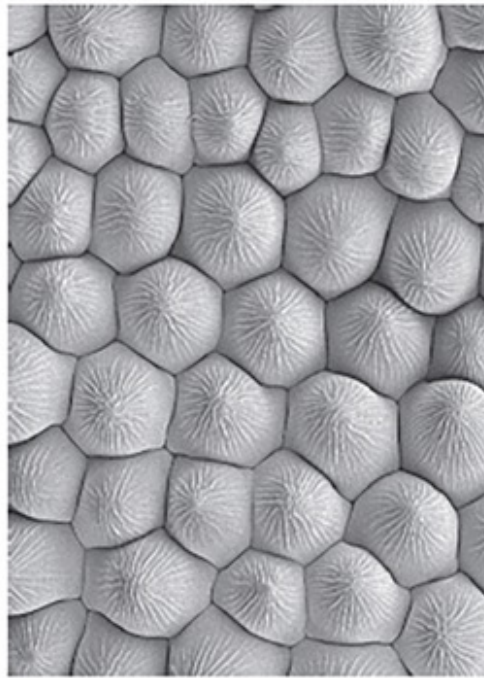
(A) 100 μm

Protozoo



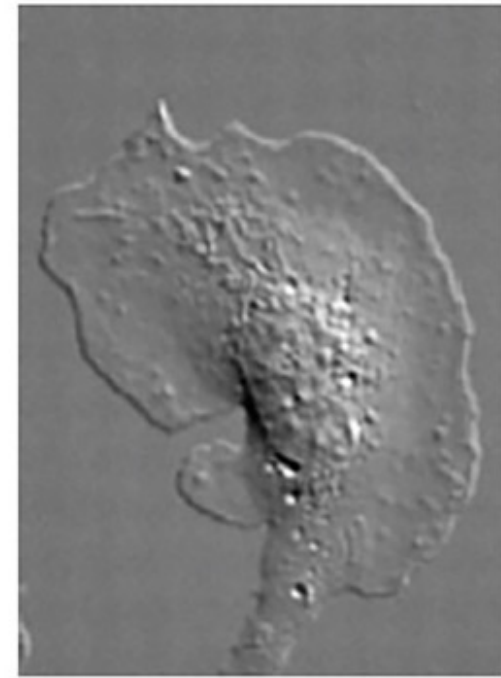
(B) 25 μm

Célula vegetal



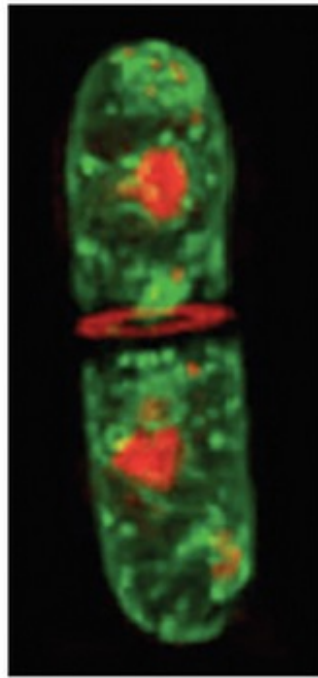
(C) 25 μm

Macrófago



(D) 5 μm

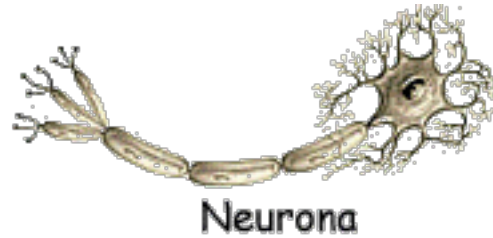
Levadura



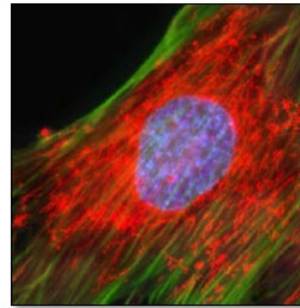
(E) 3 μm

Todos los organismos estamos formados por células

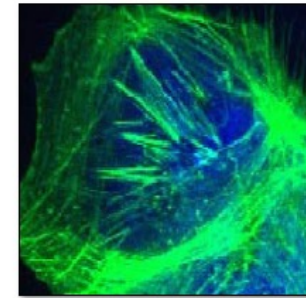
Dentro de un mismo organismo, alto grado de especialización y diferenciación



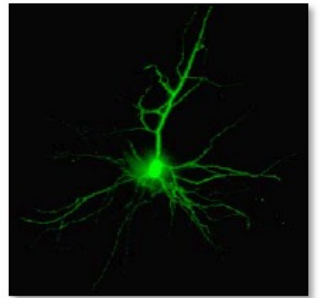
Pulmón



Tiroides



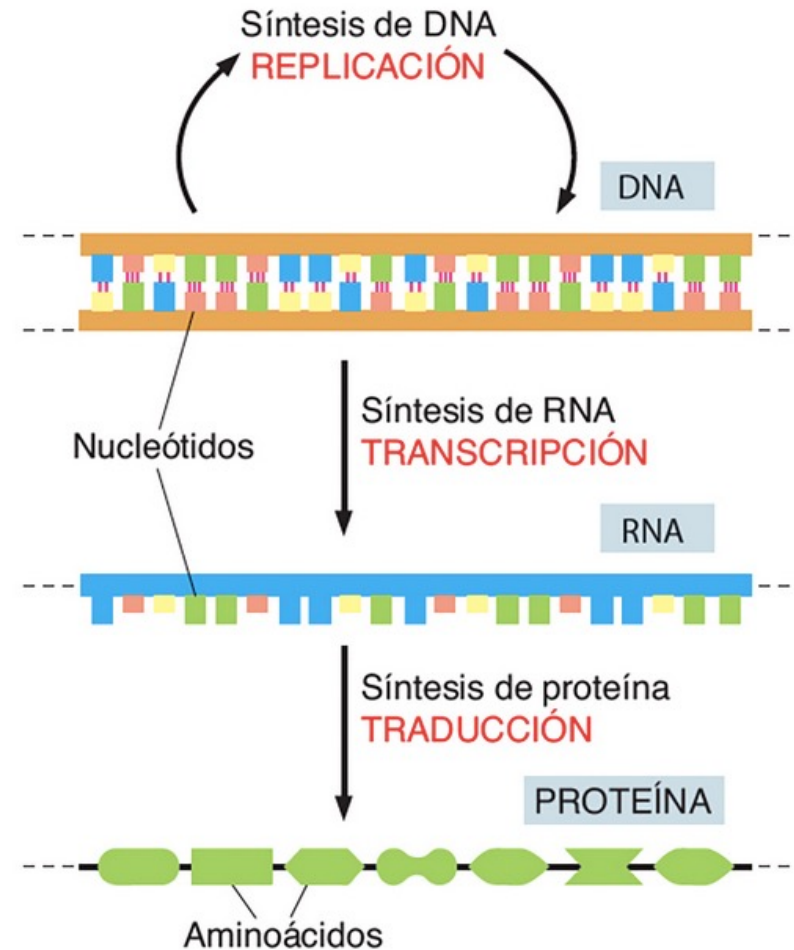
Neurona



Se estima que el cuerpo adulto de un humano contiene **entre 10 y 100 billones** de células.

Los diferentes tipos de células tienen una química básica general

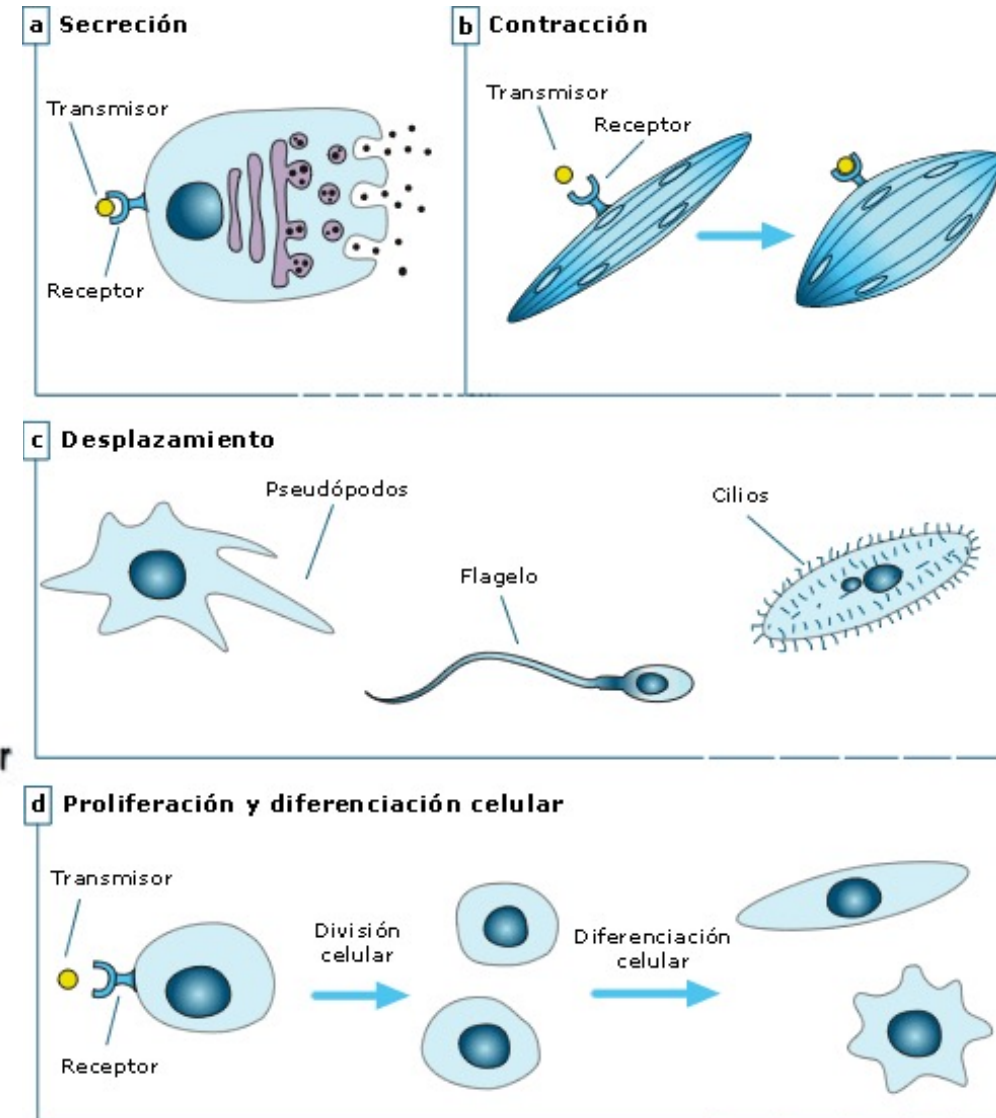
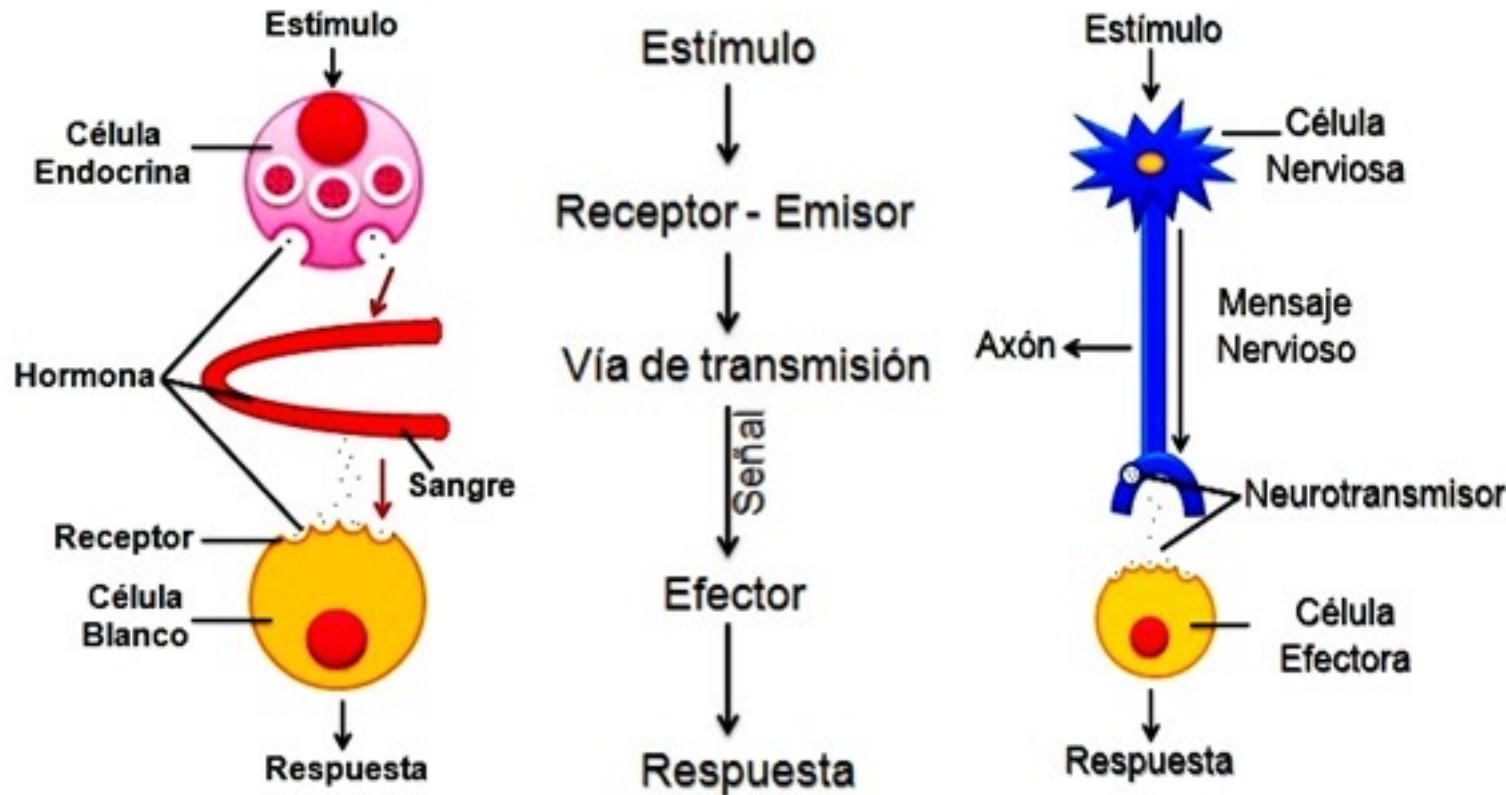
- Respuesta a estímulos
- Reproducción
- Metabolismos y homeostasis
- Obtención de energía
- Adaptación al medio
- Movimiento
- Adaptación y evolución



La información fluye

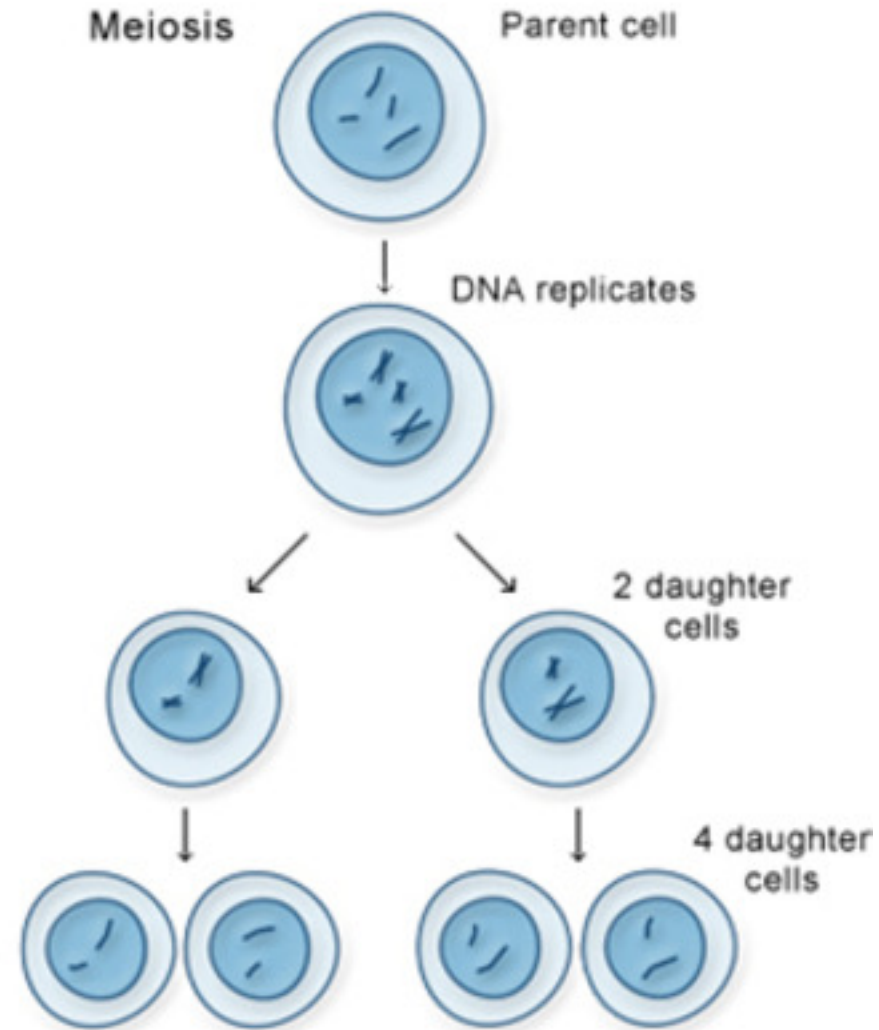
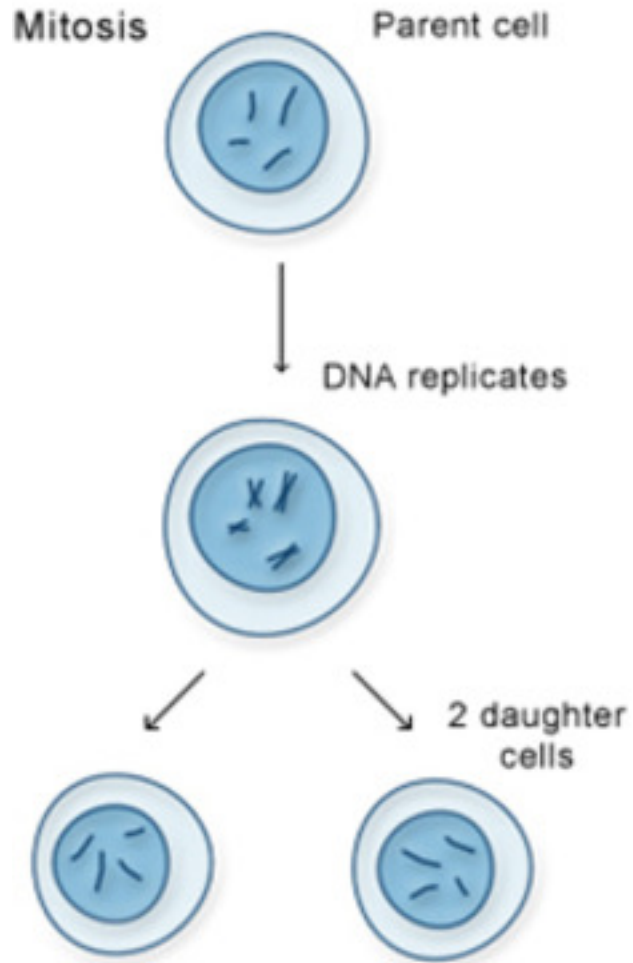
Los diferentes tipos de células tienen una química básica general

Las células responden a estímulos



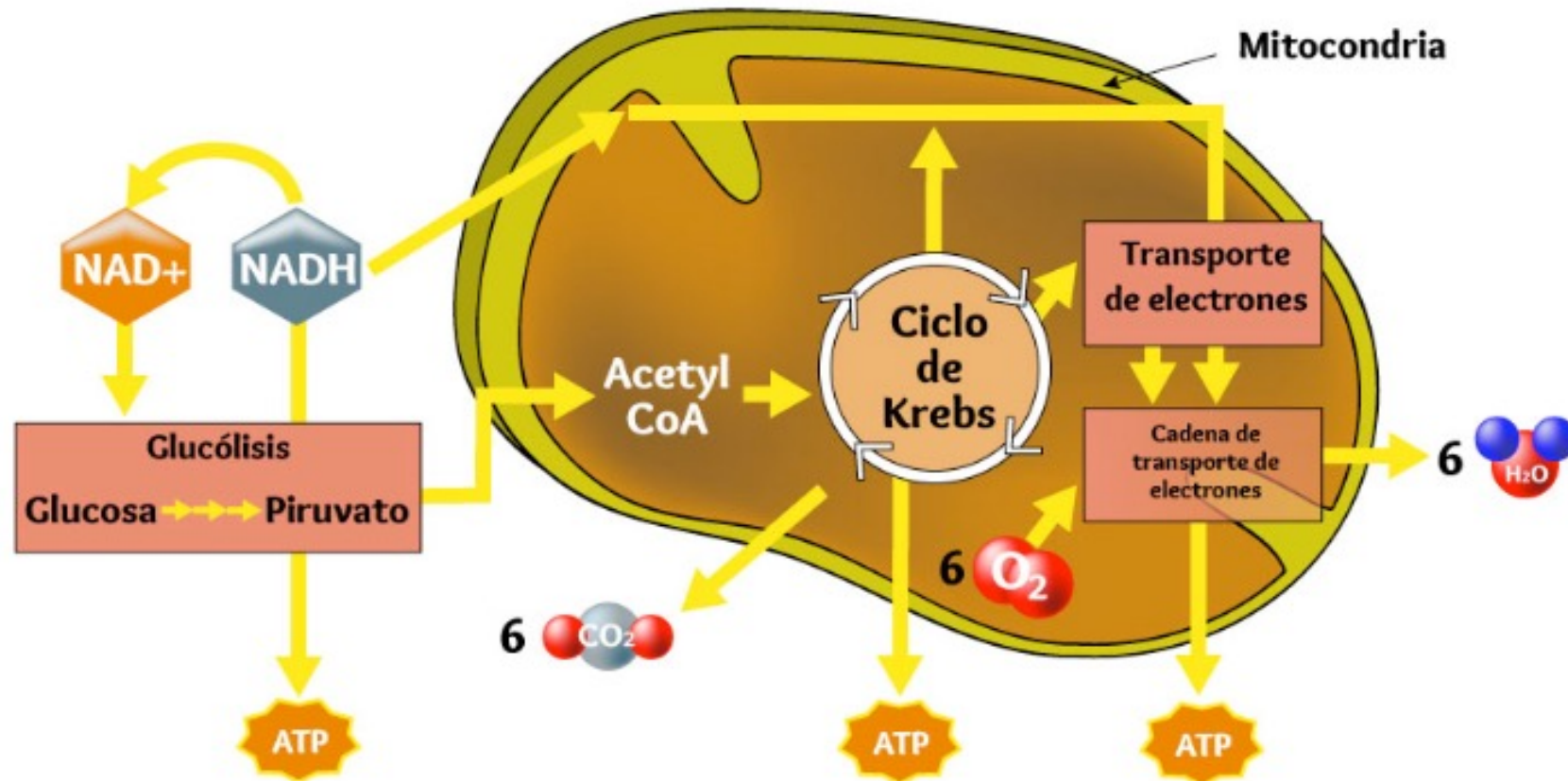
Los diferentes tipos de células tienen una química básica general

Las células se dividen



Los diferentes tipos de células tienen una química básica general

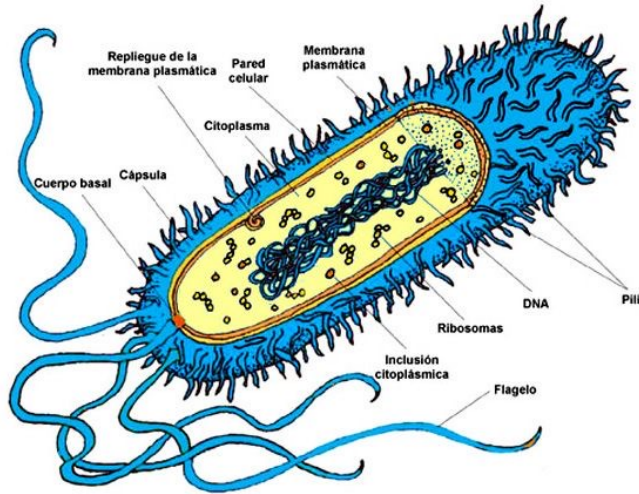
Obtención de energía



Organización de los seres vivos

Organismos unicelulares vs. multicelulares

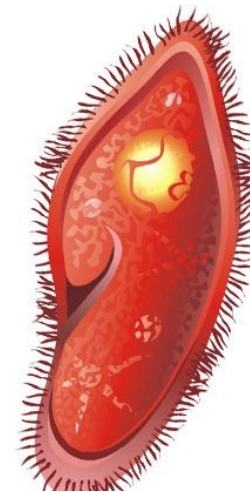
Bacteria



Alga Unicelular



Protozoos

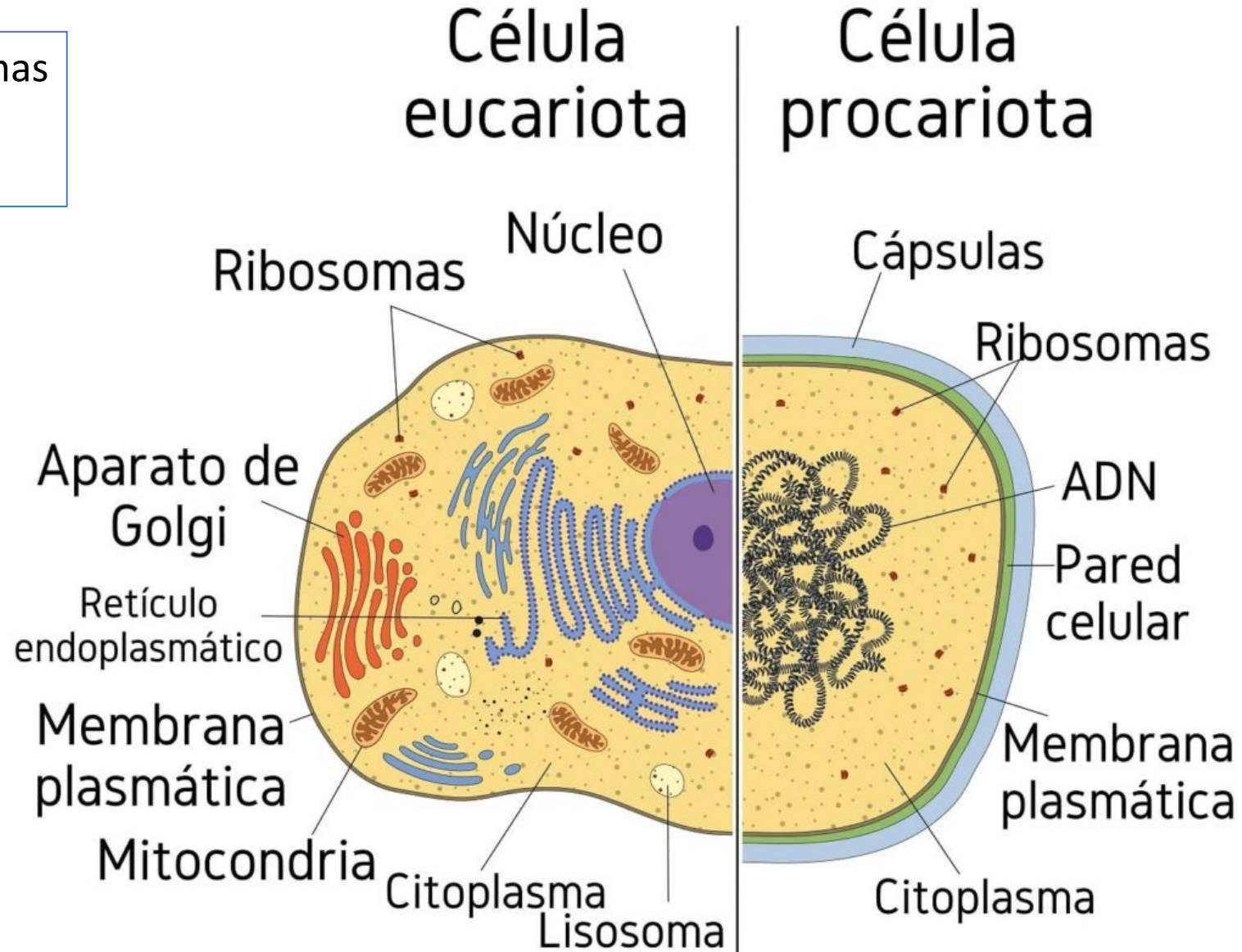


Hongos (levaduras)

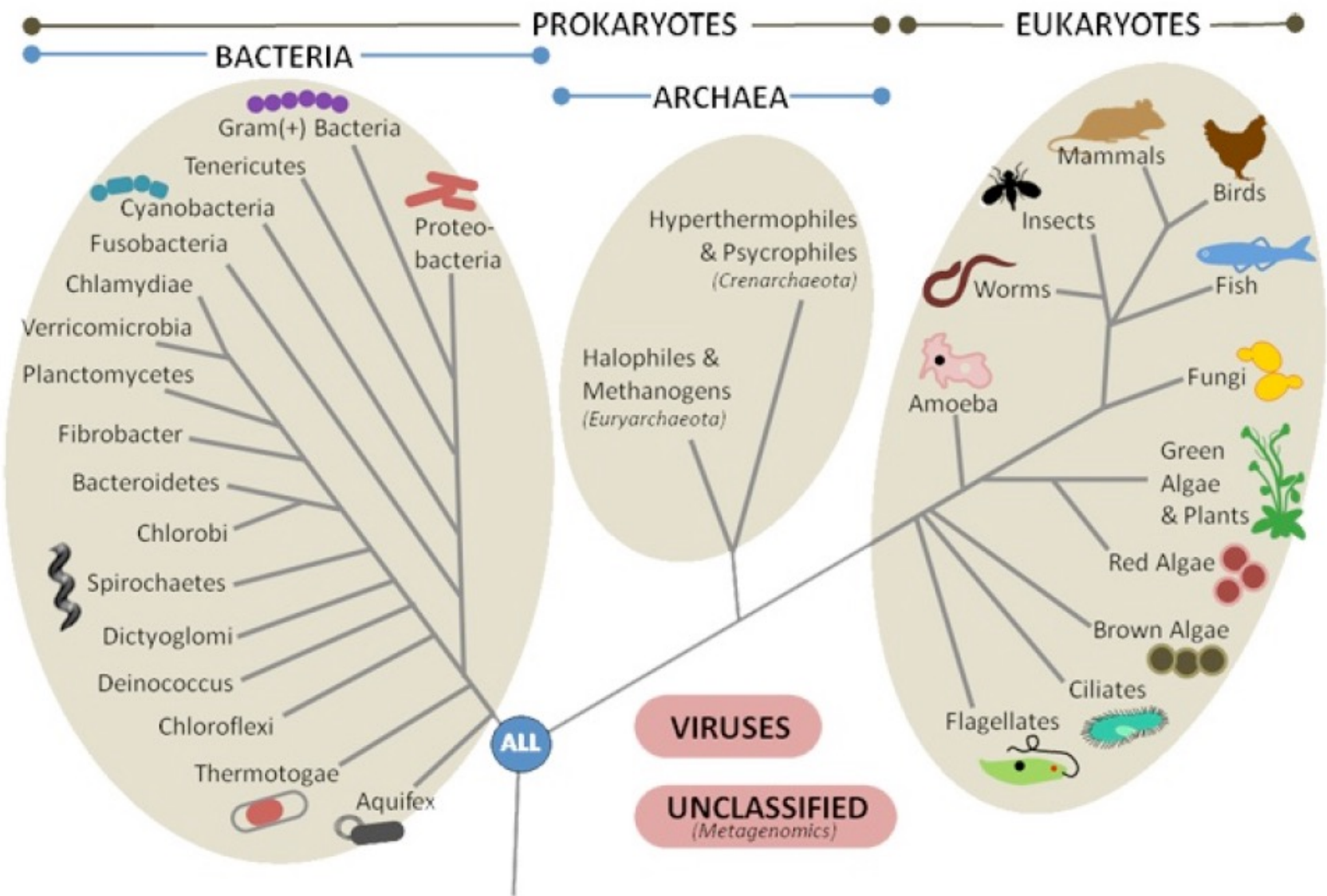


Organización de los seres vivos: procariotas vs. eucariotas

- Orgánulos: ribosomas
- Núcleo
- Pared celular



Procariotas



Procariotas

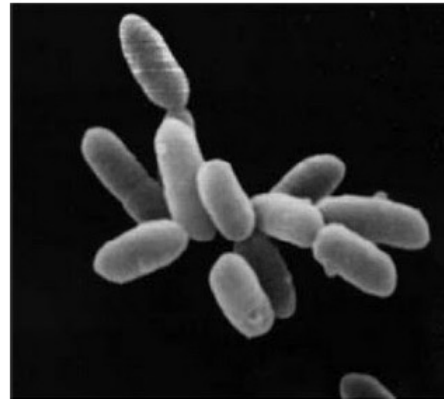
Las Arqueas se localizan en ambientes extremos

1.1 Metanógenas



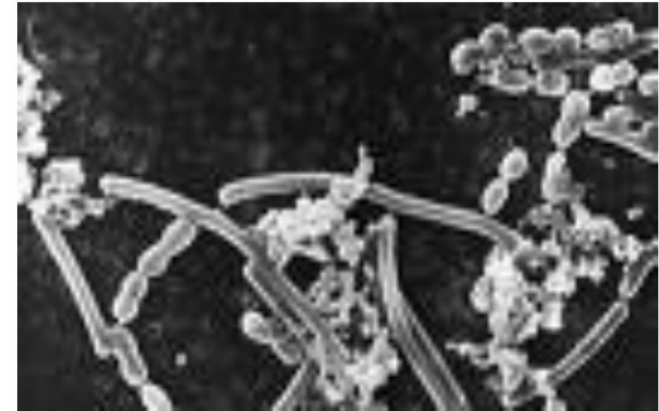
Arqueobacteria productora de metano

1.2 Halofitas



Arqueobacteria halofita

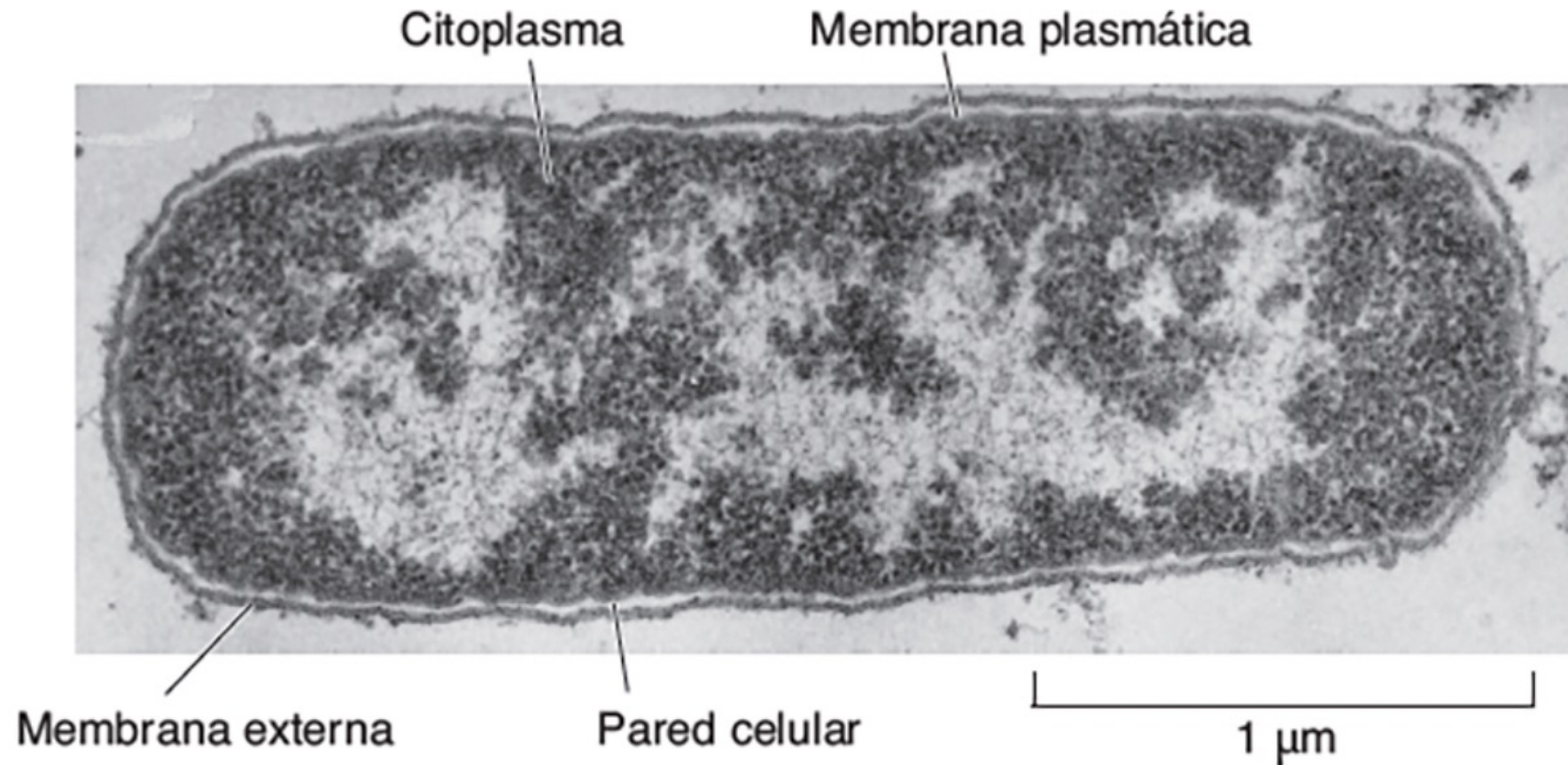
1.3 Termoacidófilas



Termoacidófilas

Procariotas

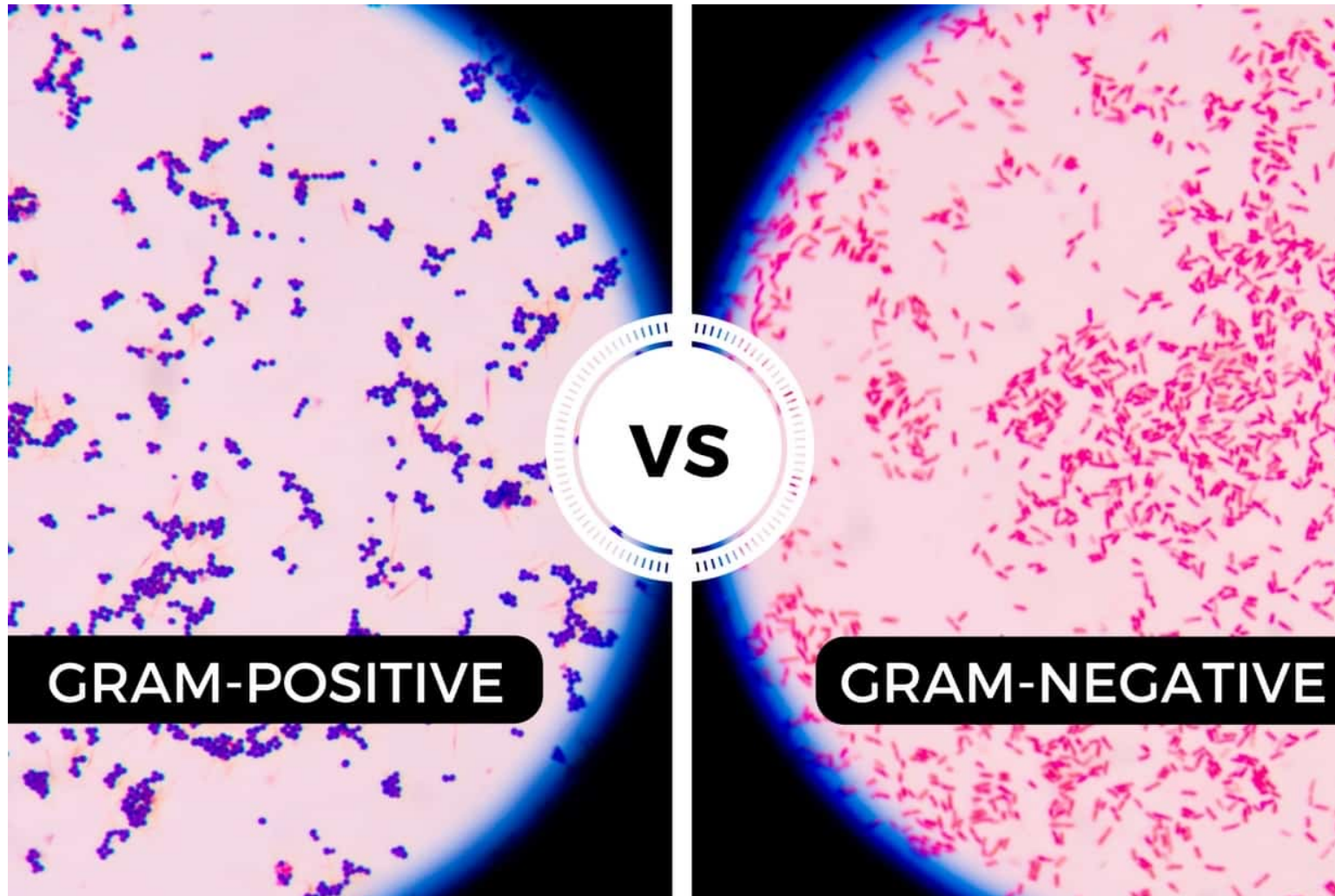
Las bacterias están recubiertas por una pared celular que confiere protección frente al medio externo



E.coli

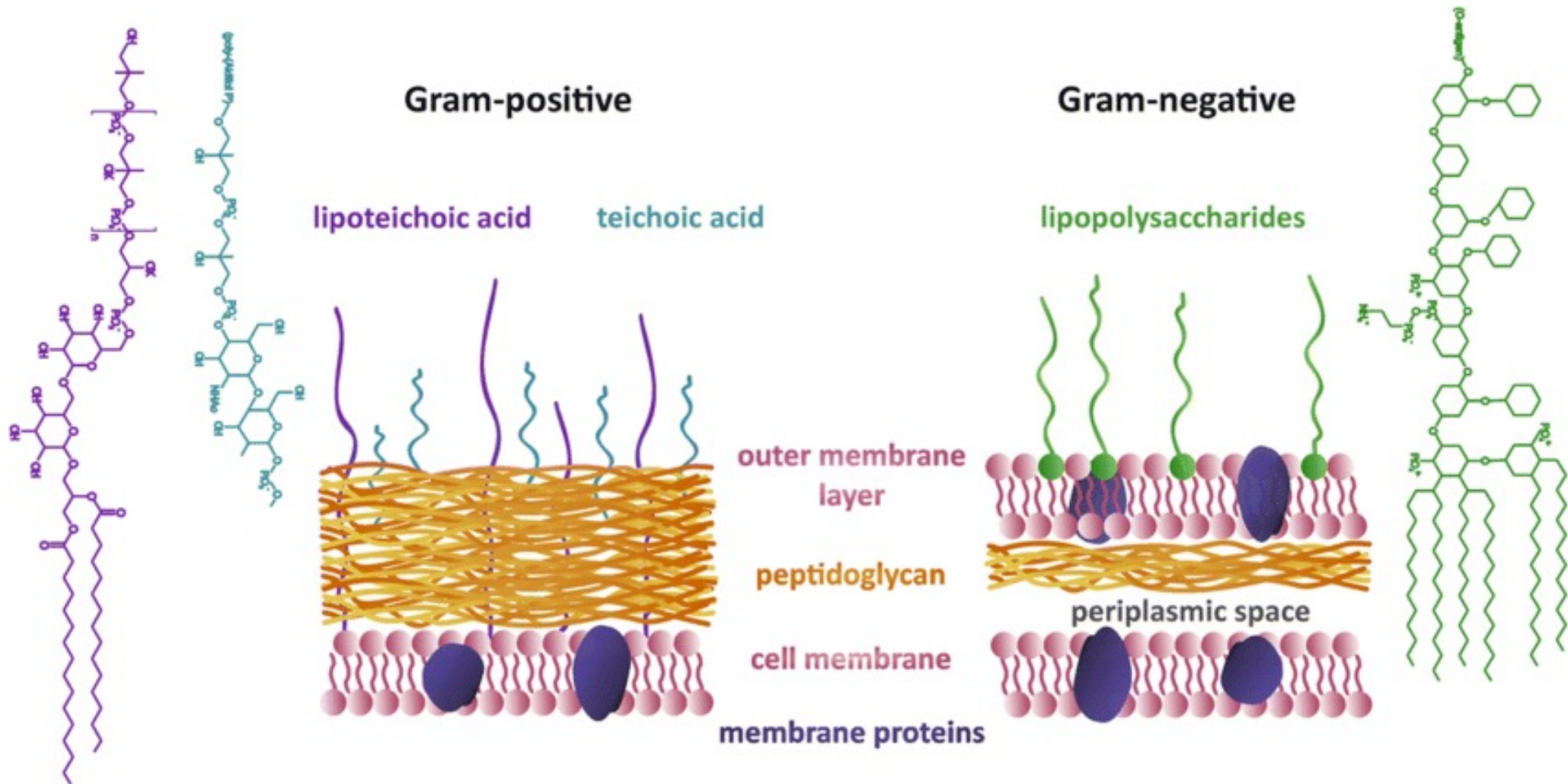
Procariotas

Las bacterias están recubiertas por una pared celular que confiere protección frente al medio externo



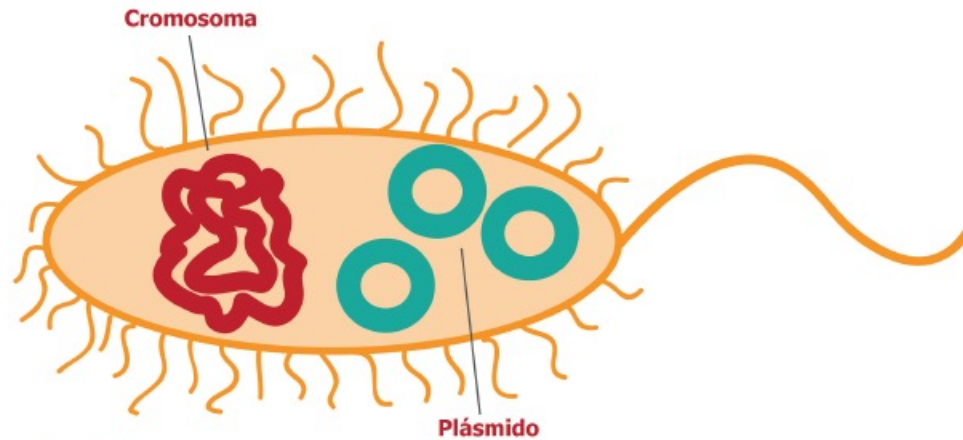
Procariotas

Las bacterias están recubiertas por una pared celular que confiere protección frente al medio externo

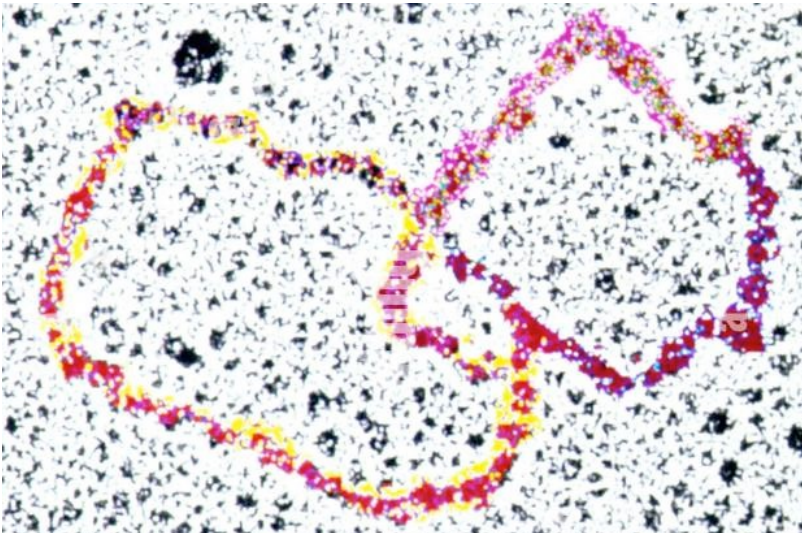


Procariotas

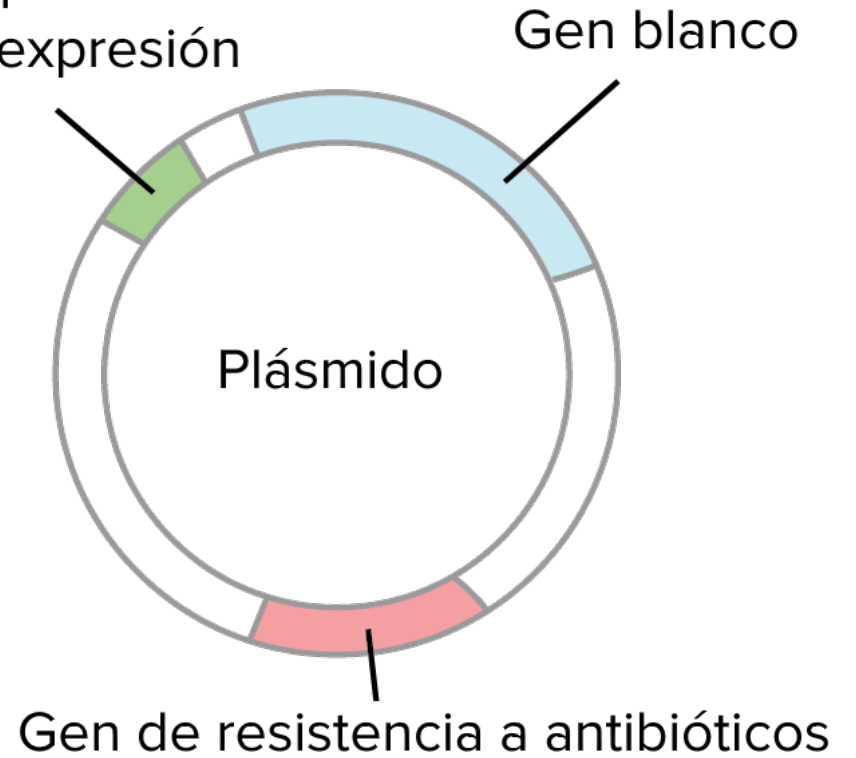
Las bacterias pueden tener varias cadenas de **material genético extracromosómico**, llamadas PLÁSMIDOS



Plásmido Un instrumento genético que facilita a las bacterias adaptarse a su entorno



Promotor para
estimular expresión
génica

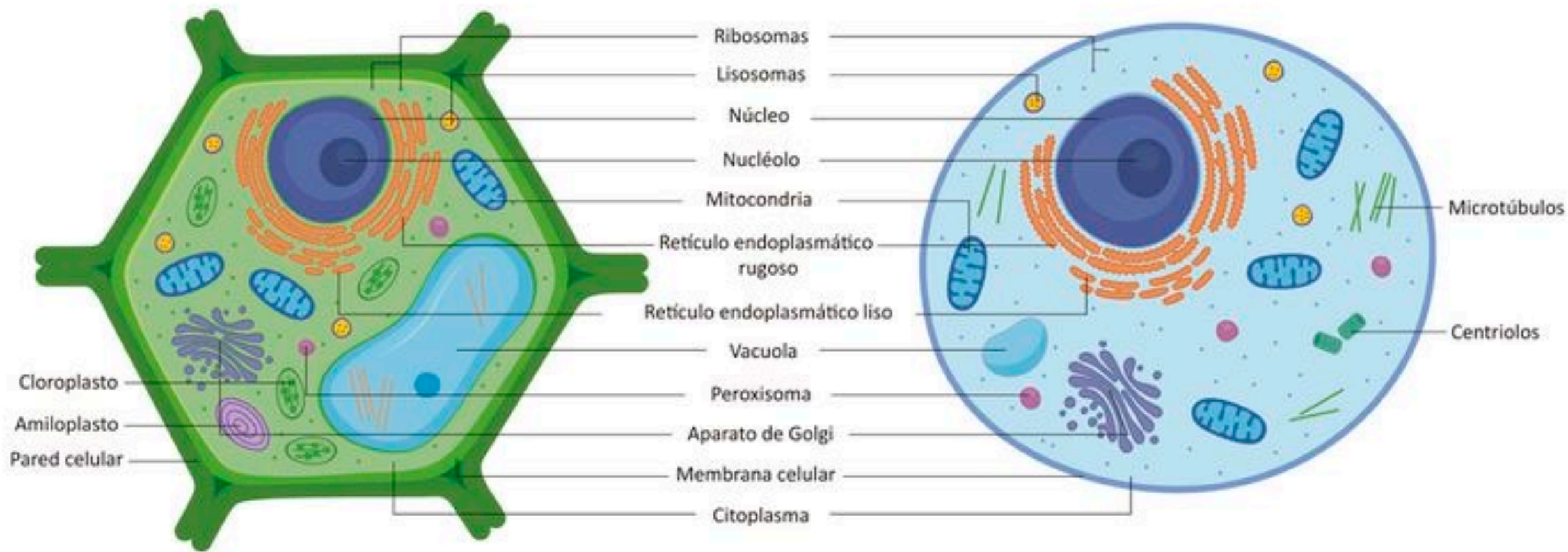


Eucariotas

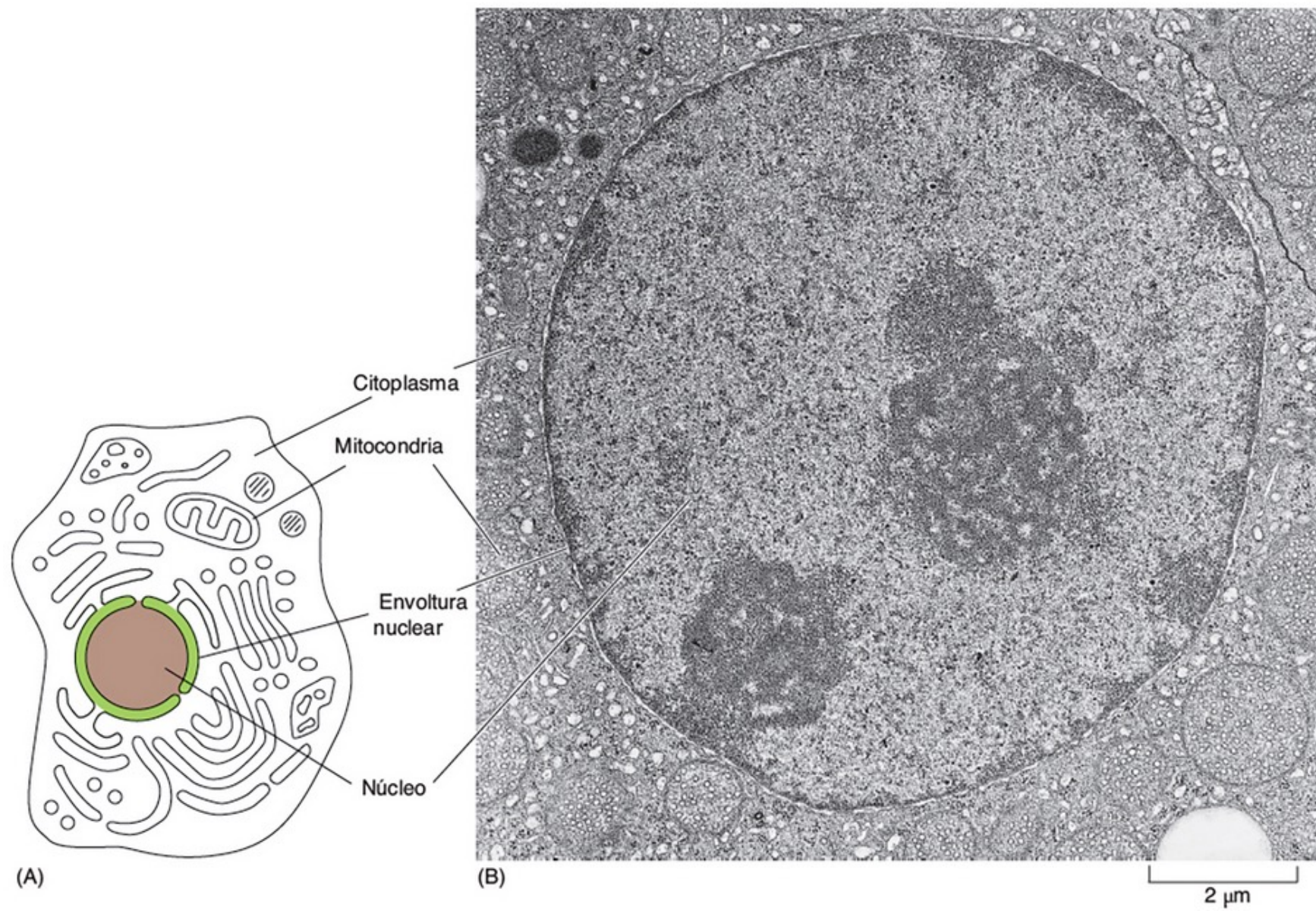
- (“eu” verdadero, “carion” núcleo)
- Organismos unicelulares - multicelulares
- **Envoltura nuclear**
- Citoplasma:
 - Citoesqueleto
 - Mitocondrias
 - RER, REL..
 - Golgi
 - Lisosomas...



Eucariotas



Eucariotas

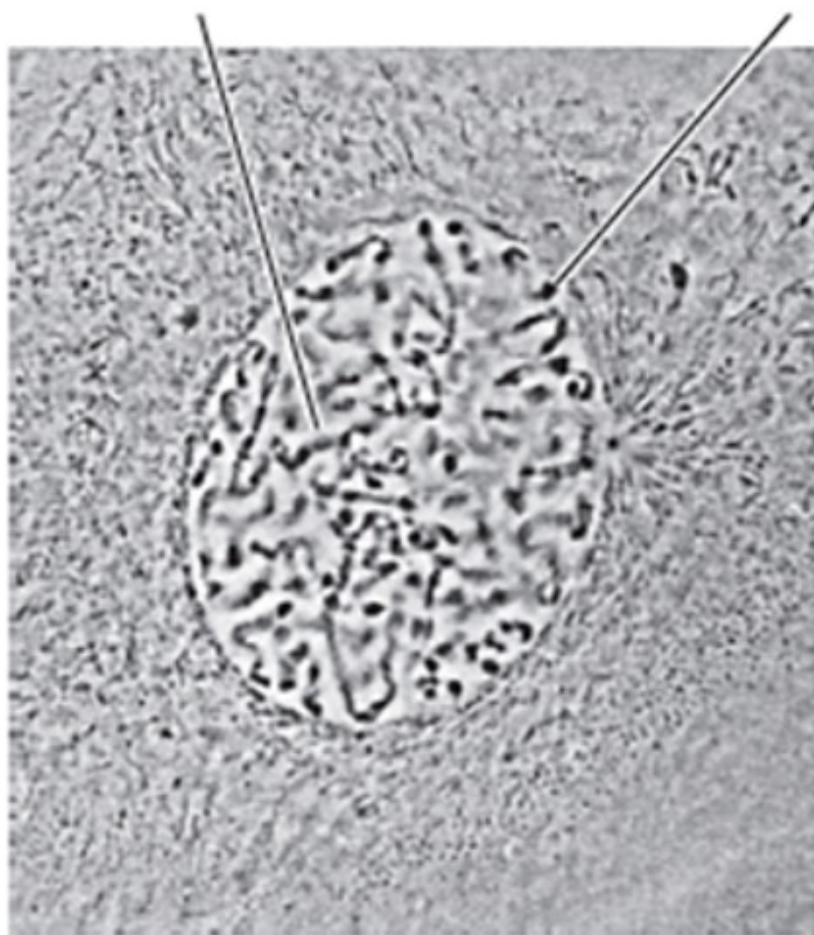


Eucariotas

Núcleo

Envoltura nuclear

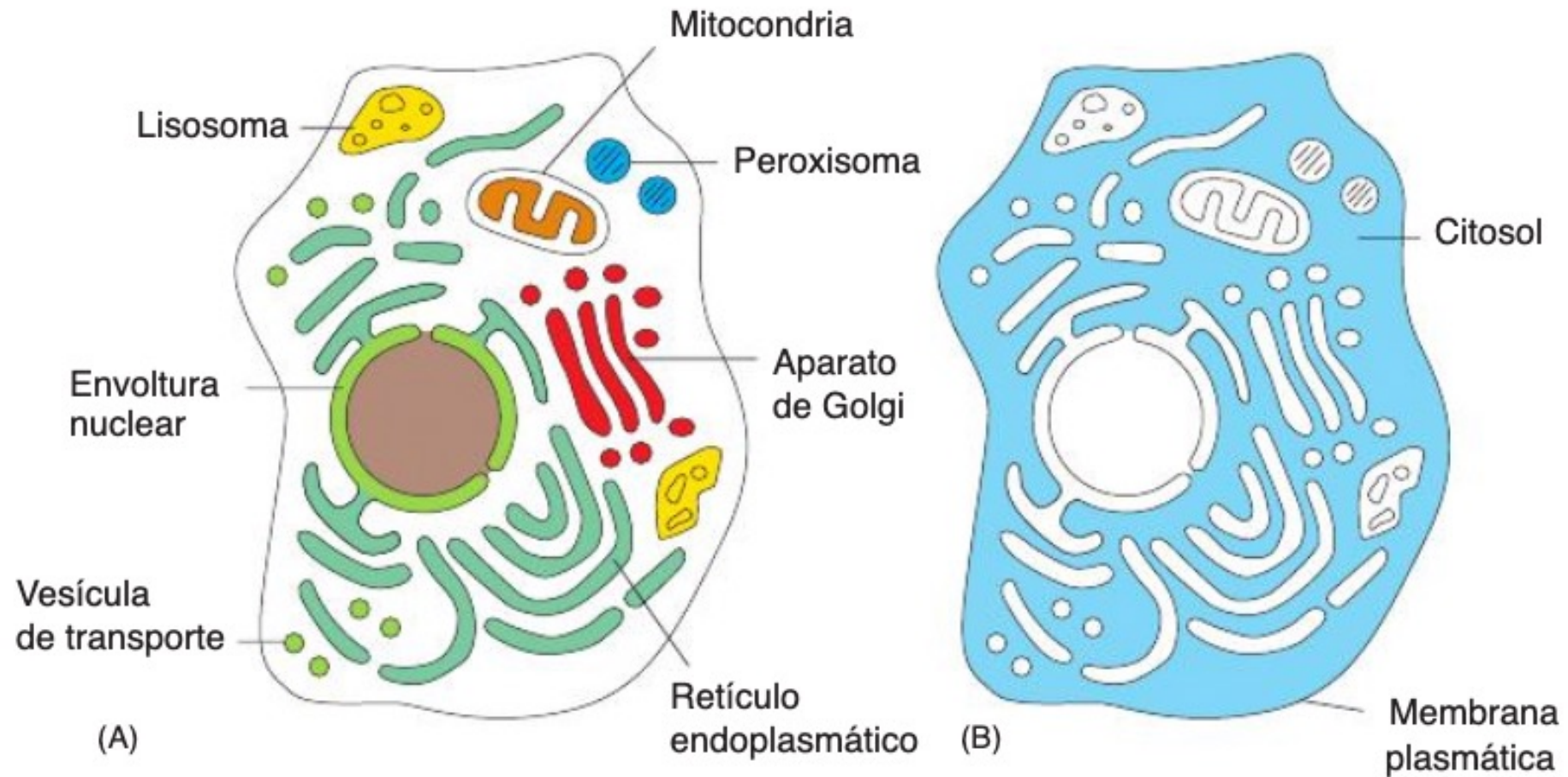
Cromosomas condensados



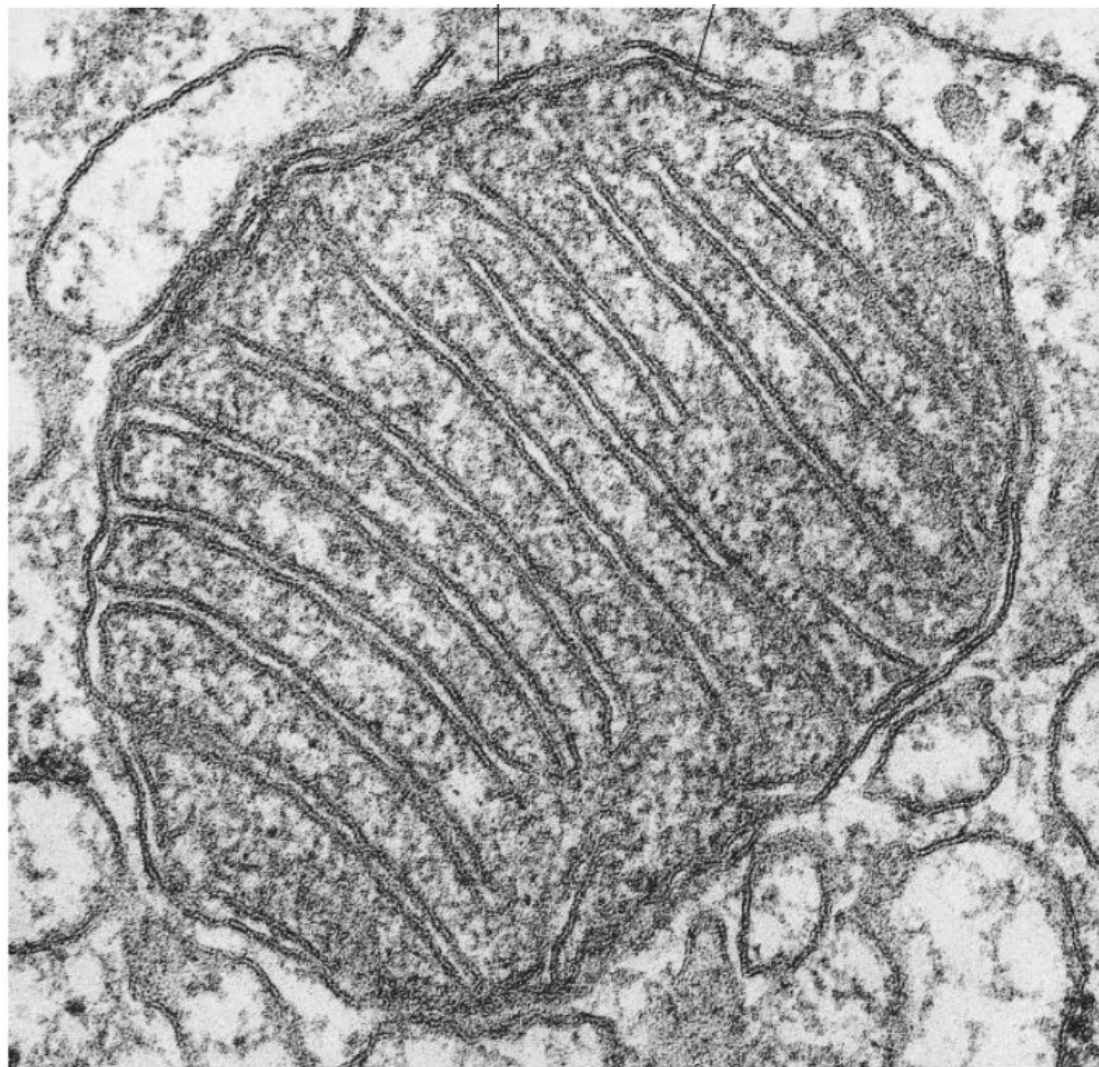
25 μm

Eucariotas

El citoplasma que ocupa el espacio fuera de los orgánulos se denomina citosol



Eucariotas



(A)

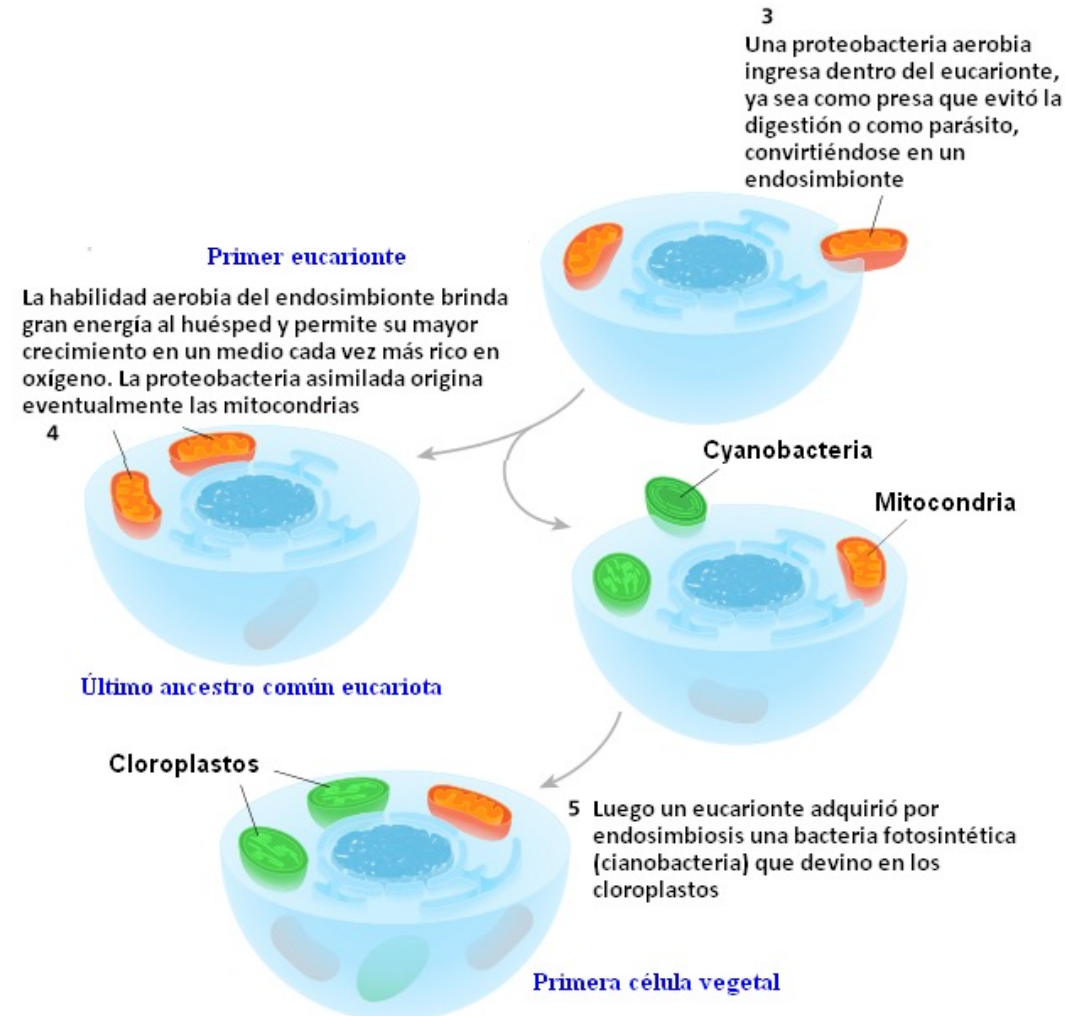
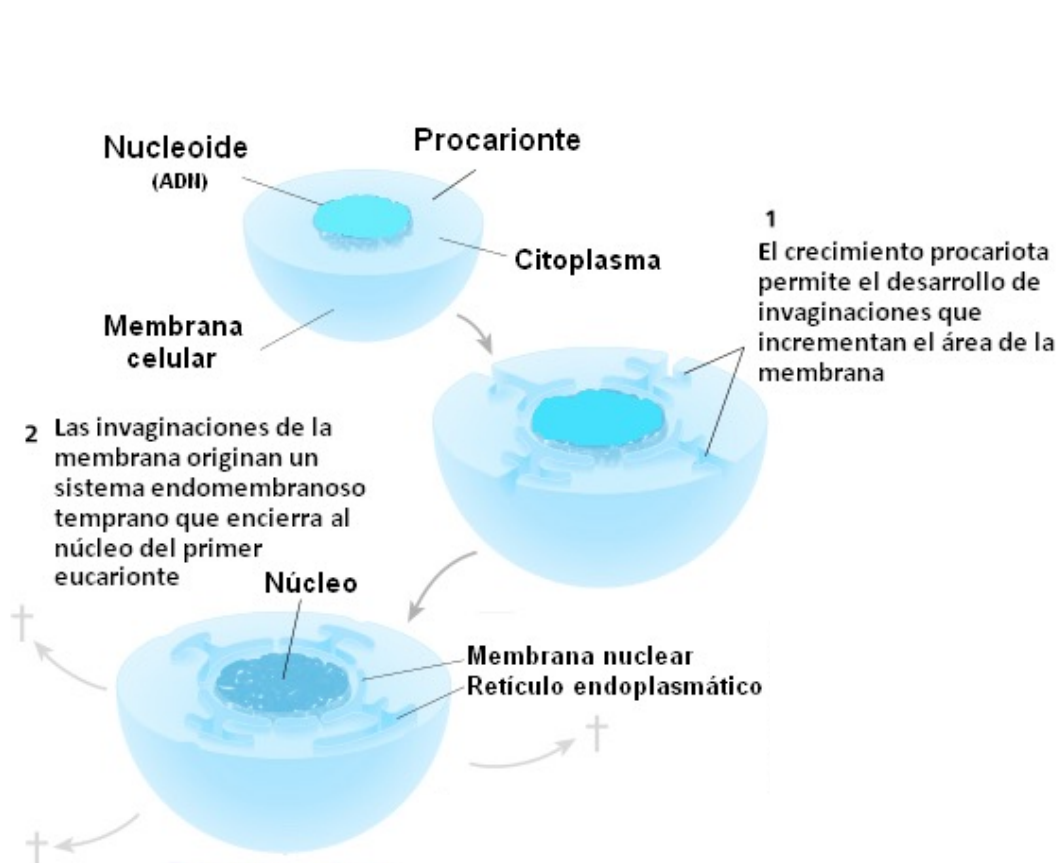
100 nm



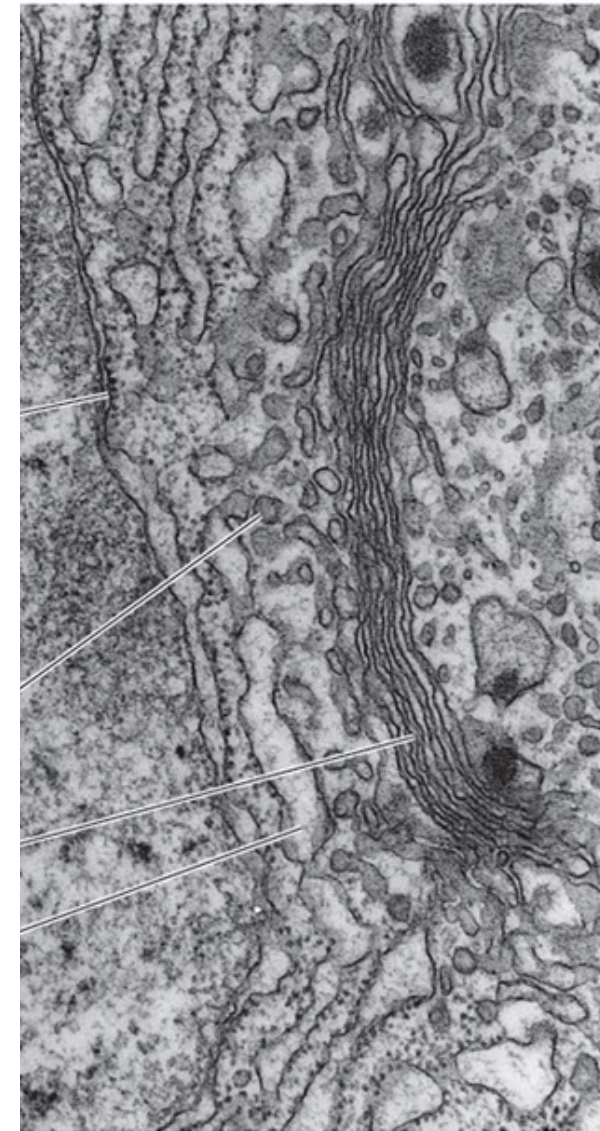
10 μm

Eucariotas

Teoría endosimbiótica (Margulis, 1966): las **mitocondrias** (y cloroplastos) podrían originarse a partir de bacterias simbiotes



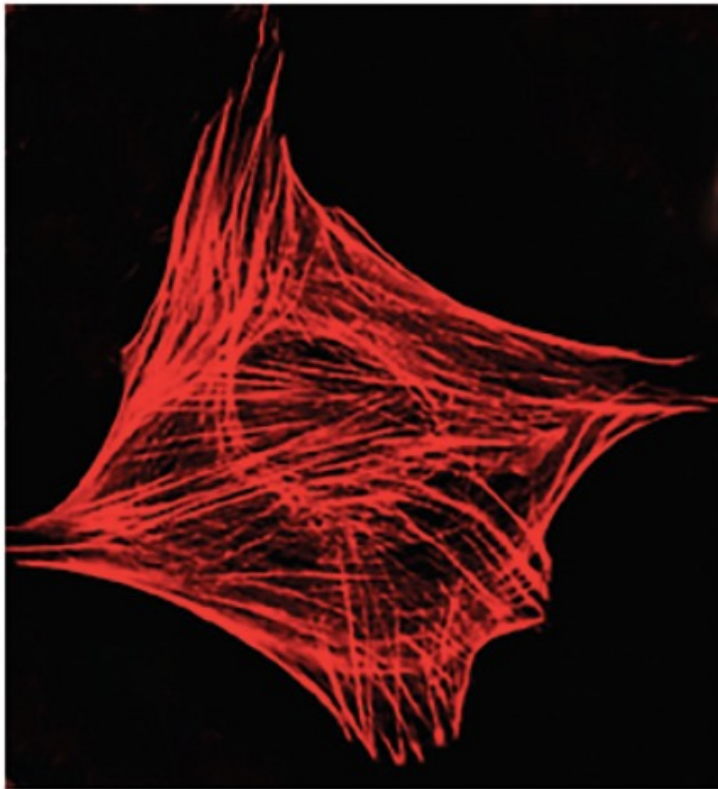
Eucariotas



1 μm

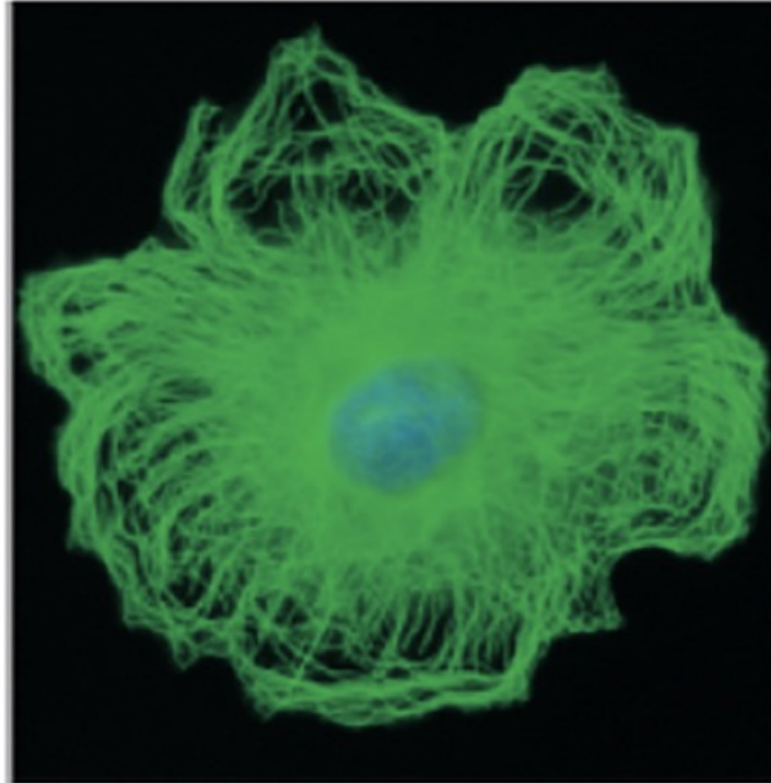
Eucariotas

El citoesqueleto es responsable de los movimientos dirigidos de la célula y de su estructura

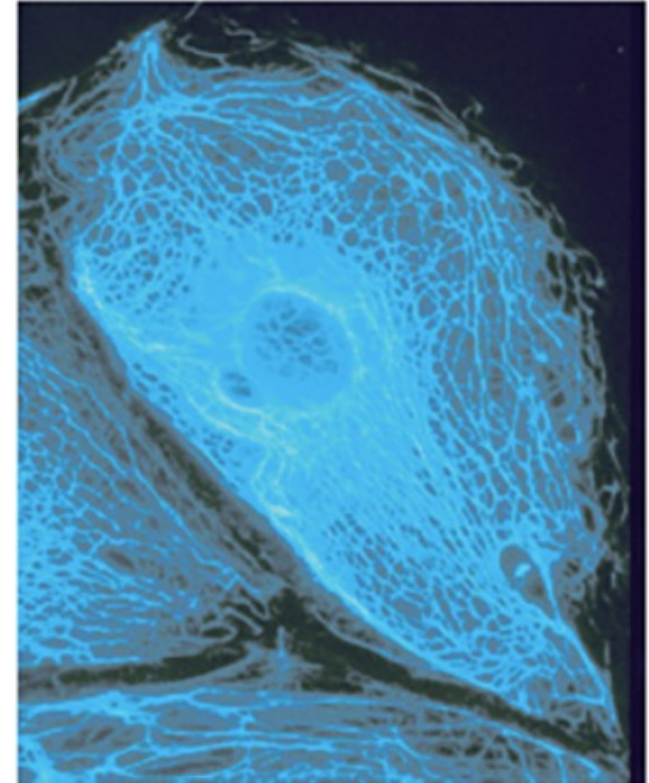


(A)

20 μm



(B)

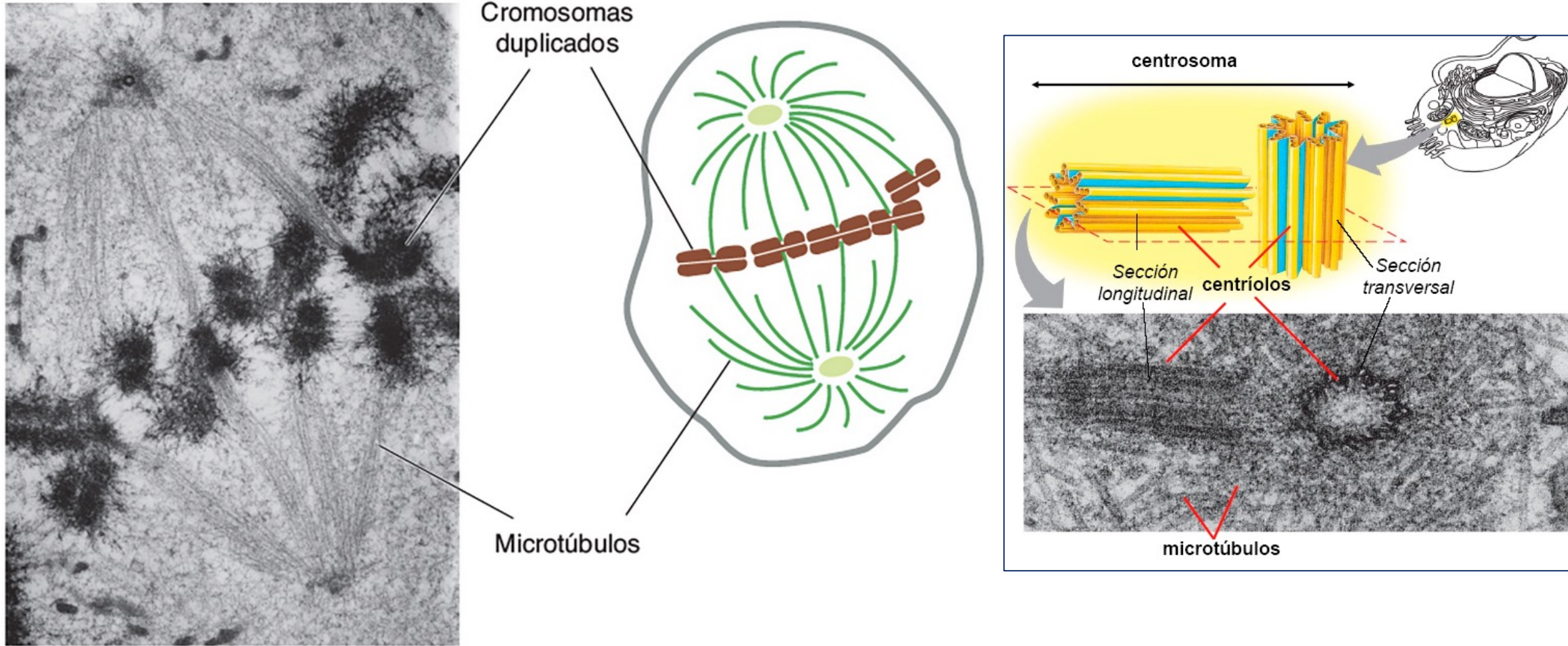


(C)

El citoesqueleto es una red de filamentos proteicos: ACTINA, MICROTUBULOS y FILAMENTOS INTERMEDIOS

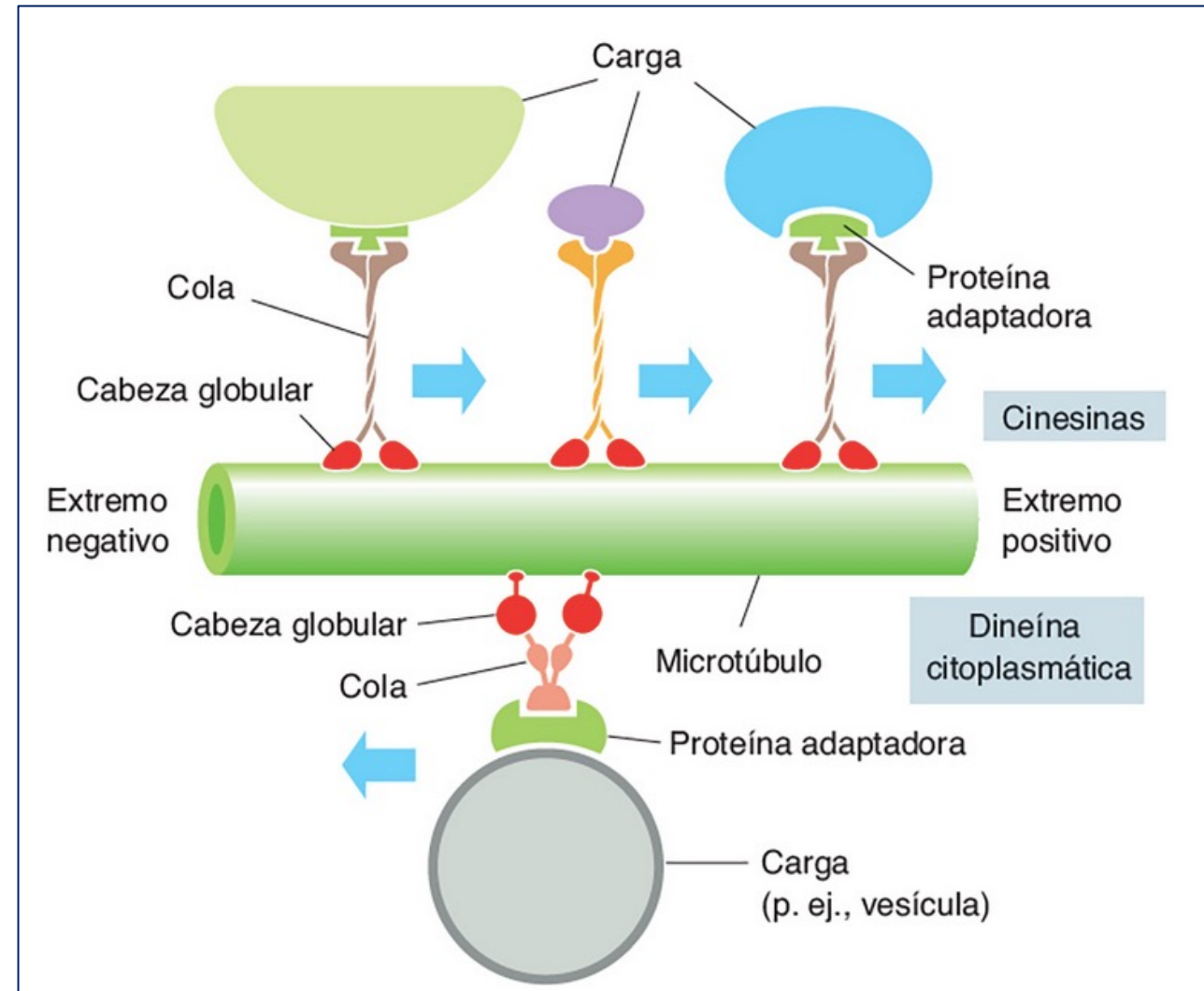
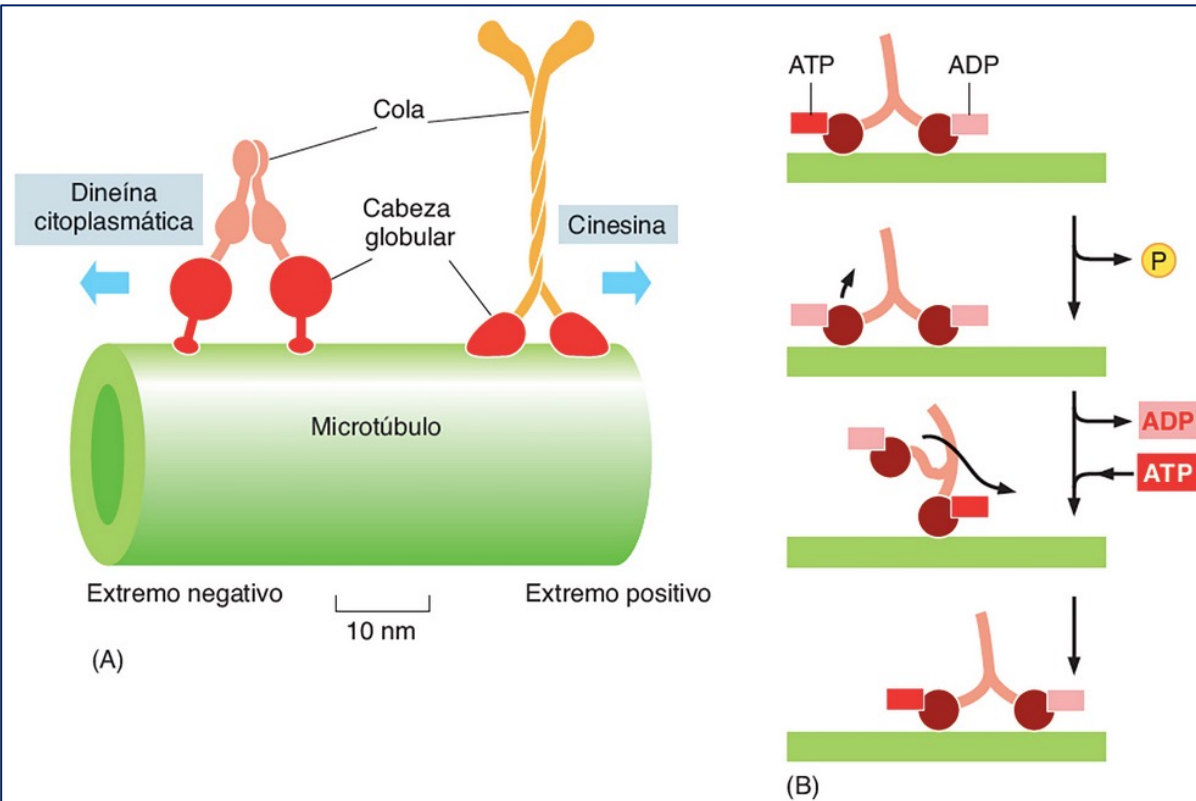
Eucariotas

Los microtúbulos ayudan a segregar los cromosomas



Eucariotas

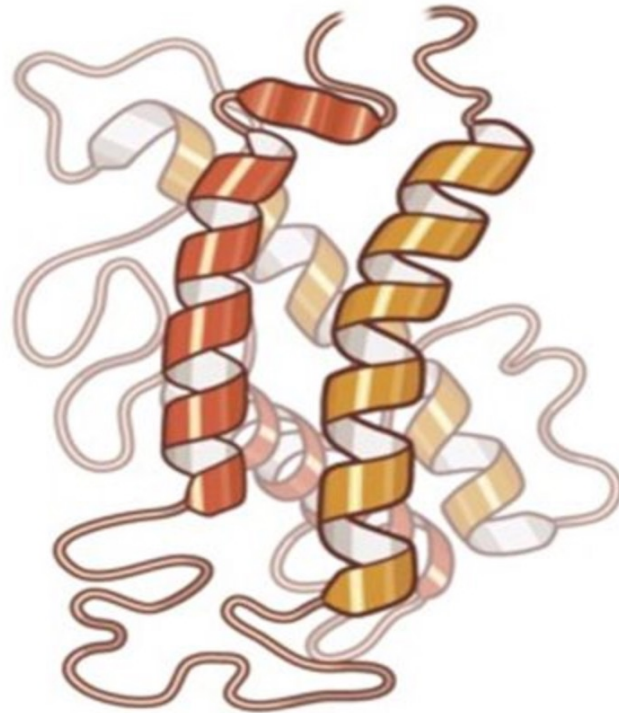
Los microtúbulos participan en el transporte celular



Agentes subcelulares patógenos. Priones

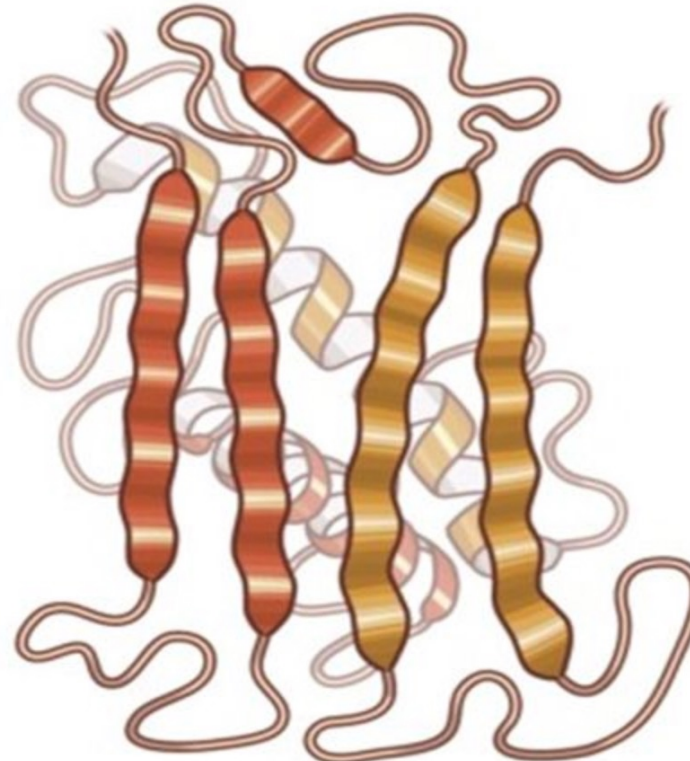
Los priones son patógenos constituidos por proteínas inefectivas, su **origen son las proteínas priónicas celulares normales**

Configuración normal:



PrP^C

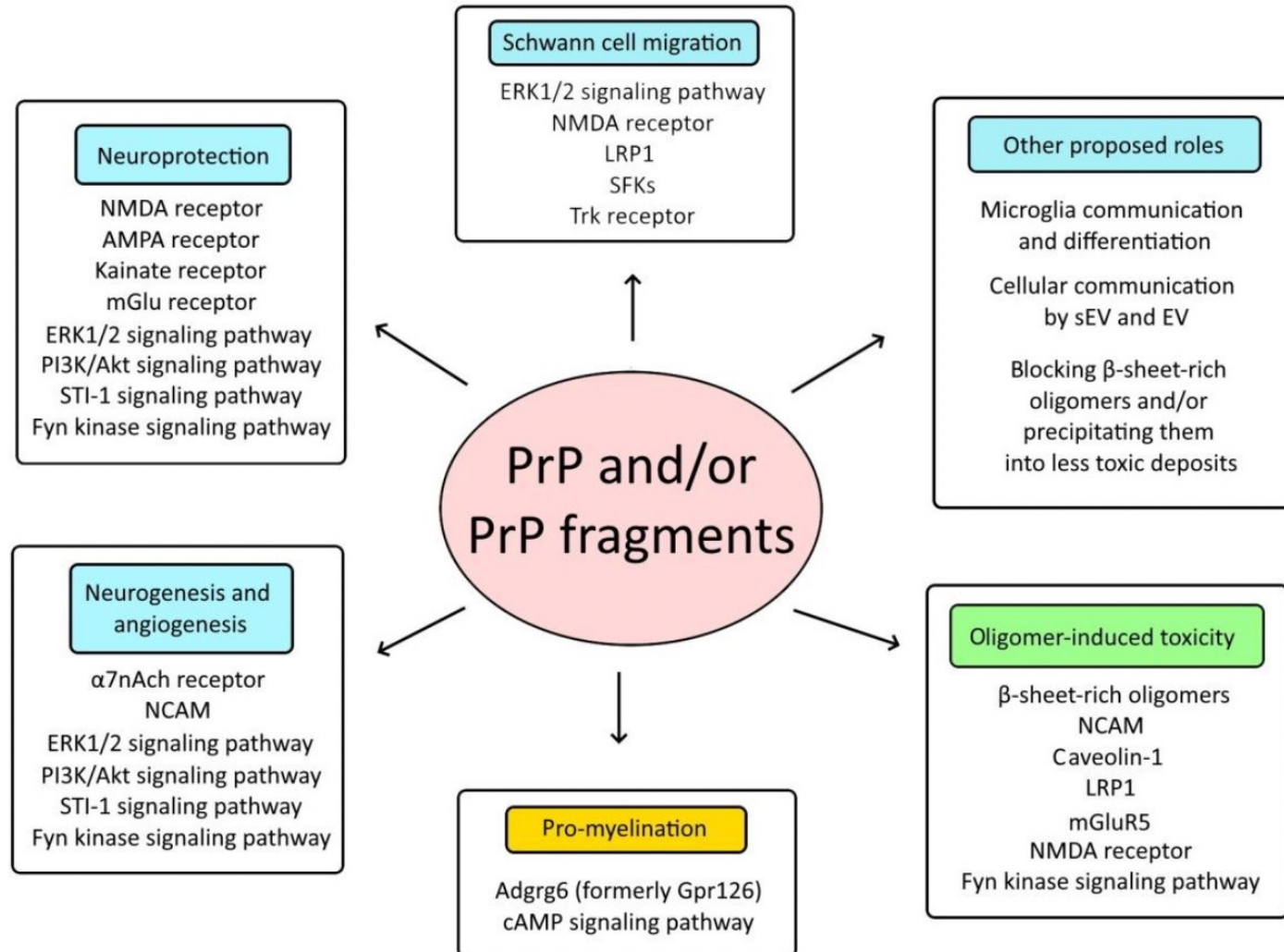
Configuración alterada:



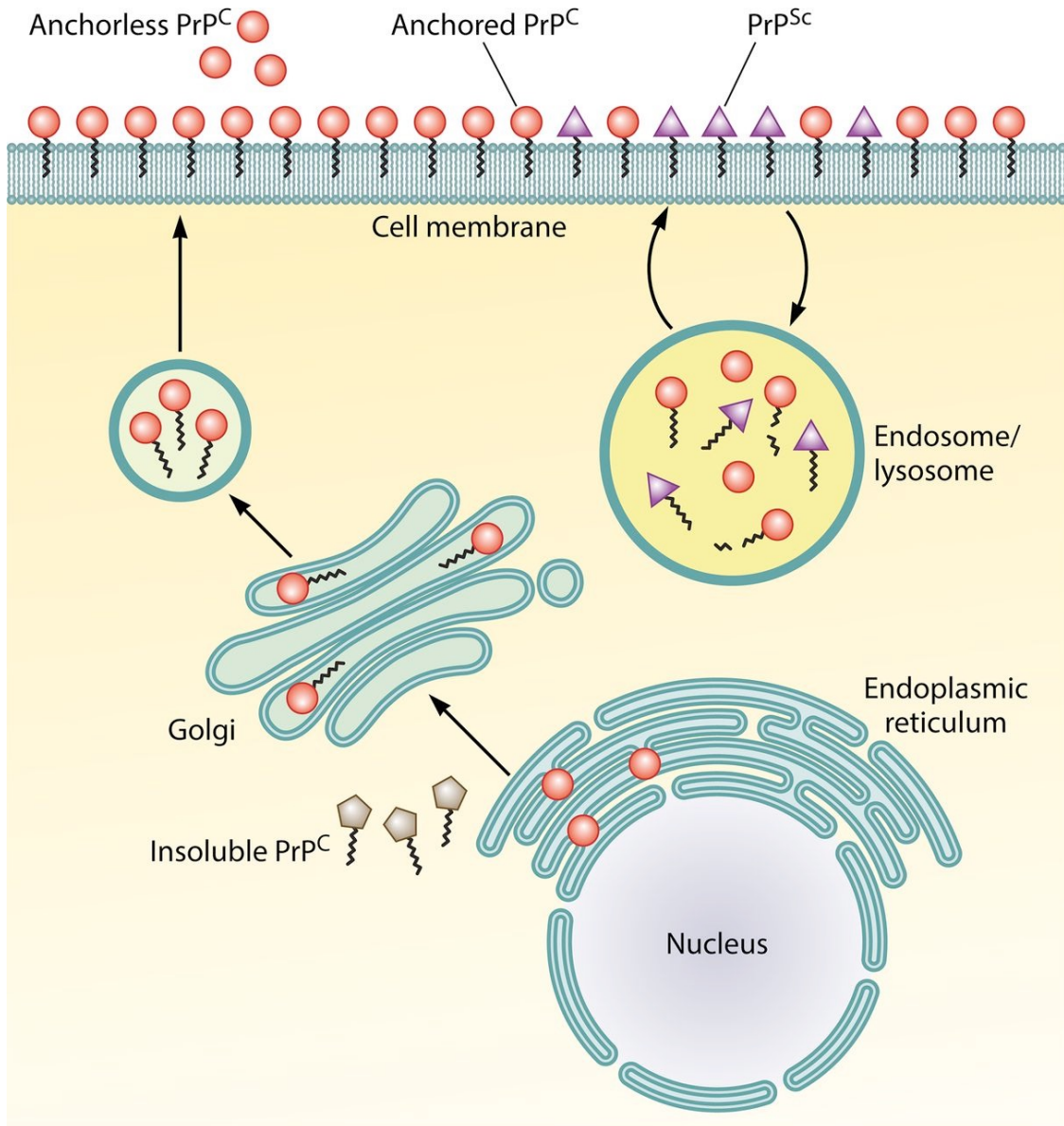
PrP^{Sc}

Agentes subcelulares patógenos. Priones

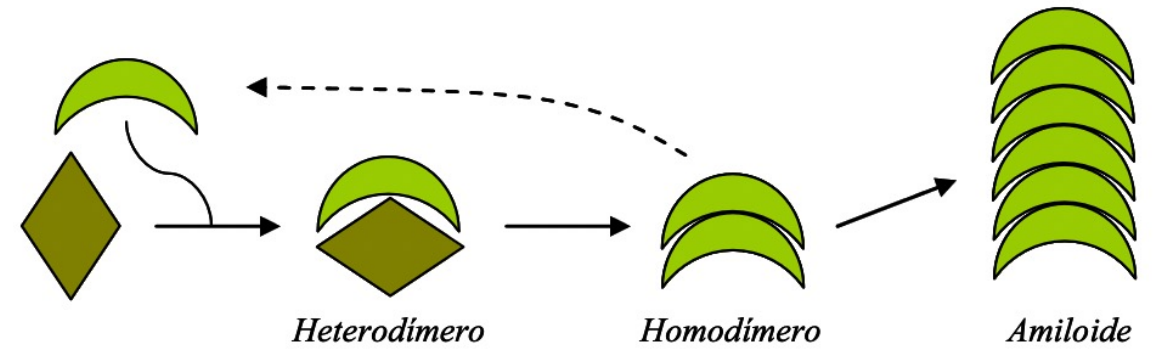
La proteína PrP^C se localiza en la superficie de las neuronas



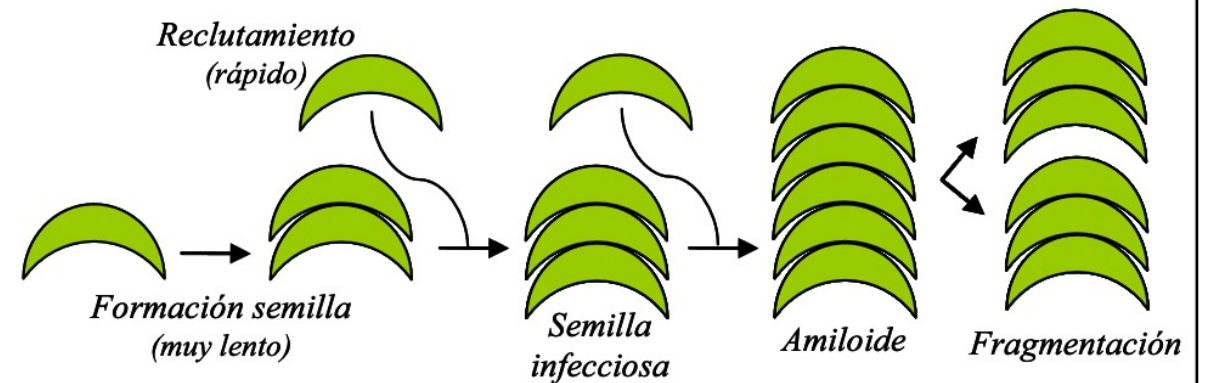
Agentes subcelulares patógenos. Priones



MODELO DE CONVERSIÓN ASISTIDA POR MOLDE



MODELO DE NUCLEACIÓN-POLIMERIZACIÓN



- *Mutaciones del gen PRNP*
- *Procesos postraduccionales: Glicosilación*

Agentes subcelulares patógenos. Priones

Al cambiar el plegamiento adquiere dos propiedades:

- resistencia a las proteasas
- insolubilidad.

En consecuencia:

1. es más estable
2. formara agregados proteicos
3. se acumulará (placas amiloides en el tejido nervioso)

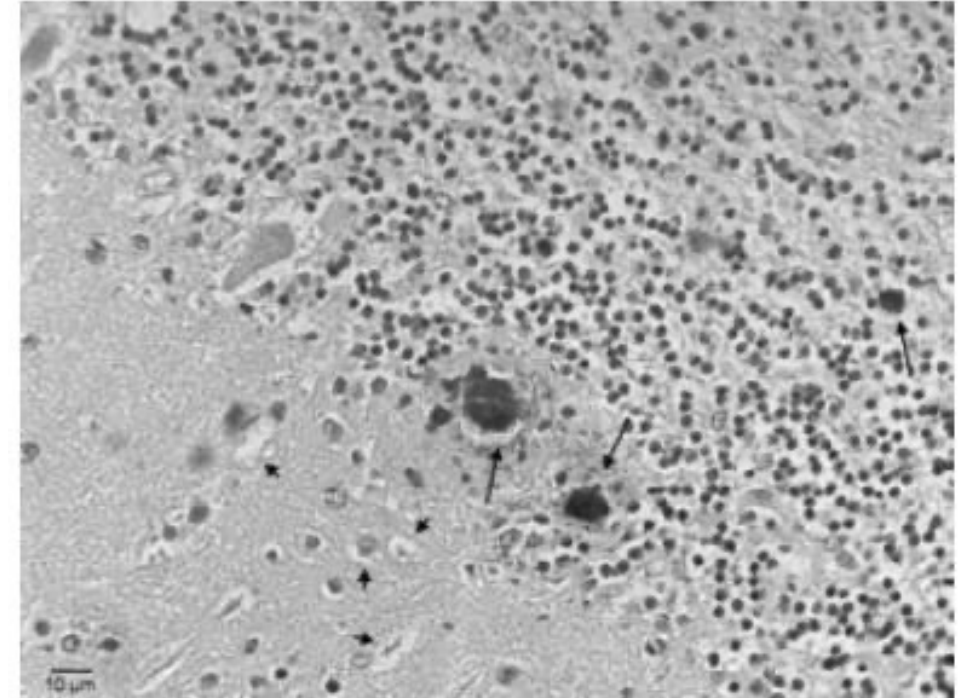
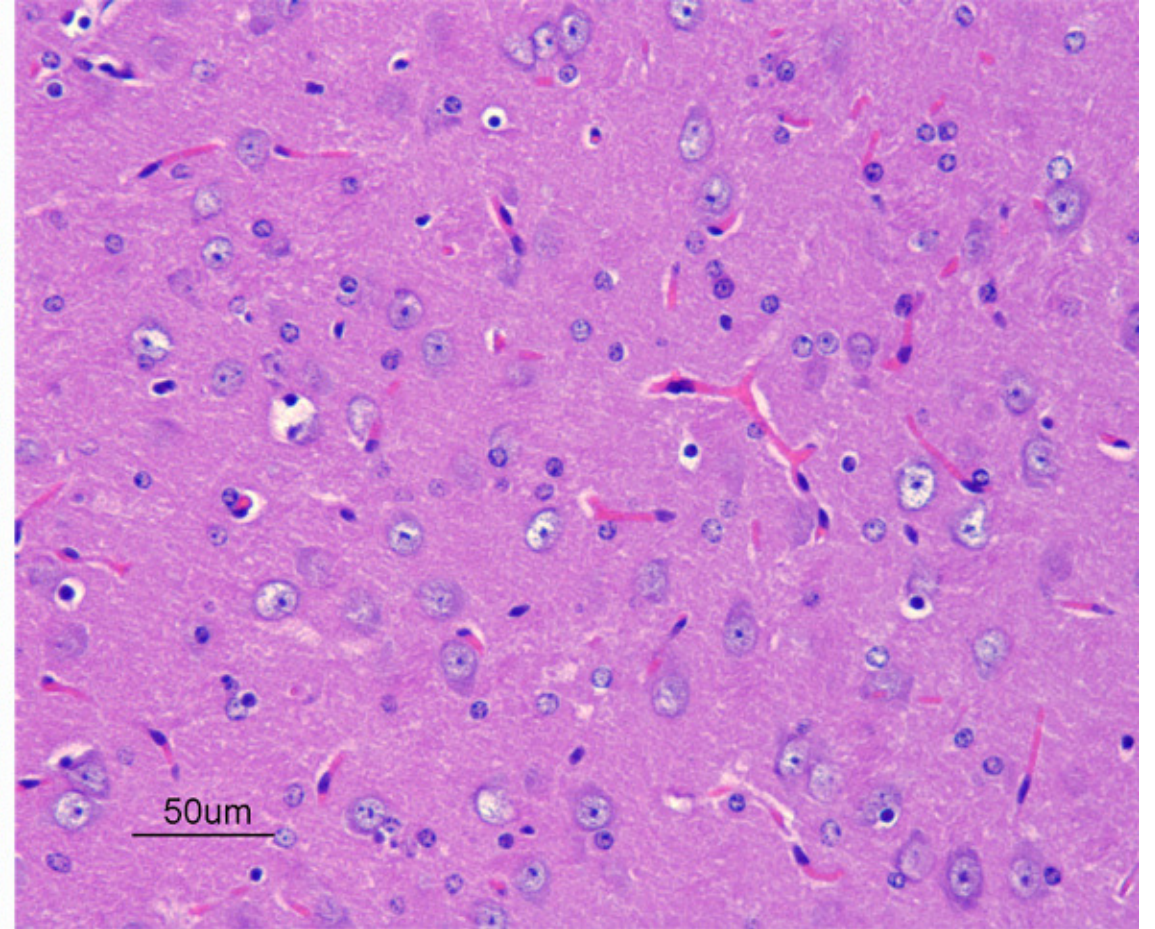
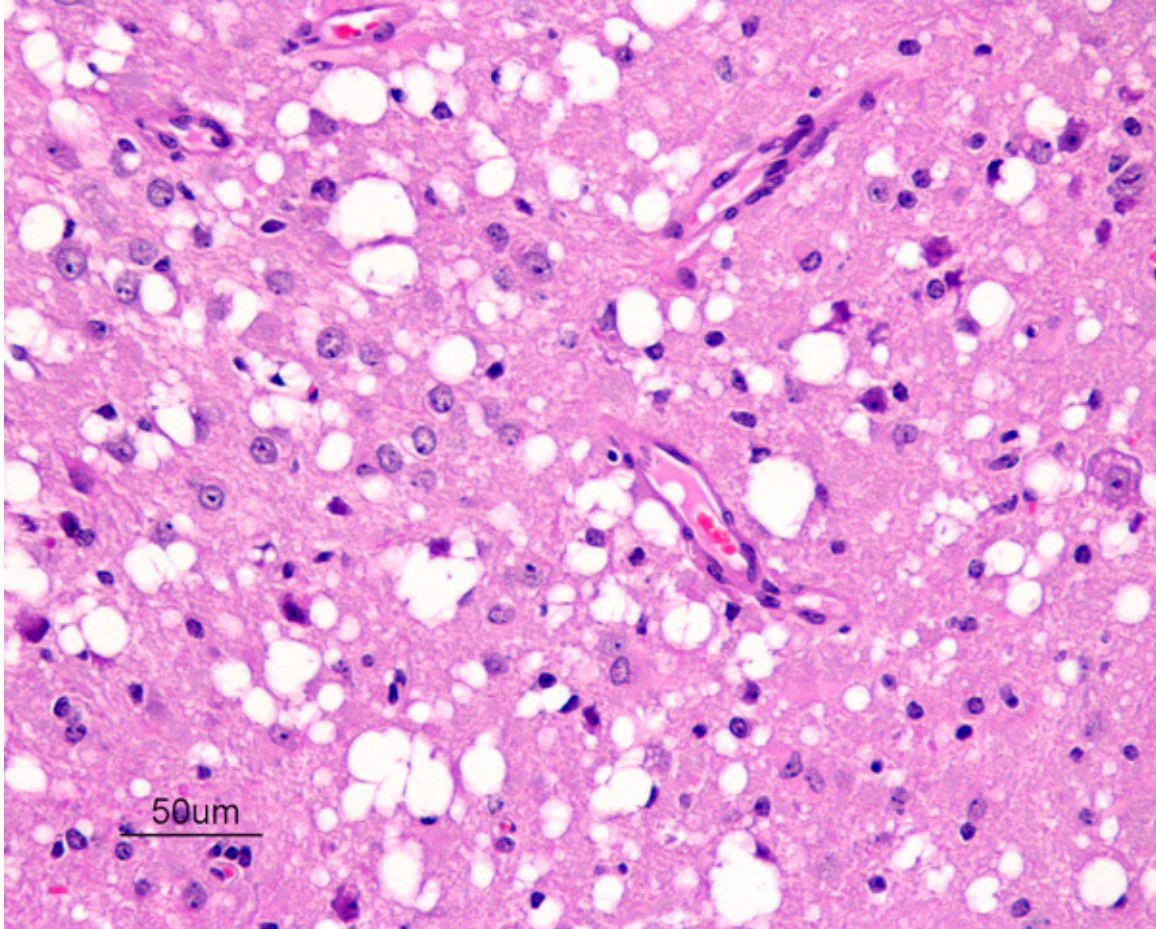


Figura 1. Neuropatología de las EPRs. Microfotografía del cerebelo de un individuo con enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker (40X). Depósitos de la proteína prión anómala (Flechas) donde son notables los cambios espongiiformes (puntas de flecha). Inmunohistoquímica contra el segmento 27-30 KDa de la proteína prión revelado con la técnica de peroxidasa.

Enfermedades priónicas: patología neurodegenerativa

Encefalopatías espongiiformes transmisibles

Agentes subcelulares patógenos. Priones



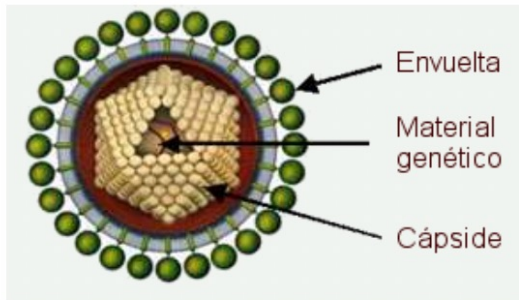
Enfermedades priónicas: patología neurodegenerativa

Encefalopatías espongiformes transmisibles

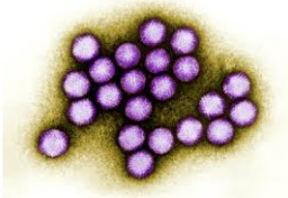
Agentes subcelulares patógenos. Virus

Parásitos intracelulares obligados: deben entrar en una célula huésped y aprovecharse de sus enzimas y sustratos

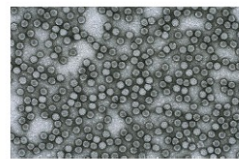
Genoma empaquetado por una cubierta proteica (cápside y capsomeros) y envoltura membranosa



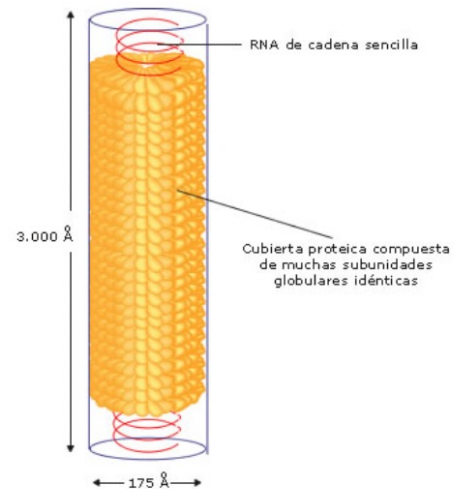
Icosaédrica



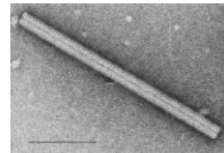
Adenovirus
(ADN bicatenario)



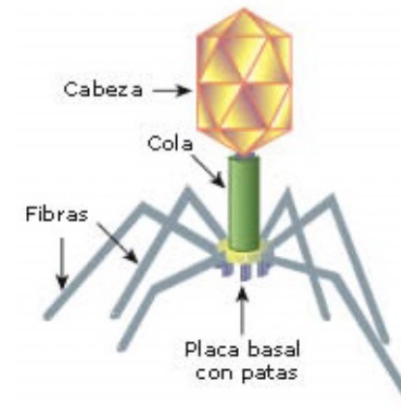
Picornavirus
(ARN bicatenario)



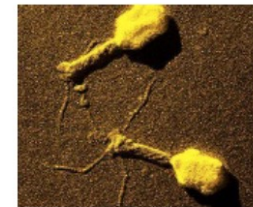
Helicoidal



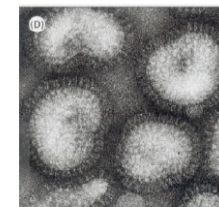
Mosaico del tabaco
(ARN monocatenario)



Compleja

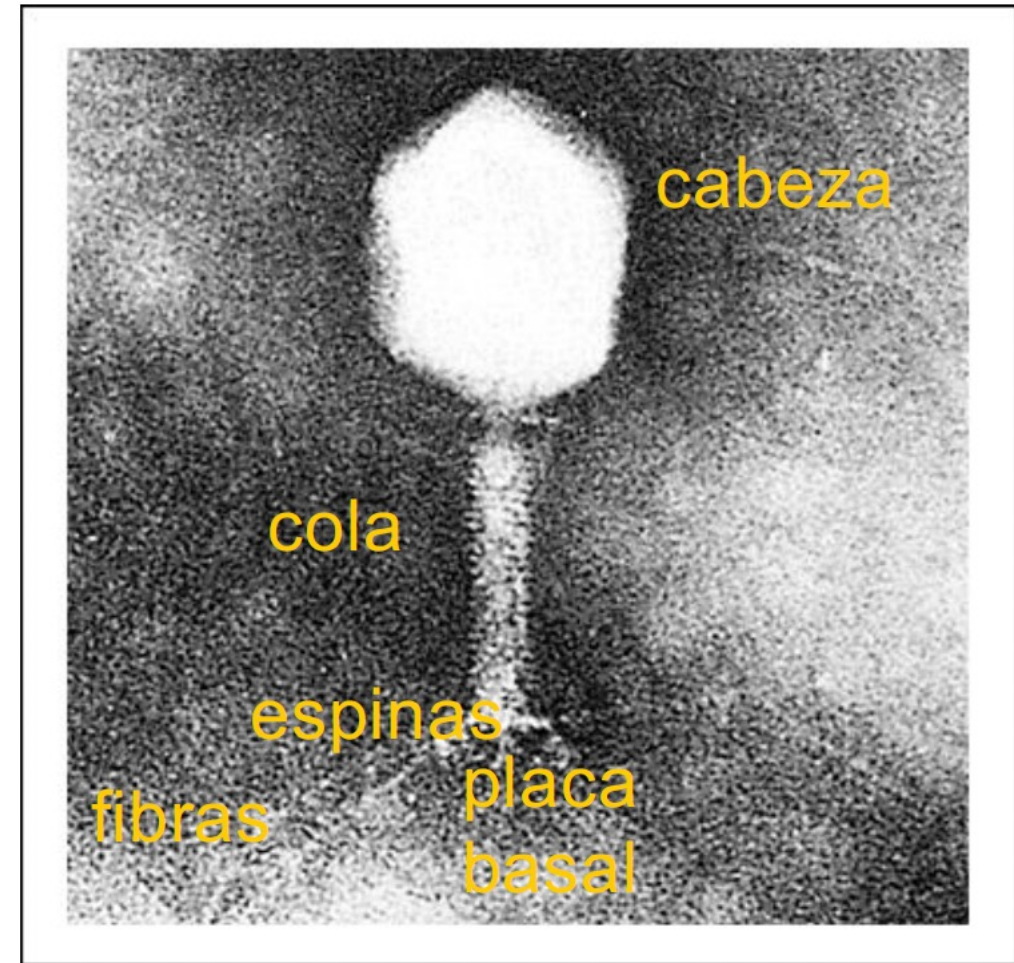
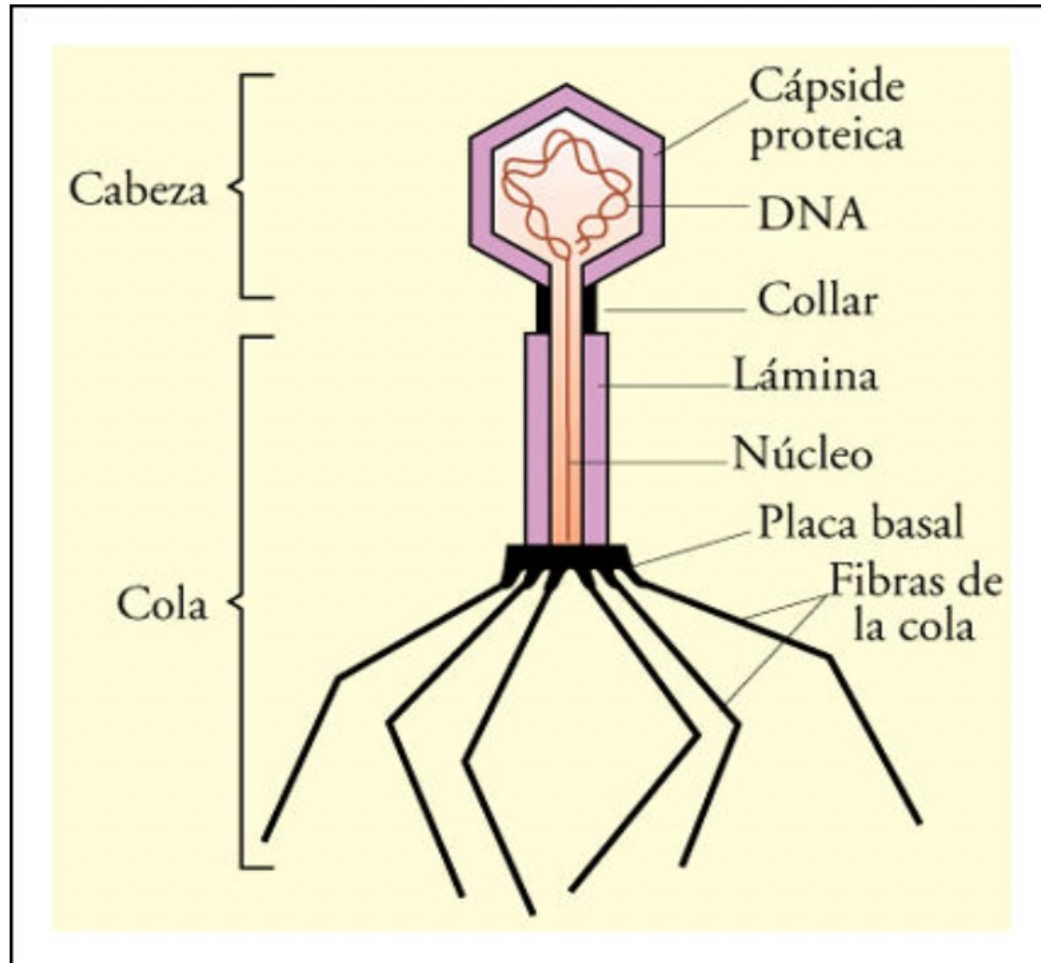


Bacteriofago
(ADN bicatenario)

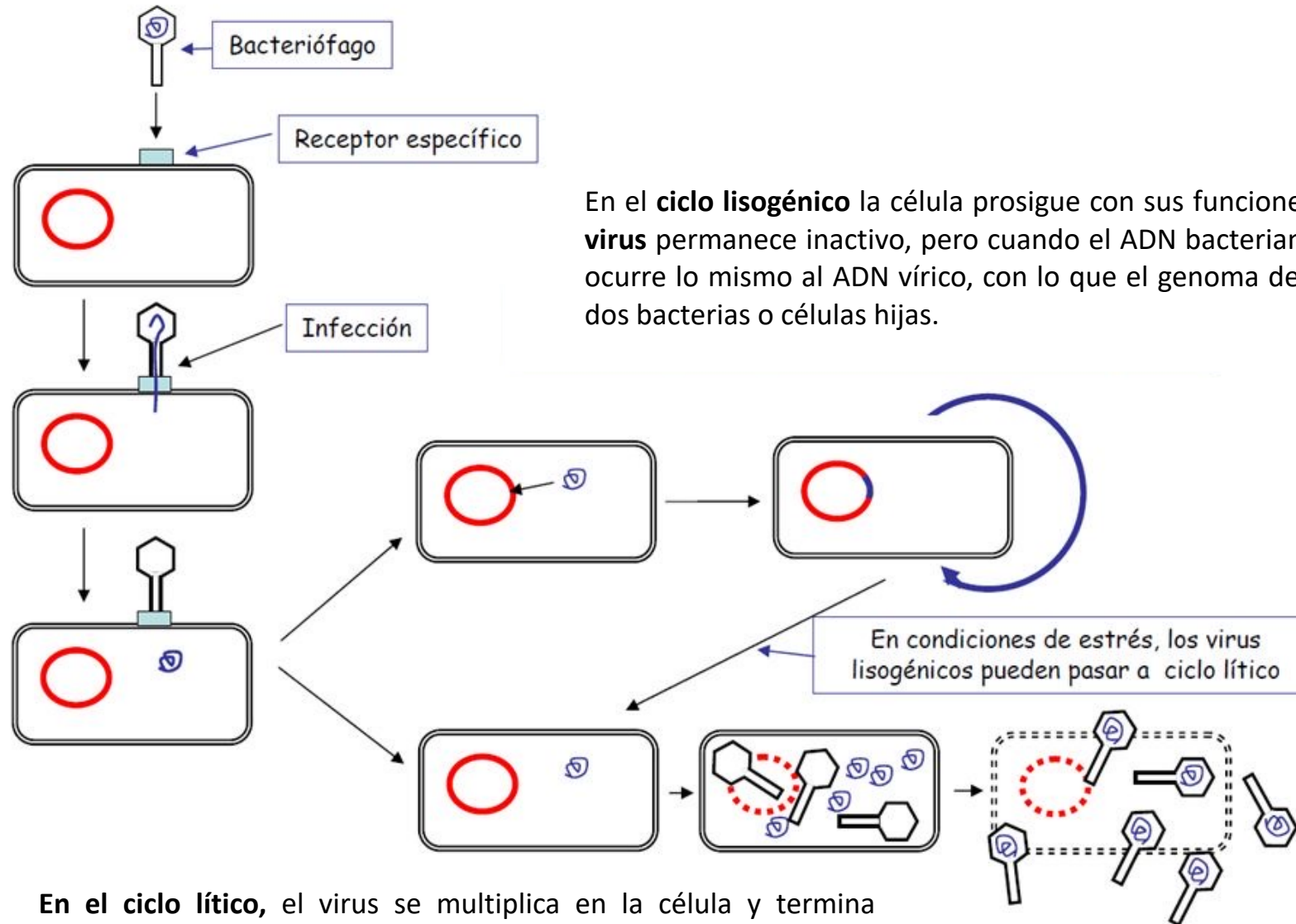


Influenza
(ARN monocatenario)

Agentes subcelulares patógenos. Virus

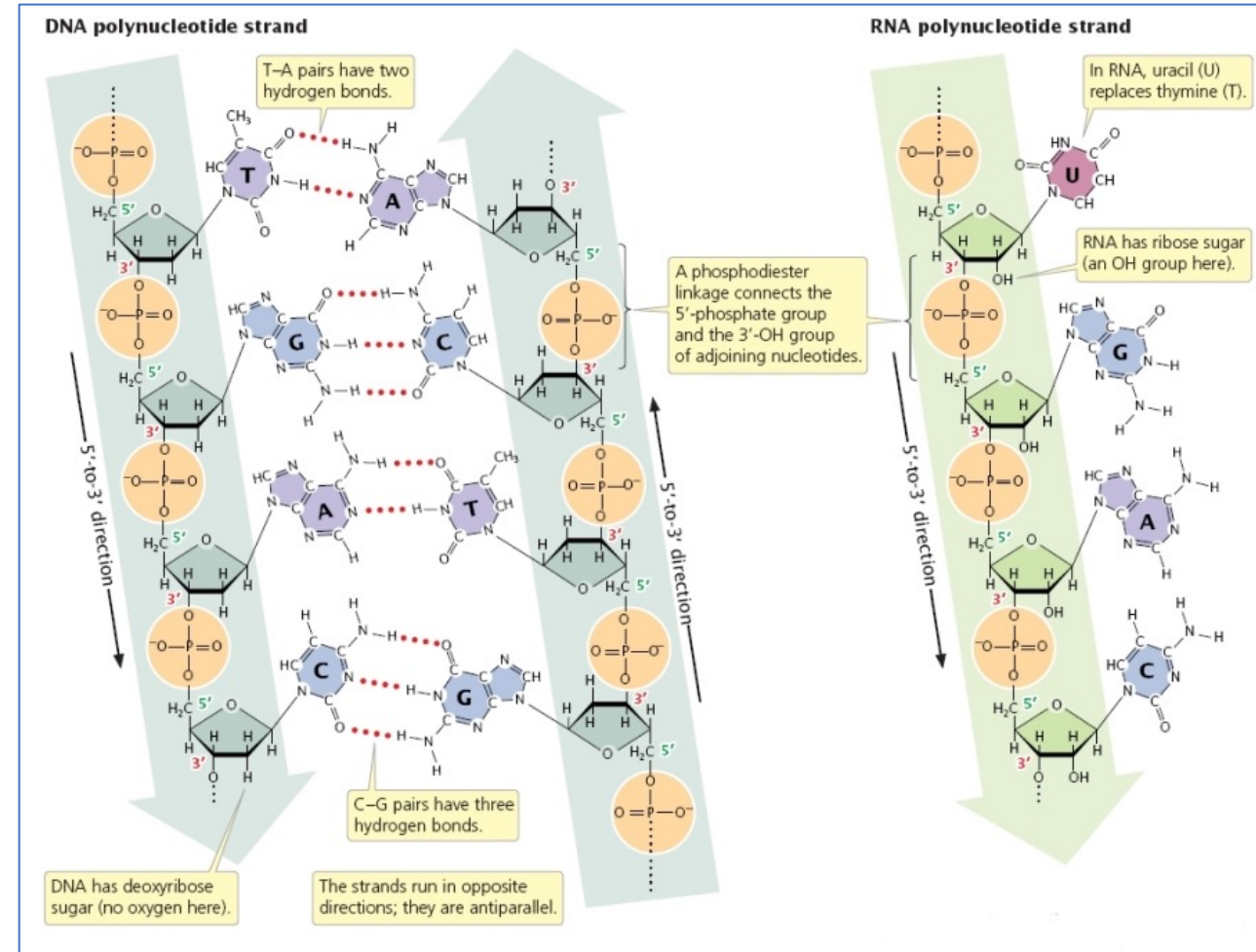
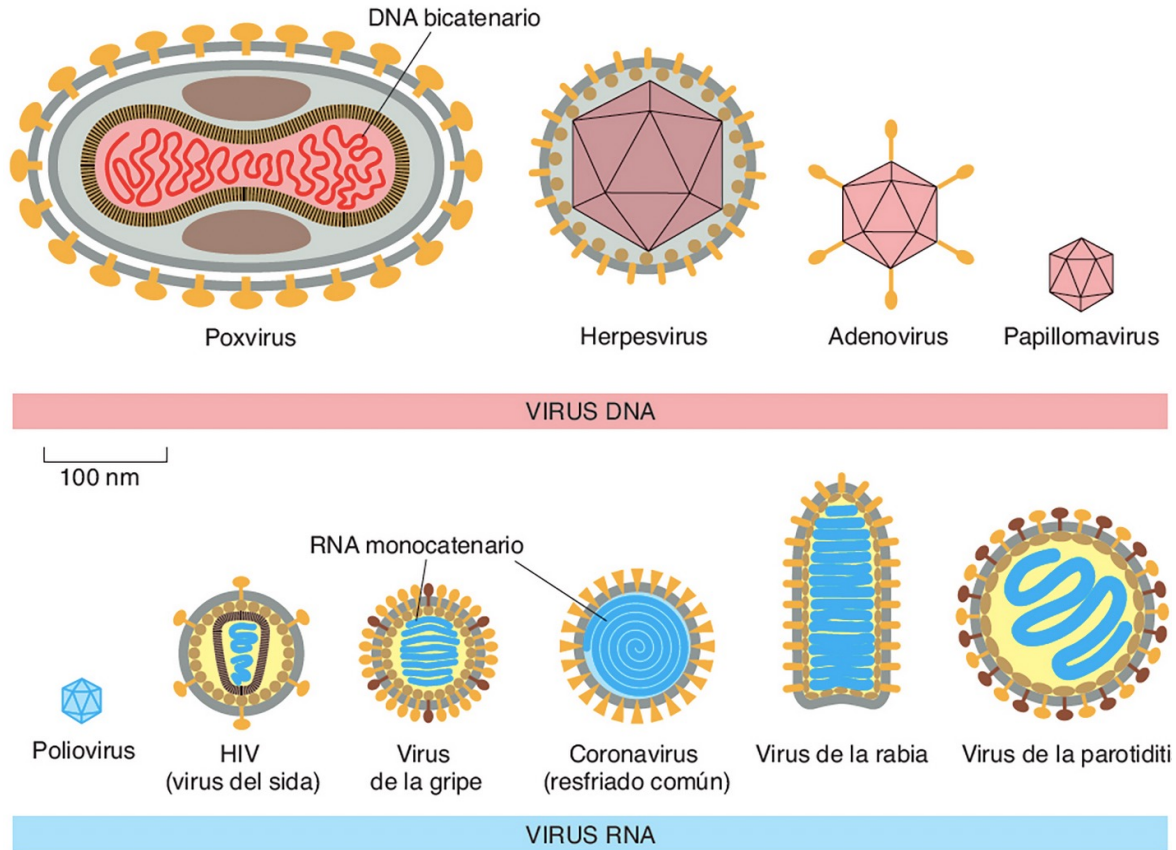


Agentes subcelulares patógenos. Virus



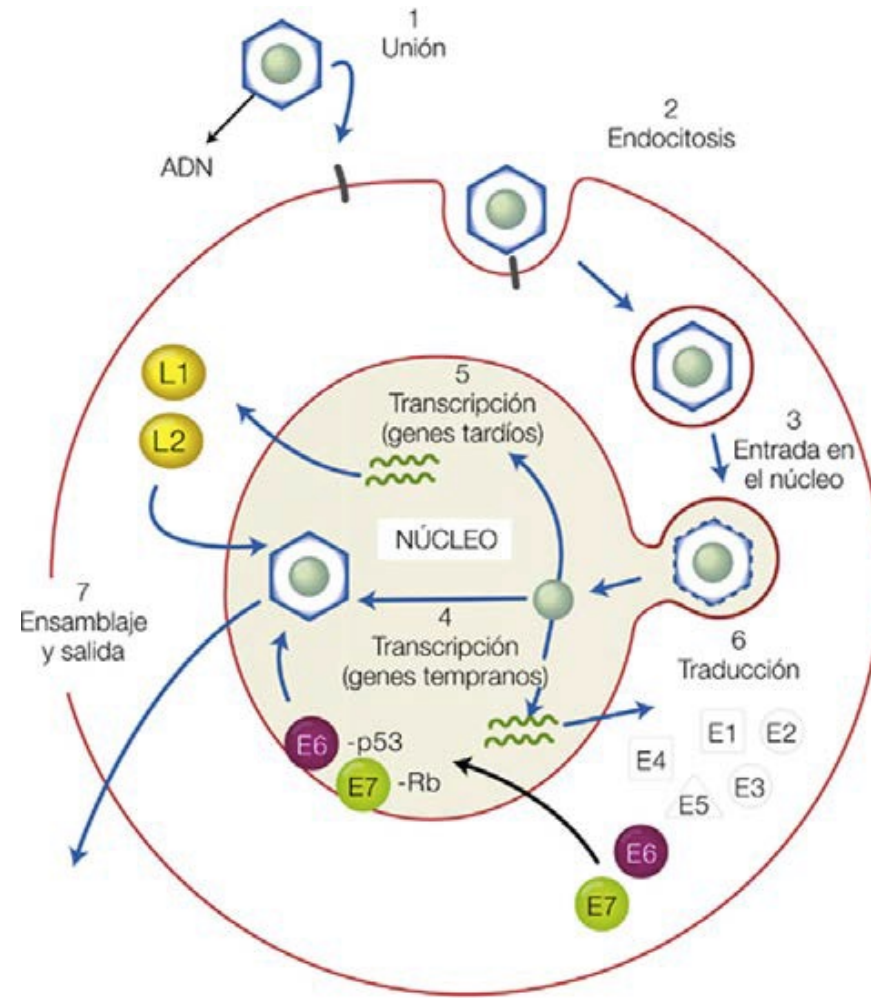
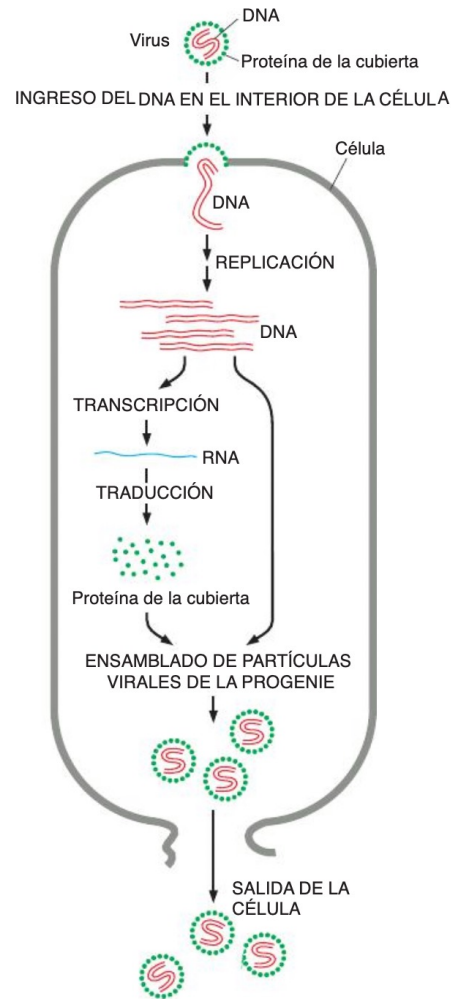
En el **ciclo lítico**, el virus se multiplica en la célula y termina causando su lisis, lo que produce la liberación de más virus.

Agentes subcelulares patógenos. Virus



Agentes subcelulares patógenos. Virus

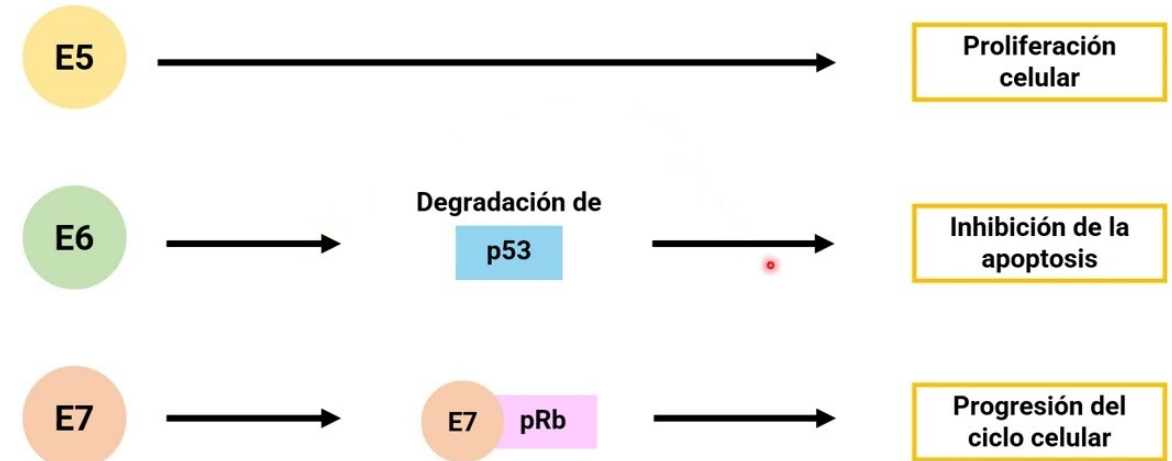
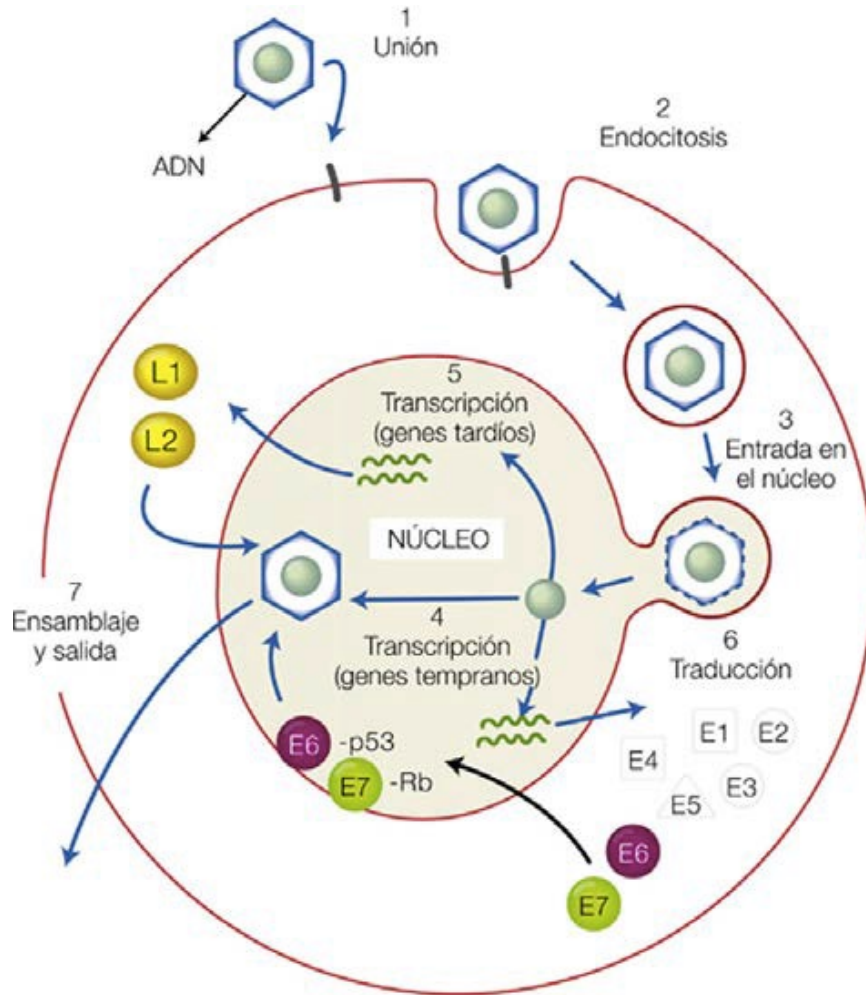
Los virus DNA se replican mediante DNA polimerasas codificadas por el genoma vírico o por la célula huésped



El virus del papiloma humano (DNA circular cadena doble) utiliza la polimerasa de la célula huésped y el DNA vírico no se integra

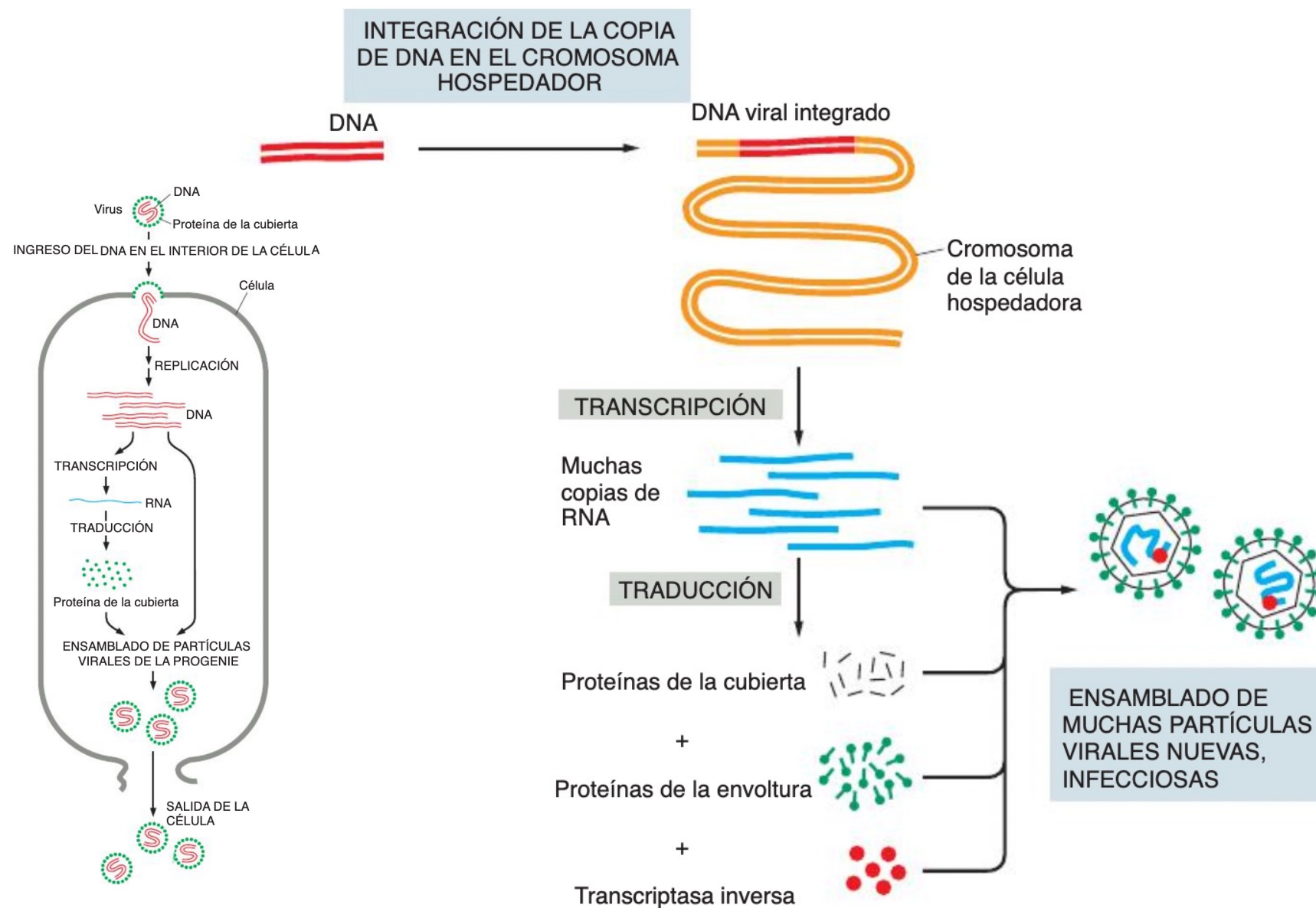
Agentes subcelulares patógenos. Virus

Los virus DNA se replican mediante DNA polimerasas codificadas por el genoma vírico o por la célula huésped

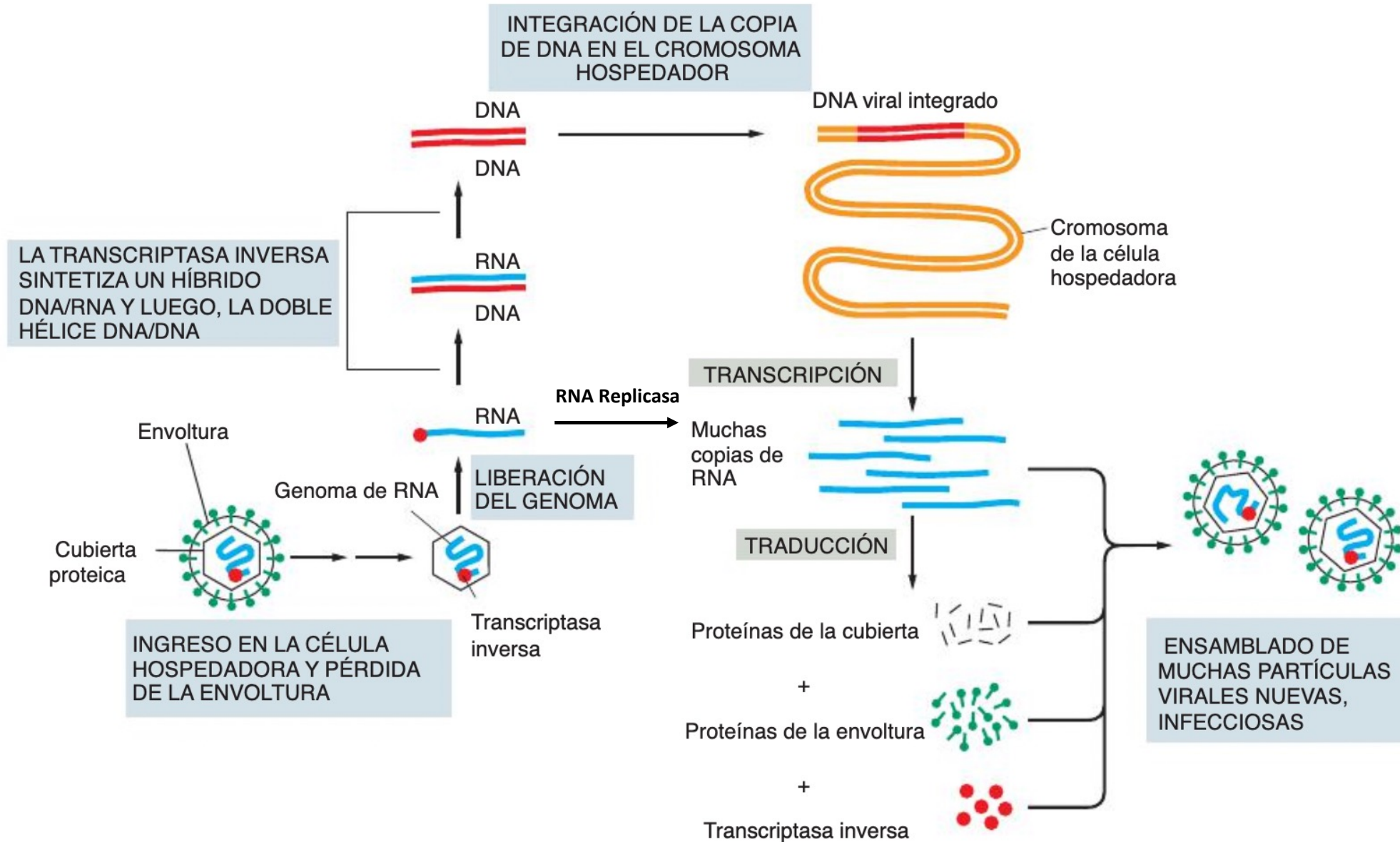


El virus del papiloma humano (DNA circular cadena doble) utiliza la polimerasa de la célula huésped y el DNA vírico no se integra

Agentes subcelulares patógenos. Virus

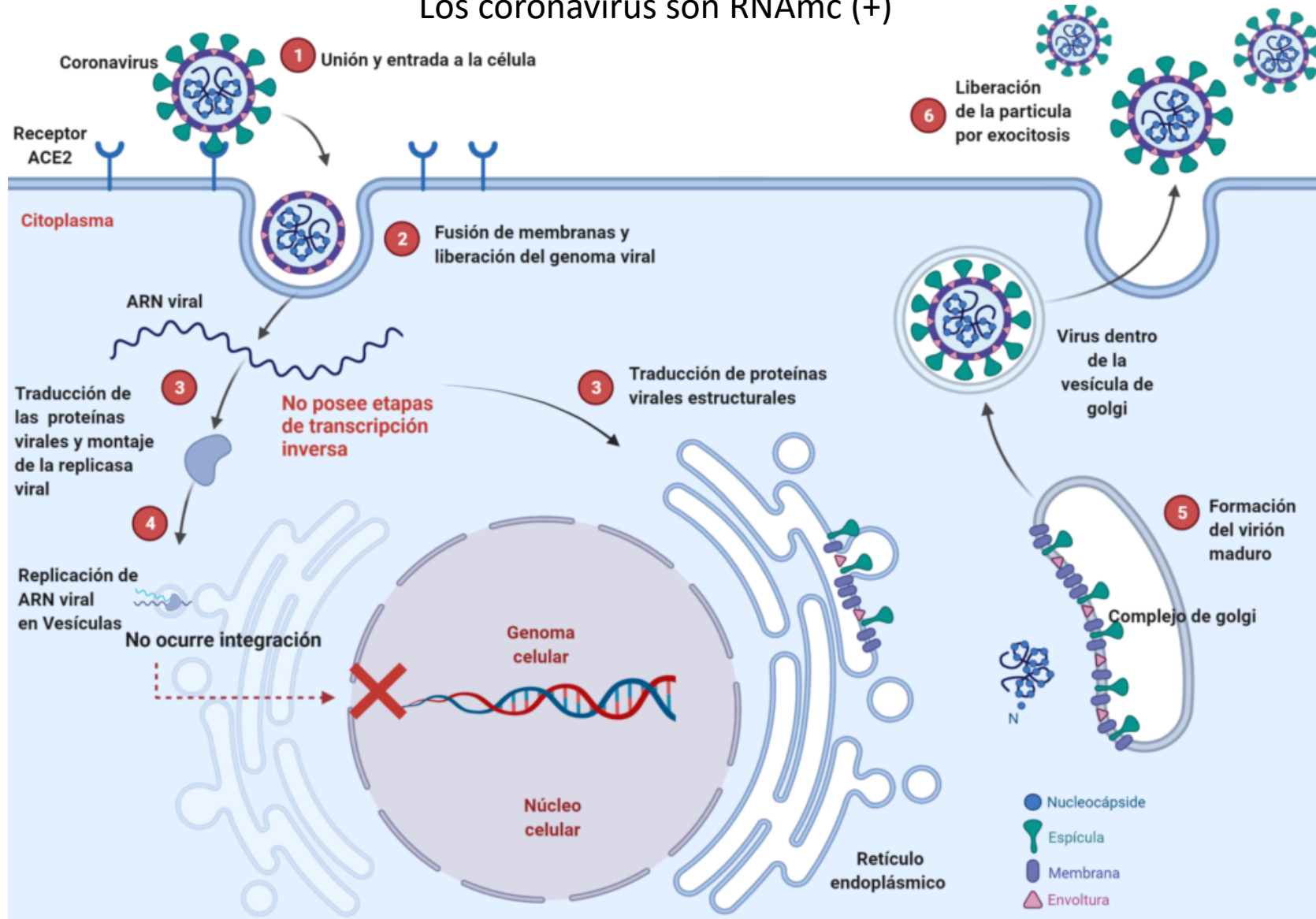


Agentes subcelulares patógenos. Virus



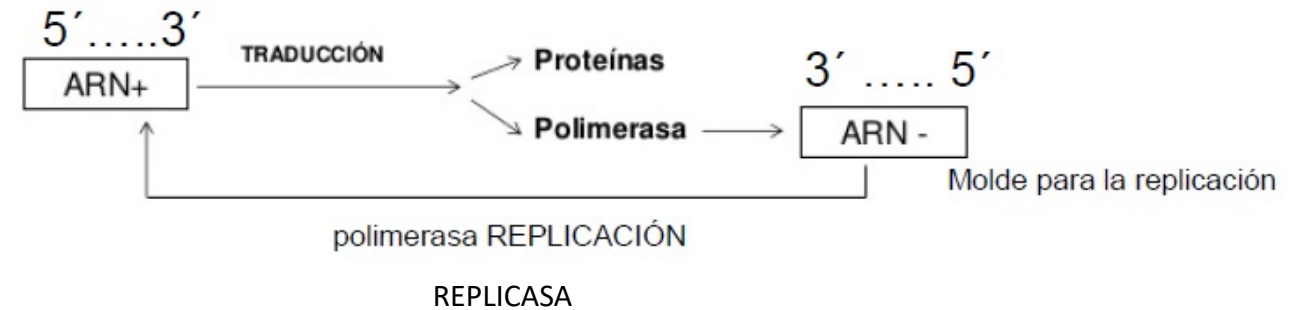
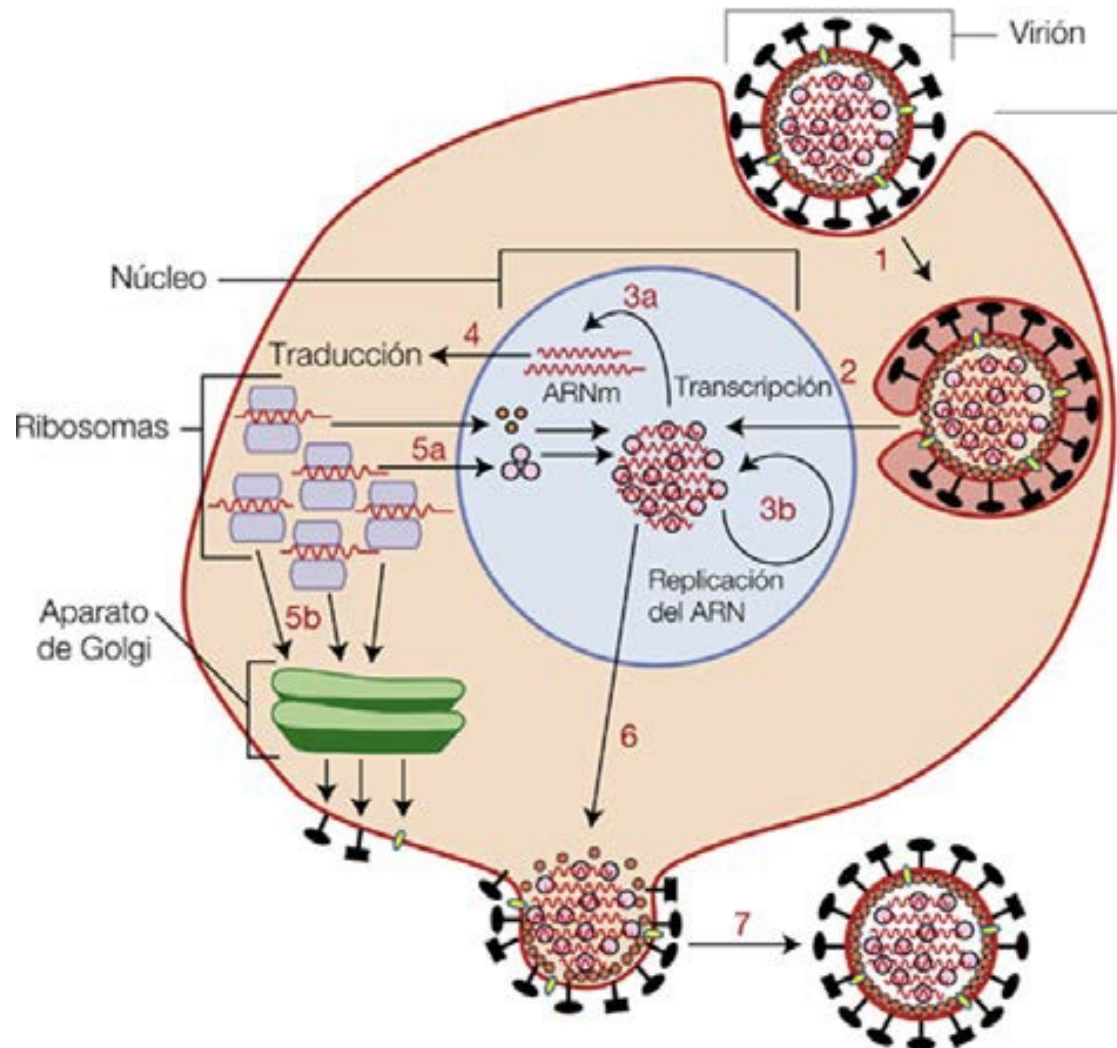
Agentes subcelulares patógenos. Virus

Los coronavirus son RNAmc (+)



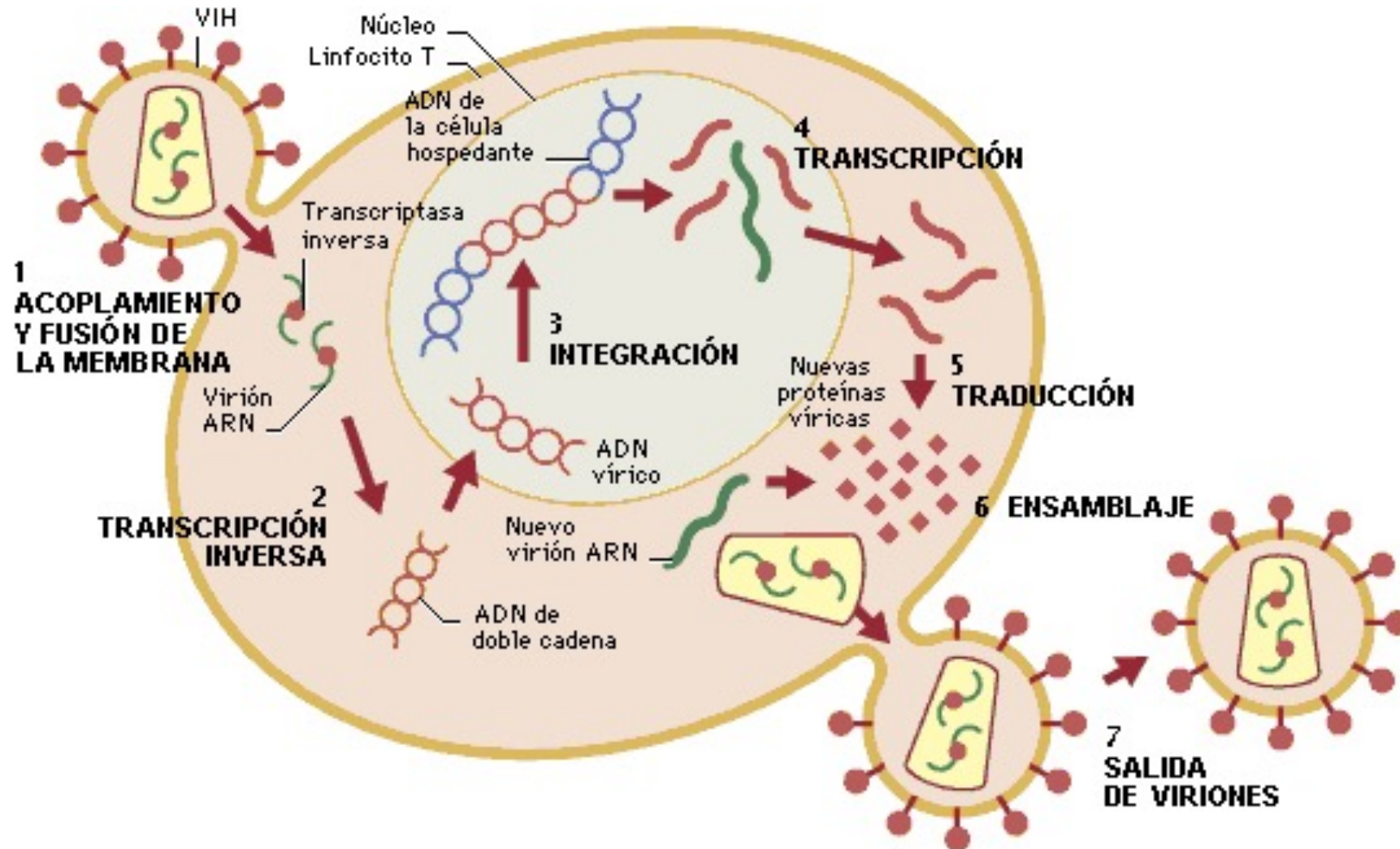
Agentes subcelulares patógenos. Virus

El virus de la gripe es RNAmc (-)



Agentes subcelulares patógenos. Virus

Hay virus RNA que codifican para la enzima transcriptasa inversa, con la que sintetizan DNA a partir de un molde de RNA





Universidad de Valladolid

Introducción. Organización de los seres vivos

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

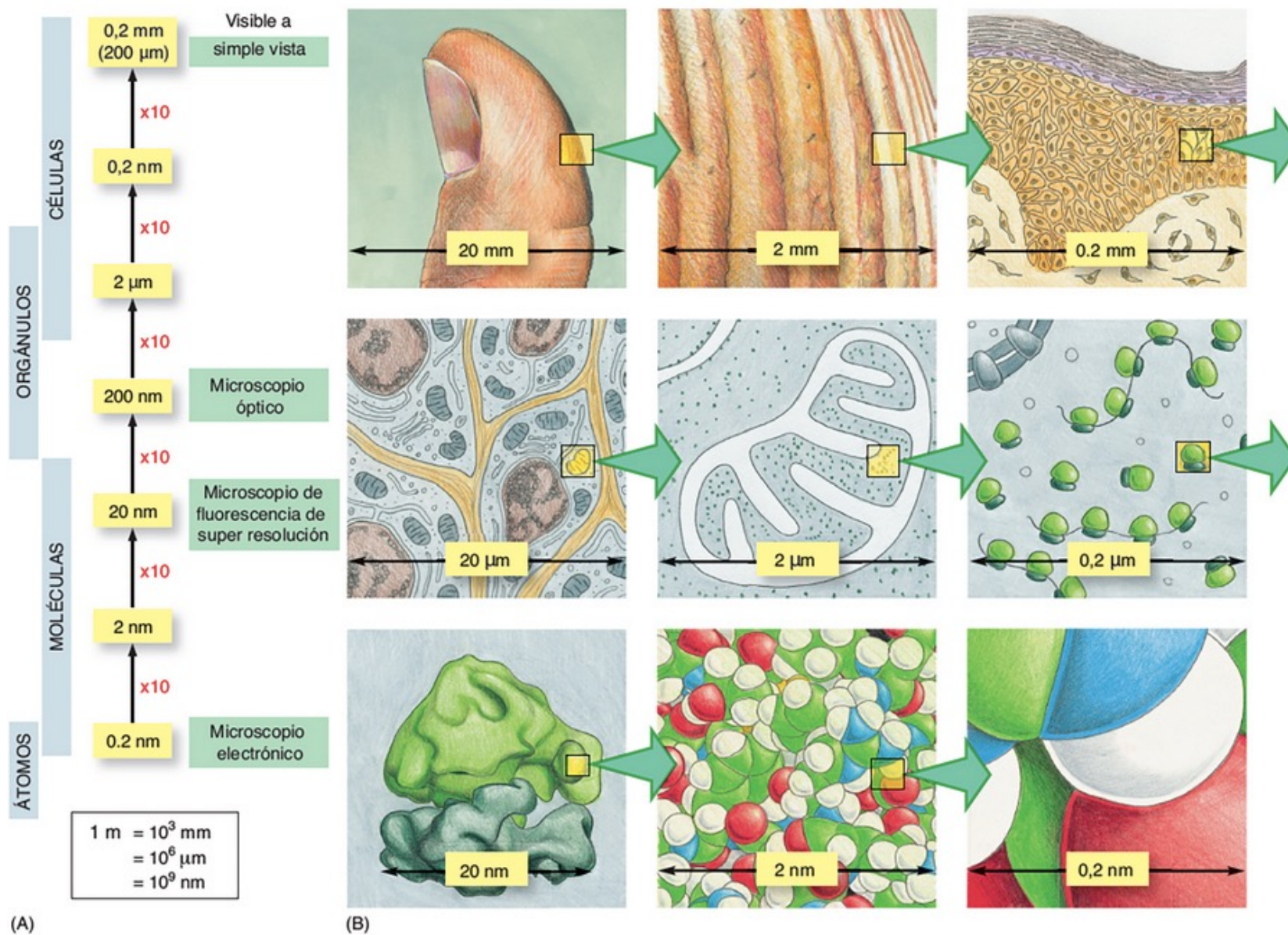
Métodos y técnicas básicas en biología celular

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es

Tamaño de las células y sus componentes



Límite de resolución

PODER DE RESOLUCIÓN

LA MENOR DISTANCIA A LA QUE PUEDEN
ESTAR DOS PUNTOS PARA SER
DISTINGUIDOS COMO TAL

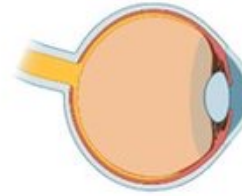


Fully resolved

Just resolved



Unresolved



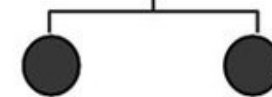
Ojo humano

0.2 mm = 200.000 nm



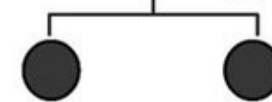
Microscopio óptico

200 nm



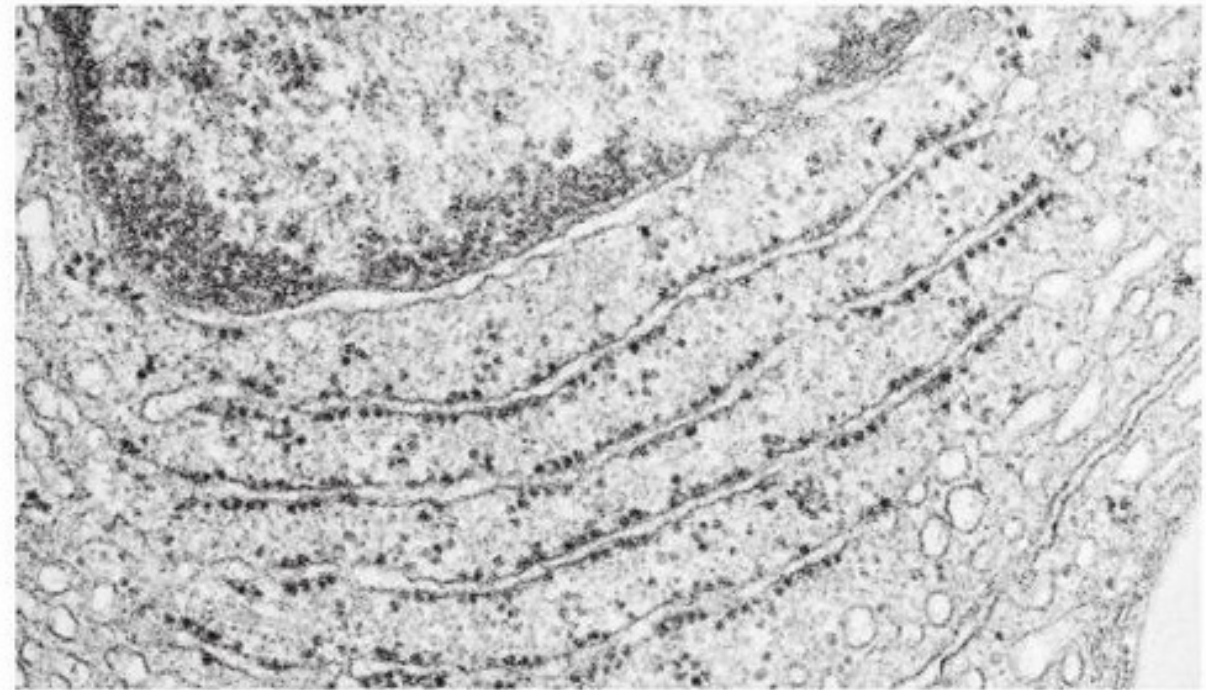
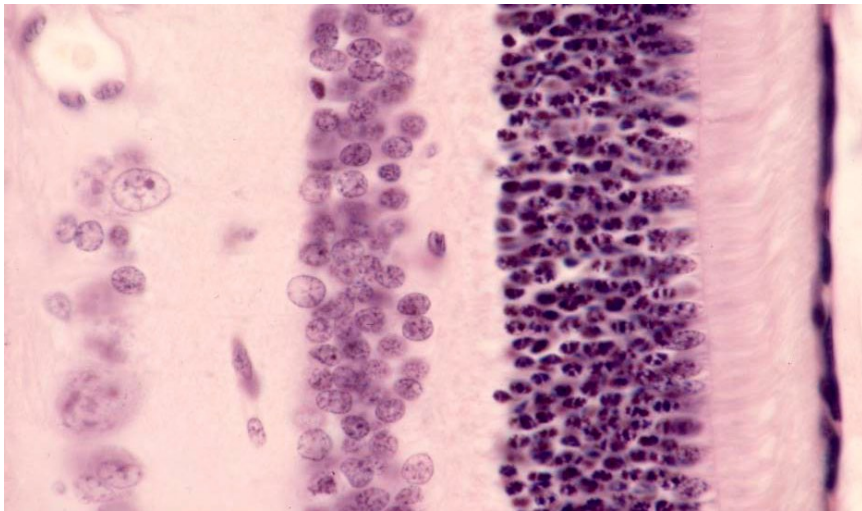
Microscopio electrónico

0.2 nm = 2 Ångstroms



Para estudiar en detalle la célula nos hace falta el microscopio

Instrumentos de óptica que nos permiten ver objetos o detalles estructurales imposibles de distinguir a simple vista porque están por debajo del límite de resolución del ojo humano.



Cortesía de Daniel S. Friend.

0,5 μm

Microscopio óptico vs. microscopio electrónico

Conceptos de microscopía

RESOLUCIÓN: Capacidad de un microscopio para distinguir objetos separados por pequeñas distancias.

El **microscopio óptico** tiene un **límite resolución** de cerca de 200 nm (**0.2 μm**)

Esta limitación teórica de los microscopios está determinada por 2 factores:

1. La longitud de onda de la luz visible: λ

(microscopio óptico: 0,5 μm)

2. El poder de captación de las lentes: Apertura numérica (**AN**): Tamaño del cono de luz que entra en la lente después de pasar a través de una muestra.

$$(AN) = n \sin \alpha$$

n: índice de refracción medio a través del cual la luz viaja entre la muestra y la lente (aire=1; aceite de inmersión= 1,4)

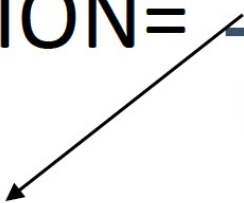
α : mitad de la anchura del cono de luz recorrido por lente. (Máx 90°, sen 90°=1)

Conceptos de microscopía

RESOLUCIÓN: Capacidad de un microscopio para distinguir objetos separados por pequeñas distancias.

El **microscopio óptico** tiene un **límite resolución** de cerca de 200 nm (**0.2 μm**), en tanto que el microscopio electrónico puede incrementarlo en aproximadamente 1000 veces.

Esta limitación teórica de los microscopios está determinada por 2 factores:

$$\text{RESOLUCIÓN} = \frac{0,61 \lambda}{n \sin \alpha} \rightarrow \frac{0,61 \times 0,5}{1,4} = \mathbf{0,22 \mu\text{m}}$$


Constante de proporcionalidad: grado de superposición de dos puntos para que puedan ser resueltos por el ojo humano.

Conceptos de microscopía

RESOLUCIÓN: Capacidad de un microscopio para distinguir objetos separados por pequeñas distancias.

El **microscopio óptico** tiene un **límite resolución** de cerca de 200 nm (**0.2 μm**), en tanto que el microscopio electrónico puede incrementarlo en aproximadamente 1000 veces.

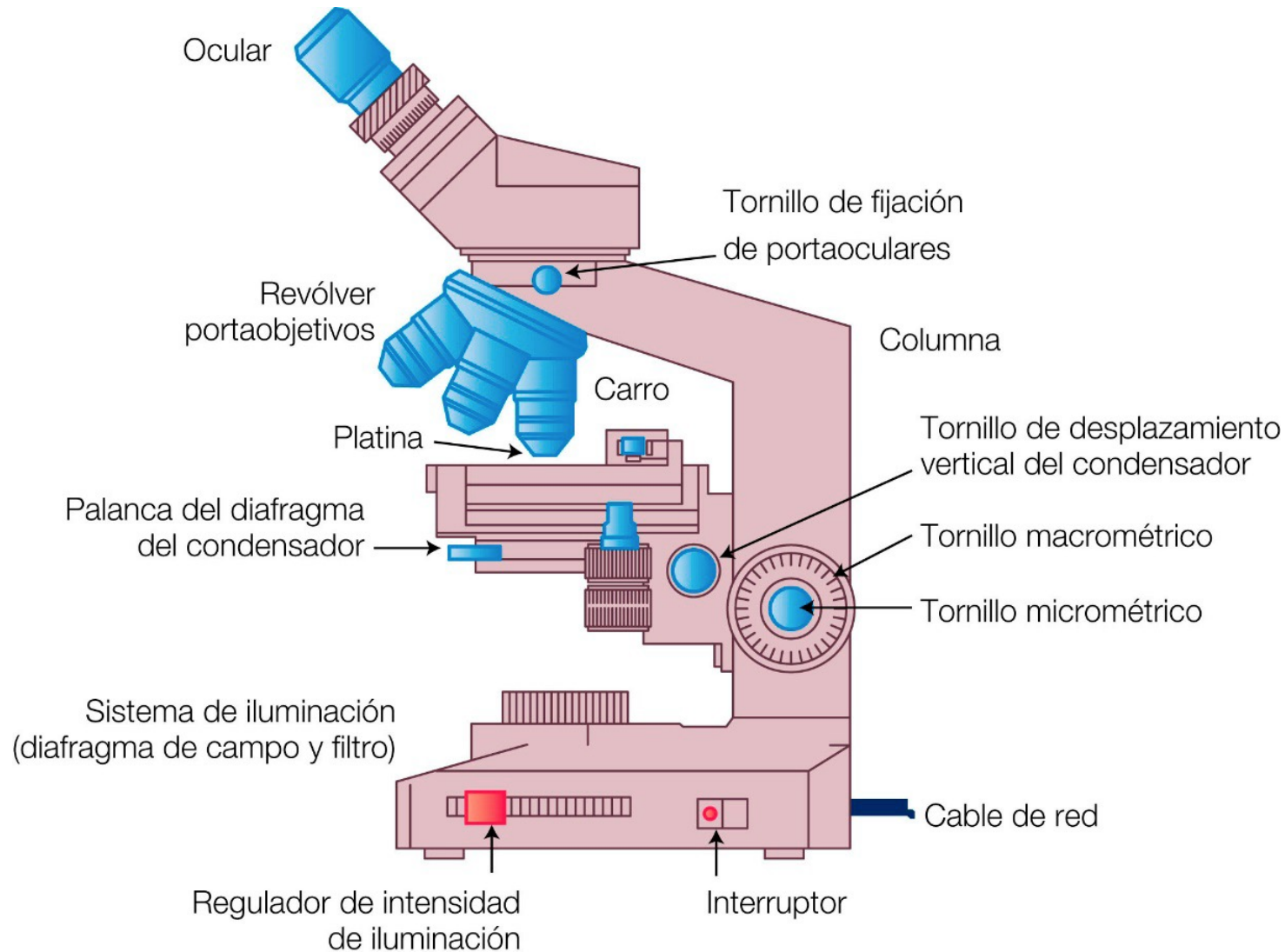
Esta limitación teórica de los microscopios está determinada por 2 factores:

$$\text{RESOLUCIÓN} = \frac{0,61 \lambda}{n \sin \alpha} \rightarrow \frac{0,61 \times 0,5}{1,4} = \mathbf{0,22 \mu\text{m}}$$

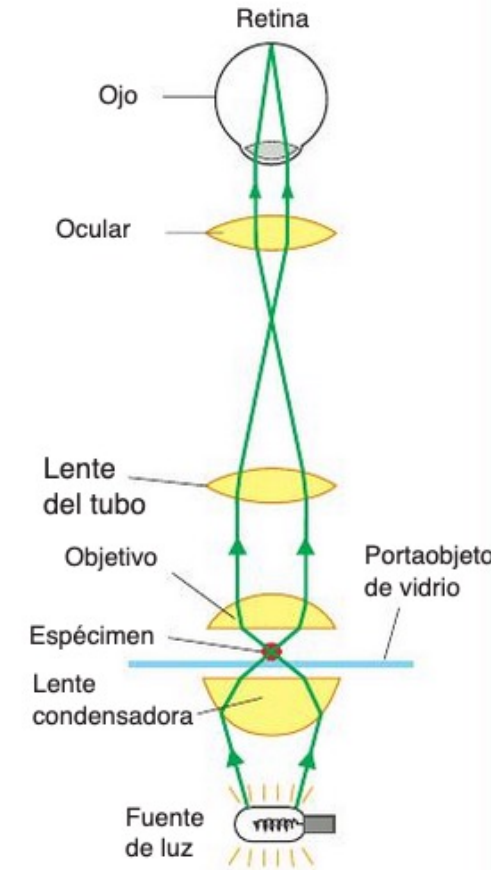
El poder de resolución del ojo humano es de aproximadamente 0,2mm

El microscopio electrónico puede incrementarlo en aproximadamente 1000 veces.

Microscopio óptico



MICROSCOPIA ÓPTICA CONVENCIONAL



Recorrido de la luz en un microscopio óptico

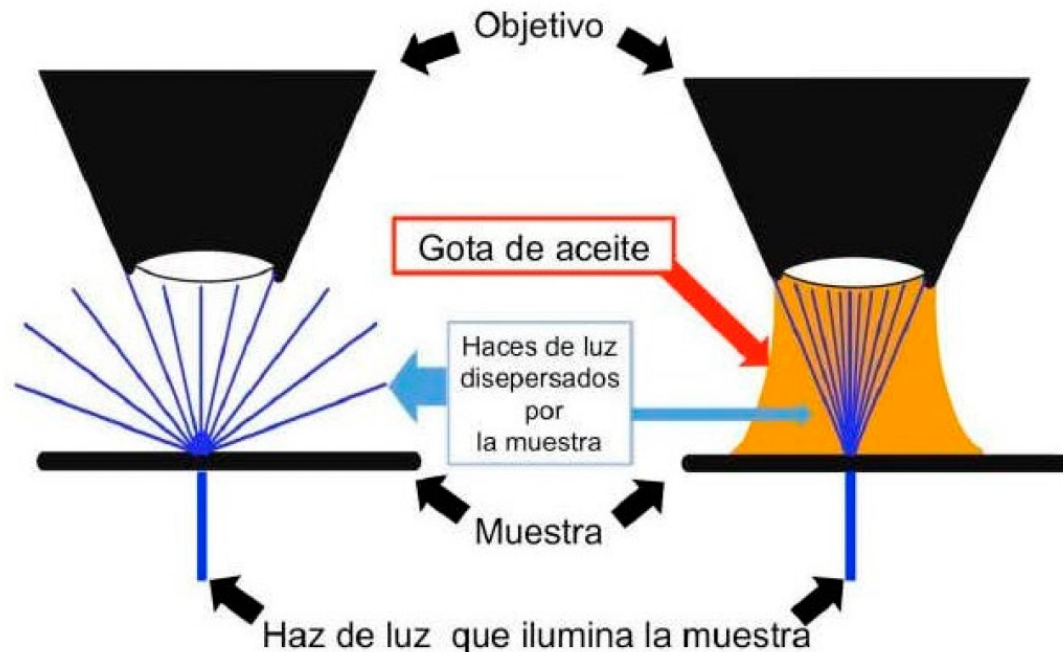
Microscopio óptico

• OBJETIVOS

Conjunto de **lentes** que captan la luz proveniente de la muestra y **generan la primera ampliación de la imagen**.

Los hay de diferentes aumentos:

- Objetivos secos: 4X, 10X, 20X, 40X.
- Objetivos húmedos o de inmersión: 63X, 100X.



Aumentos: nº de veces que un sistema óptico puede incrementar el tamaño de la imagen de un objeto.

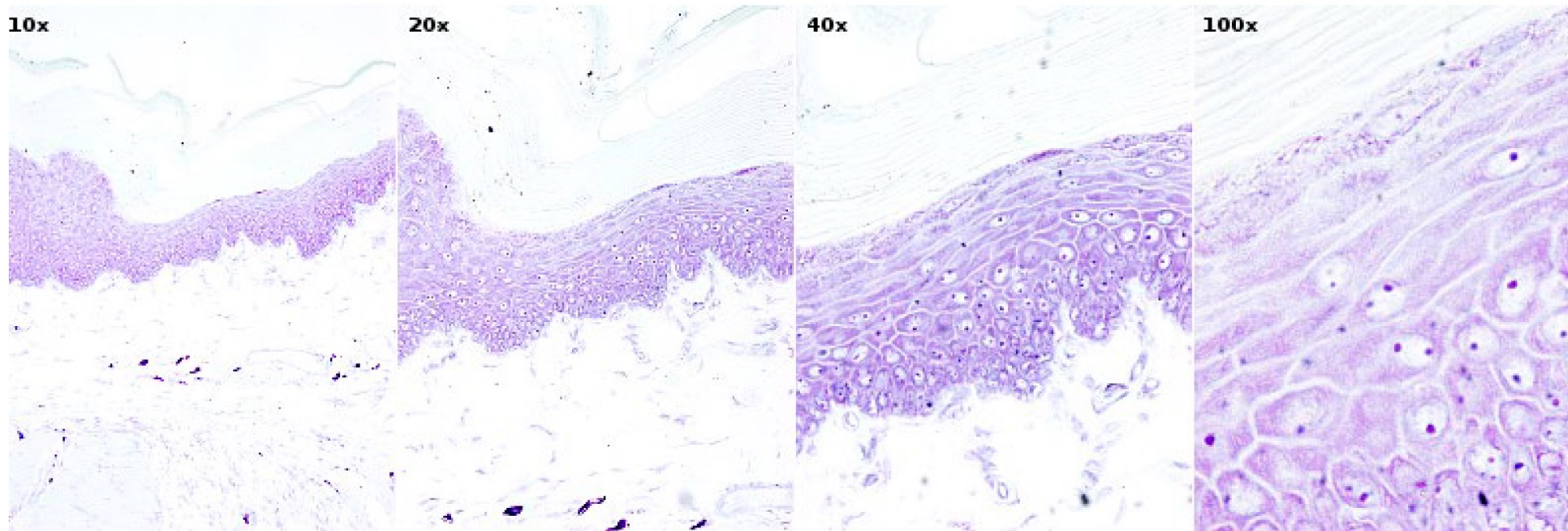
Objetivos de inmersión: necesitan una **gota de aceite** entre el objetivo y la muestra para igualar el índice de refracción del vidrio del cubreobjetos al de la lente del objetivo. Así se disminuye la desviación de los rayos de luz y se **aumenta la nitidez de las imágenes**.

Microscopio óptico

El aumento total = aumento del objetivo x aumento del ocular.

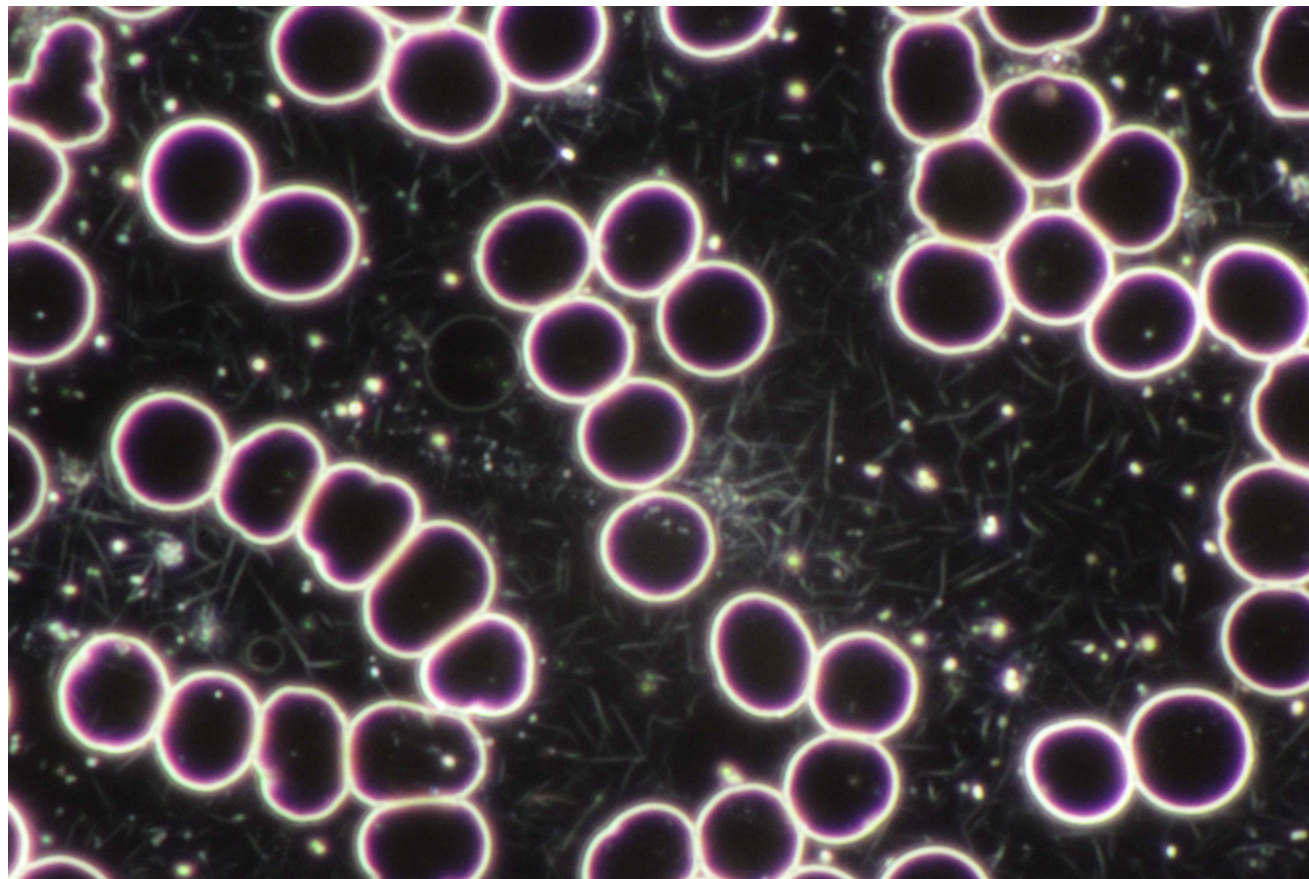
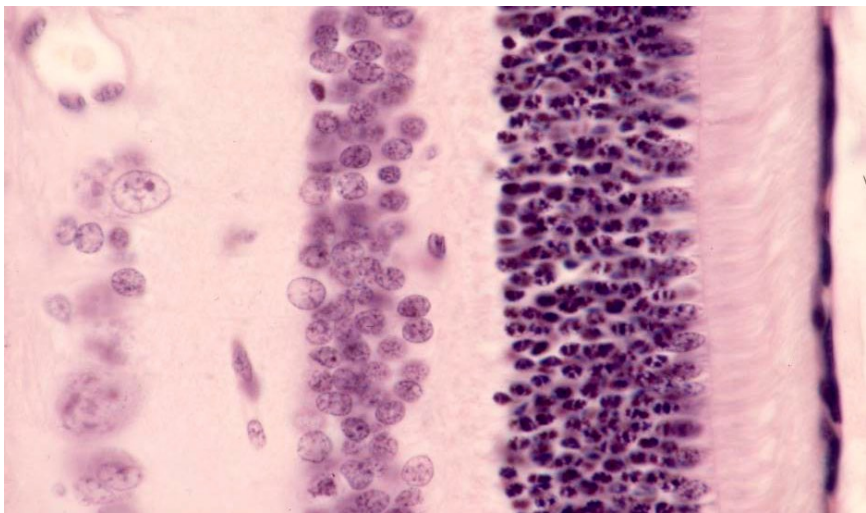
Ej objetivo 10 X (= 10 x 10)

objetivo 40 X (= 40 x 10).



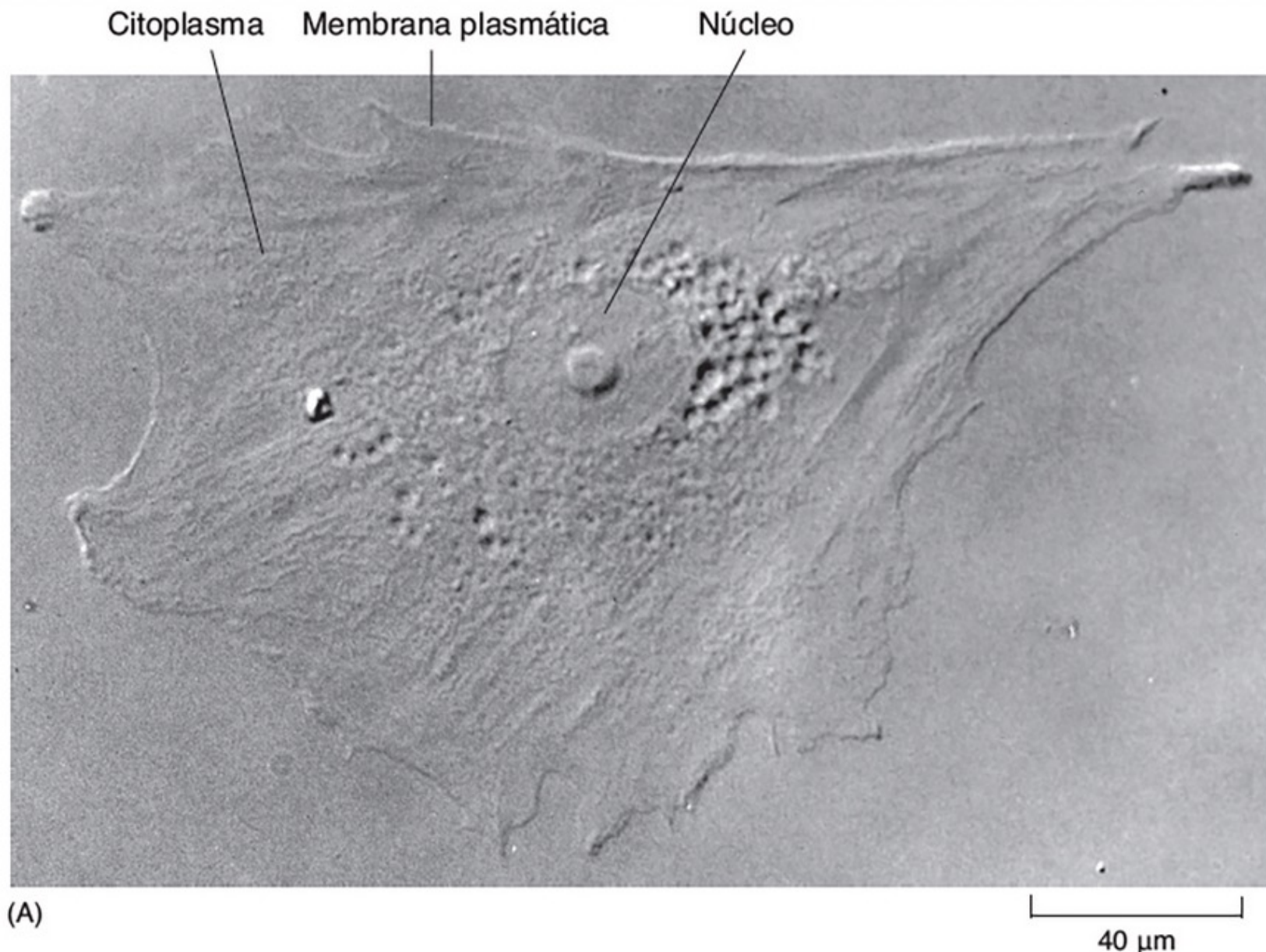
Imágenes resultantes del uso de objetivos con diferentes aumentos (especificados en las imágenes) al observar un epitelio estratificado plano queratinizado.

Microscopio óptico



Campo claro vs. campo oscuro

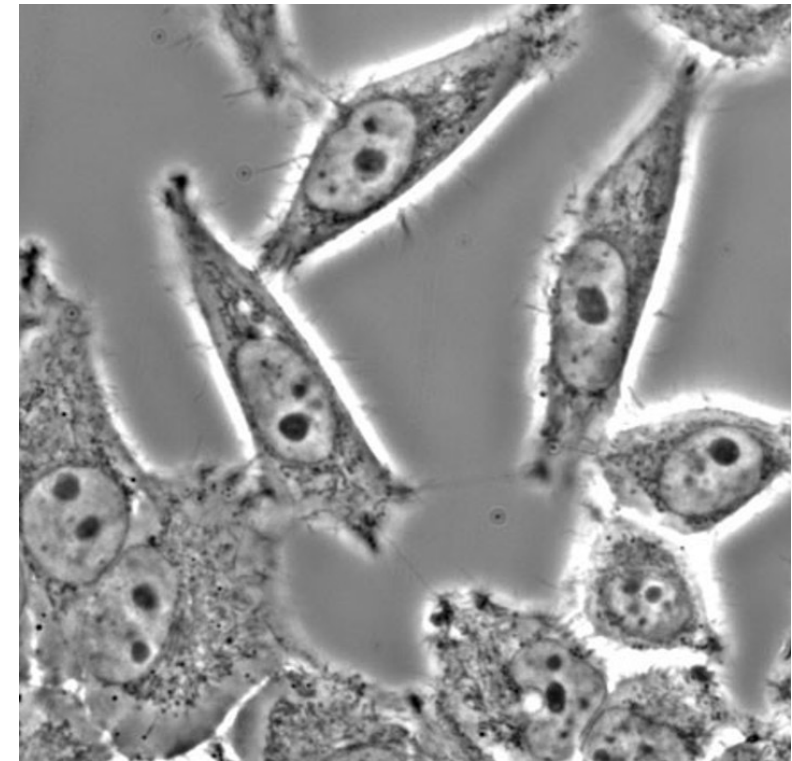
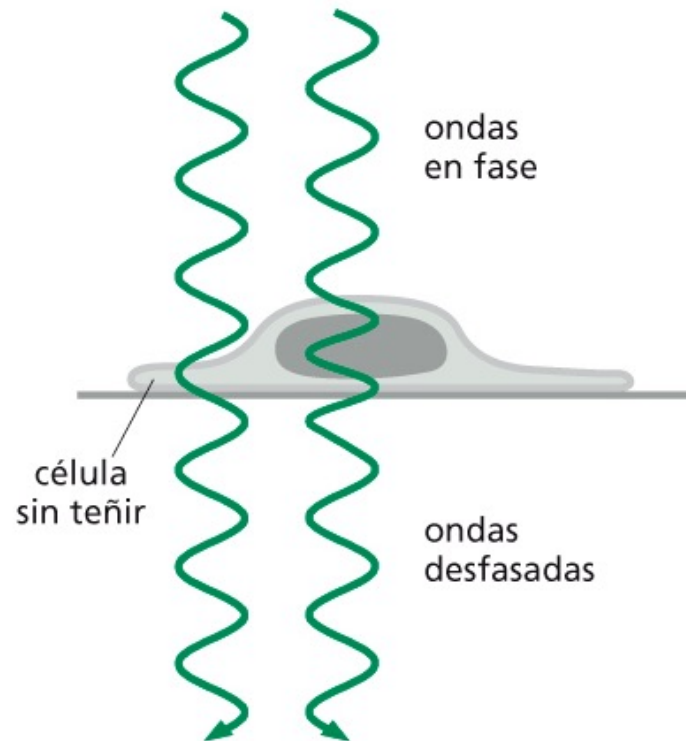
Microscopio óptico



Microscopio óptico

La **microscopia de contraste de fases** se basa en convertir las variaciones de densidad o grosor de las partes de una célula en diferencias de contraste.

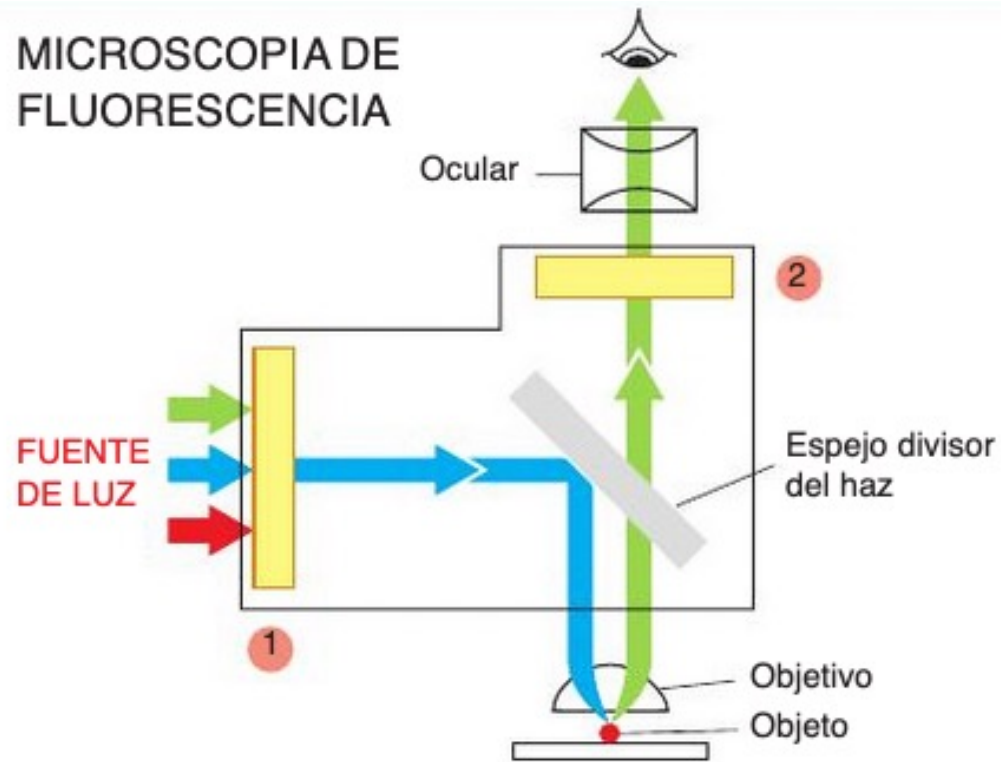
Condensador y objetivos específicos.



Podemos observar células vivas y tejidos sin teñir.

Microscopio óptico

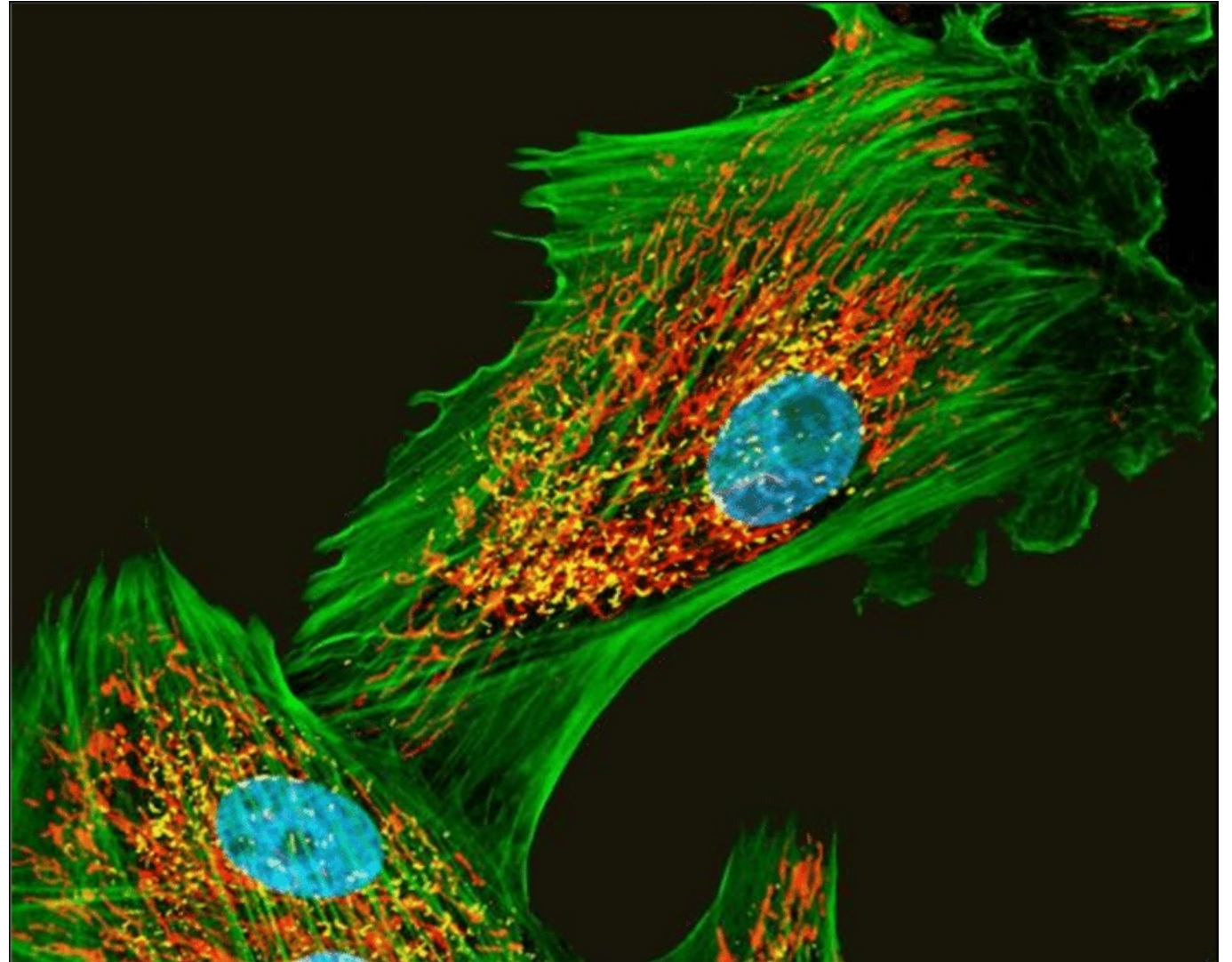
MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA



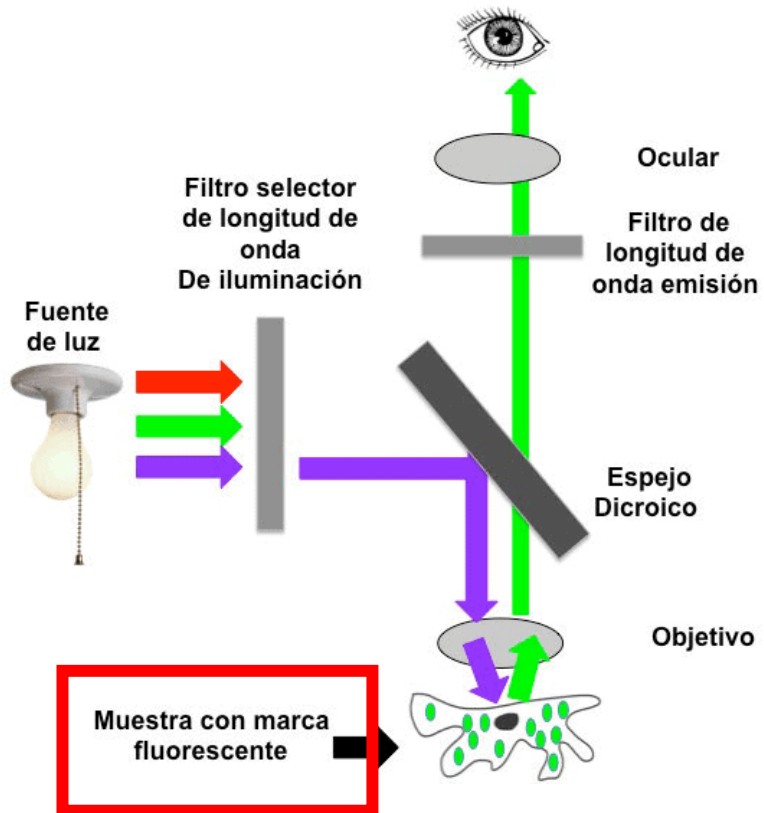
- Fluorescencia de campo amplio
- Fluorescencia confocal
- Fluorescencia de superresolución

Resolución

+

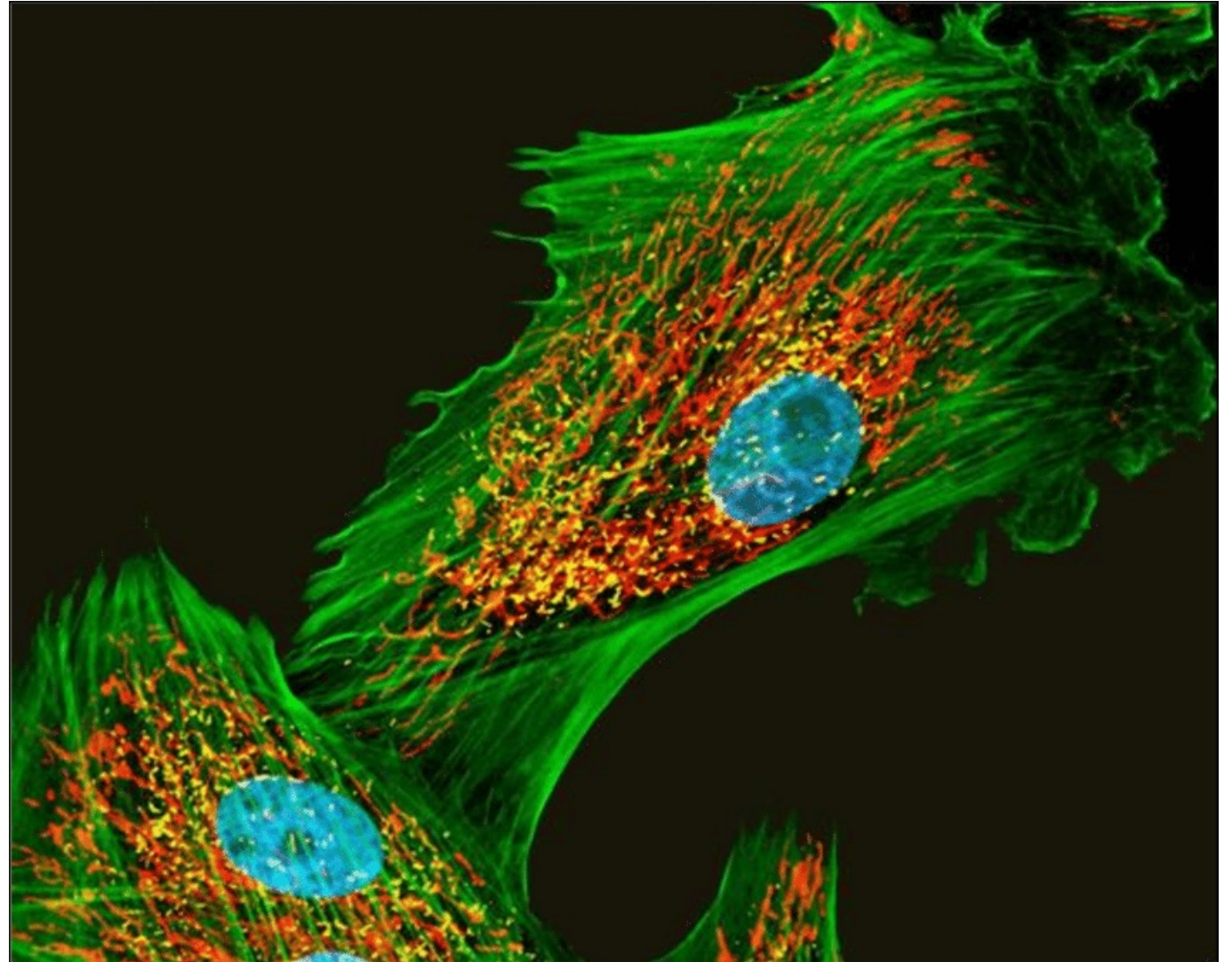


Microscopio óptico



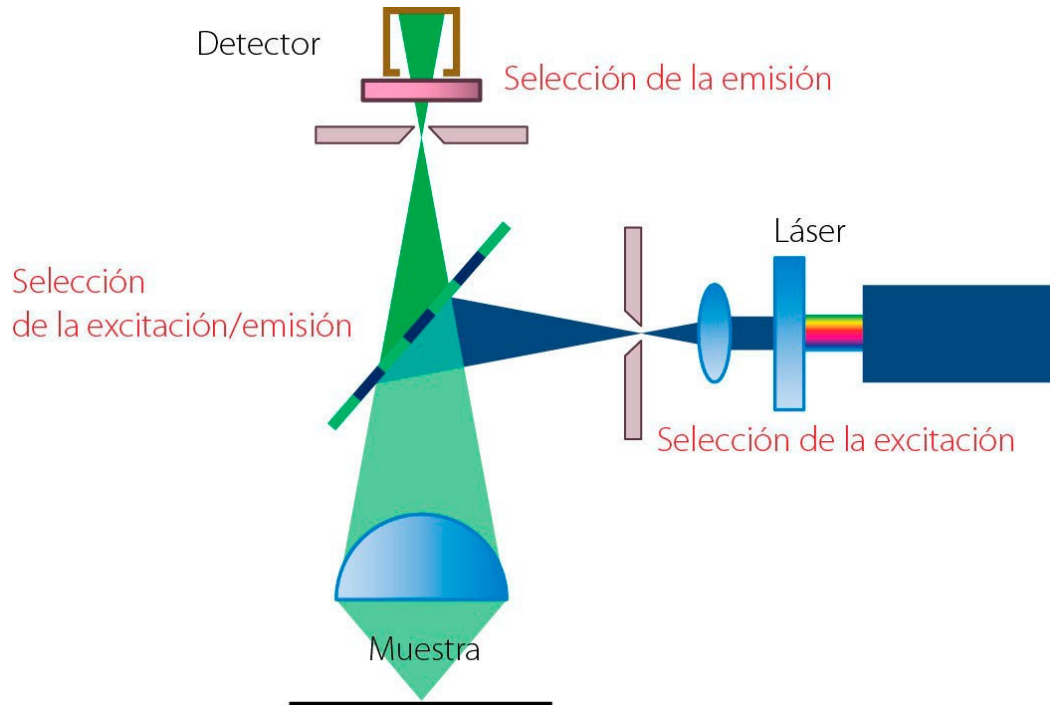
- Fluorescencia de campo amplio
- Fluorescencia confocal
- Fluorescencia de superresolución

Resolución
↓
+

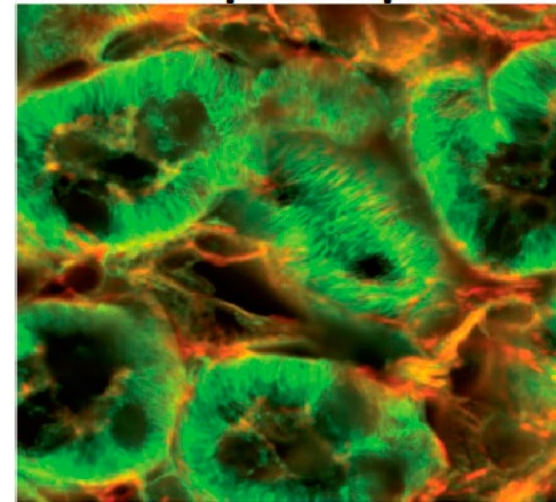


Microscopio óptico

La **microcopia fluorescente mediante laser confocal** permite obtener imágenes de mayor contraste y detalle gracias a que un LASER incide en un SOLO punto de la muestra



Campo amplio



Láser confocal

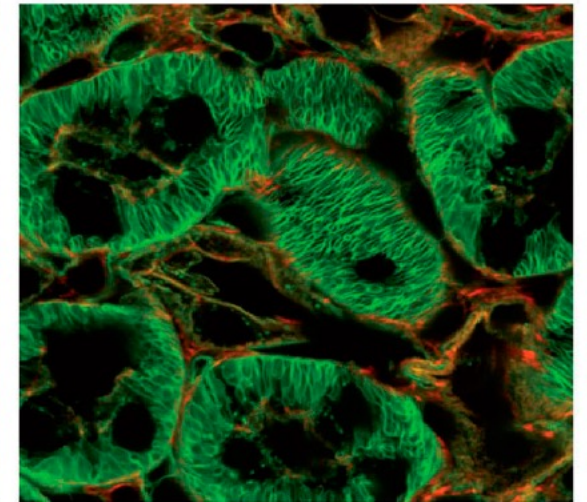


Imagen adaptada de Técnicas en histología y biología celular. (2ª Ed) L. Montuenga y cols. Elsevier.

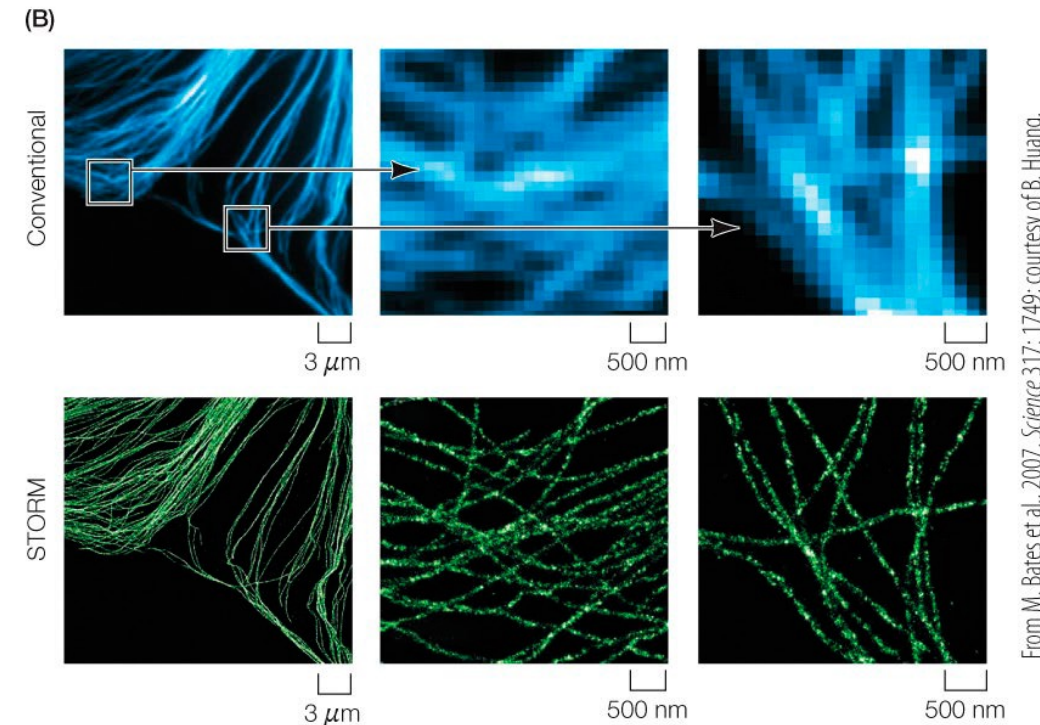
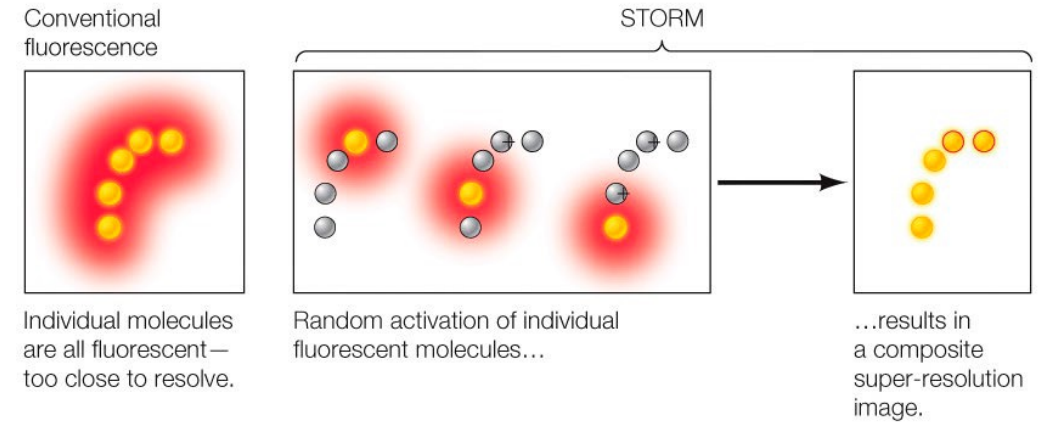
Microscopio óptico

La microscopia de fluorescencia de superresolución:

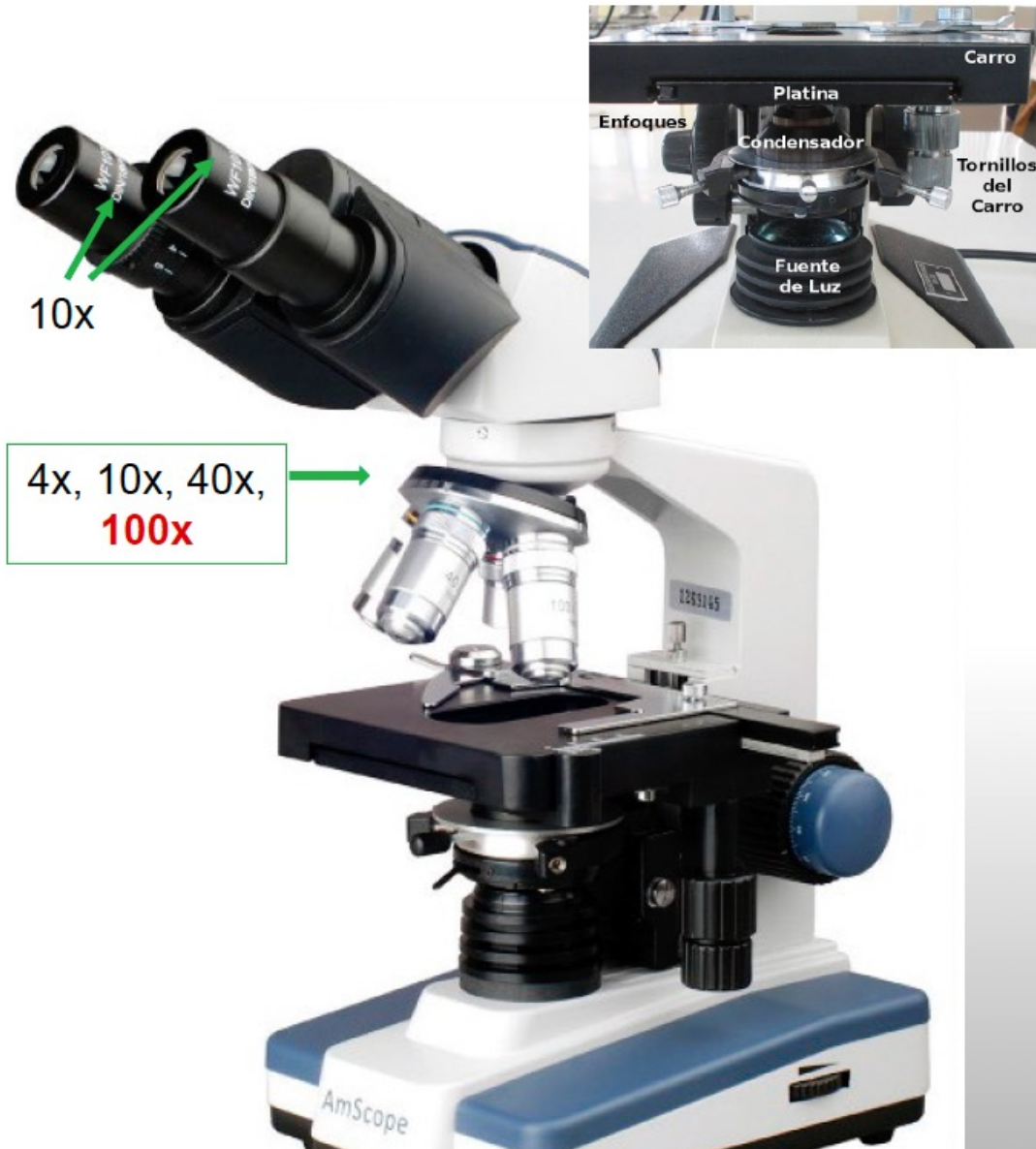
Utiliza **sondas fluorescentes** que pueden **cambiar entre los estados oscuro y fluorescente**.

Solo una fracción aleatoria reducida de las sondas es fluorescente en un momento dado.

Se obtienen múltiples imágenes a lo largo del tiempo, de manera que **es posible resolver moléculas fluorescentes individuales** y se construye **una imagen compuesta de superresolución**.



Microscopio óptico



1- Células o tejidos **fijados**.

- Incluidas
- Cortadas
- Teñidas

2- Células vivas

Microscopio óptico

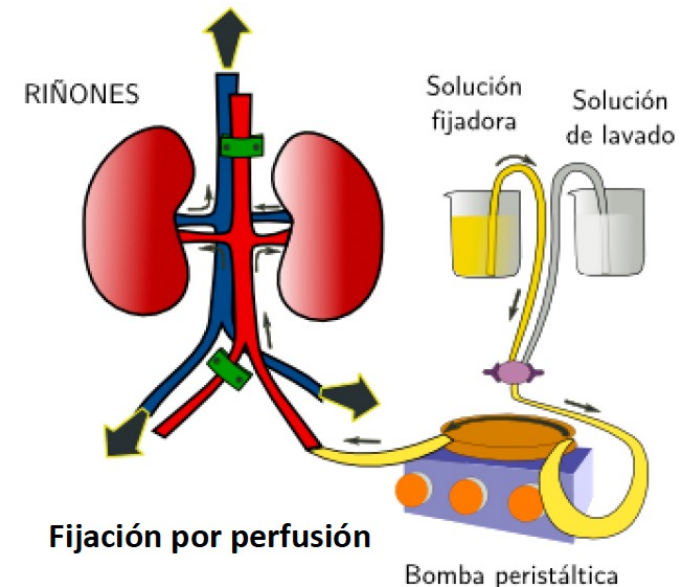
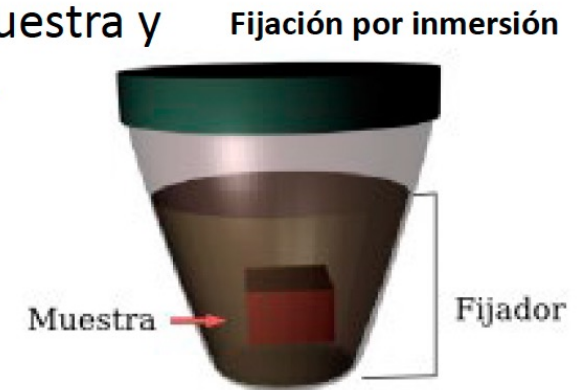
1. FIJACIÓN.

Tiene como finalidad **mantener la forma y la estructura** de la muestra y **preservar** sus **características bioquímicas y moleculares**.

- **Detiene los procesos de autólisis** (por liberación de enzimas lisosómicas) y **putrefacción** (por presencia de microorganismos).
- **Insolubiliza los componentes celulares** (principalmente proteínas).
- **Dota a la muestra de la consistencia** (dureza) necesaria para las manipulaciones posteriores.
- **Facilita las técnicas de tinción** y/o los análisis posteriores.

- Tipos:

- **Fijación física:** por congelación (a -70°).
- **Fijación química:** emplea fijadores químicos.
 - Entrecruzantes. Ej.: formaldehído, paraformaldehído.
 - Oxidantes. Ej.: tetróxido de osmio.
 - Precipitantes. Ej.: etanol, metanol.



Microscopio óptico

2. INCLUSIÓN / CONGELACIÓN.

Tiene como finalidad **reemplazar el agua de la muestra por un medio que solidifica y permite realizar cortes finos y homogéneos.**

- Proporciona **consistencia, dureza y soporte estructural** a la muestra.
- Permite la **fijación de la muestra al microtomo.**
- **Medios de inclusión:**
 - **Parafina:** para cortes finos.
 - **OCT:** para cortes de muestras congeladas.
 - **Resinas:** para cortes semifinos.

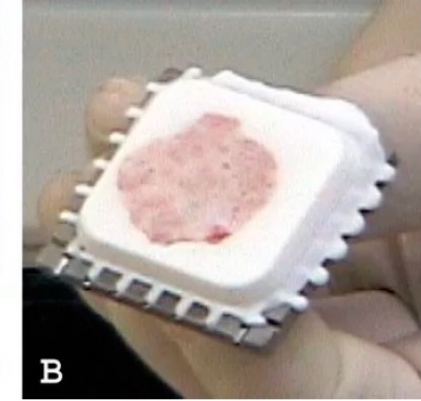


Imagen tomada de Leica Biosystems.



Inclusión de tejido en **parafina** para cortes en microtomo.

Microscopio óptico

3. CORTES. Tiene como finalidad **obtener muestras finas y homogéneas** a través de las cuales pueda pasar la luz del microscopio.

- Se realiza mediante el uso de microtomos:
 - **Microtomo**: realiza cortes de 3-6 μm de grosor.
 - **Criostato**: realiza cortes de muestras congeladas de mínimo 6-8 μm .
 - **Ultramicrotomo**: realiza cortes **cortes semifinos** (0,5-1 μm) o **ultrafinos** (10-100 nm).
- Los cortes se recogen en portaobjetos de vidrio para poder ser examinados.

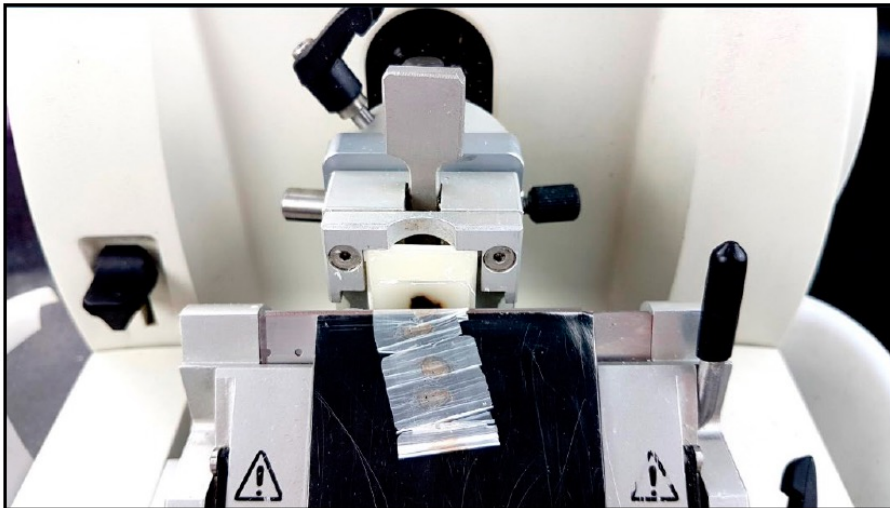


Imagen tomada de Leica Biosystems.

Microtomo realizando cortes de un tejido incluido en parafina y posterior recogida de los mismos en portaobjetos de vidrio.

Microscopio óptico

- **4. TINCIÓN:** Tiene como finalidad **aumentar el contraste** de las muestras mediante la **utilización de sustancias que colorean artificialmente** componentes celulares y extracelulares.

Generales: **Hematoxilina - eosina (H-E):**

- **Hematoxilina** (colorante básico/colorantes catiónicos) es captada por componentes ácidos (ac. nucleicos). Color **azul violeta**.
- **Eosina** (colorante ácido/colorantes aniónicos) es captada por componentes celulares básicos (citoplasma, colágeno). Color **rojo**.



Tinción con H-E. (250 X)

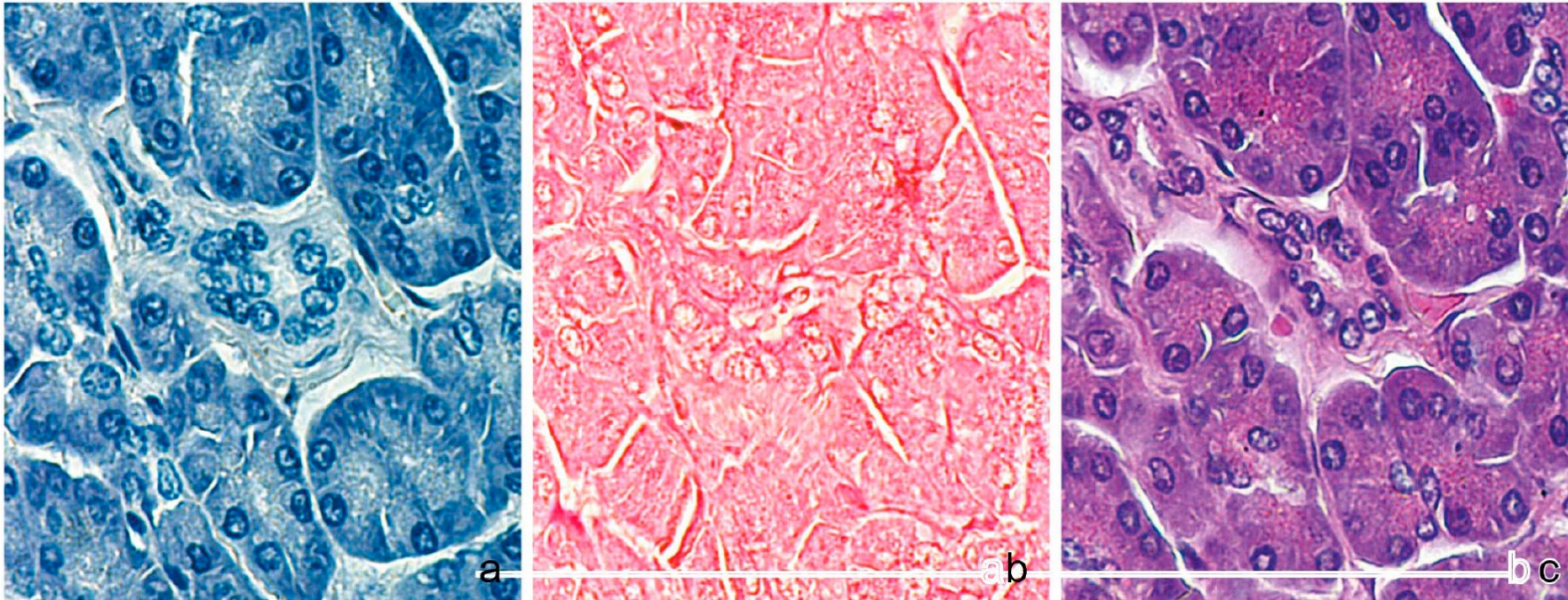
Núcleos celulares en azul oscuro o violeta;

Citoplasma en rojo.

Sustancia intercelular (t. conjuntivo) en rojo

Microscopio óptico

Tinción con Hematoxilina- Eosina



Tinción con hematoxilina-eosina (H&E).

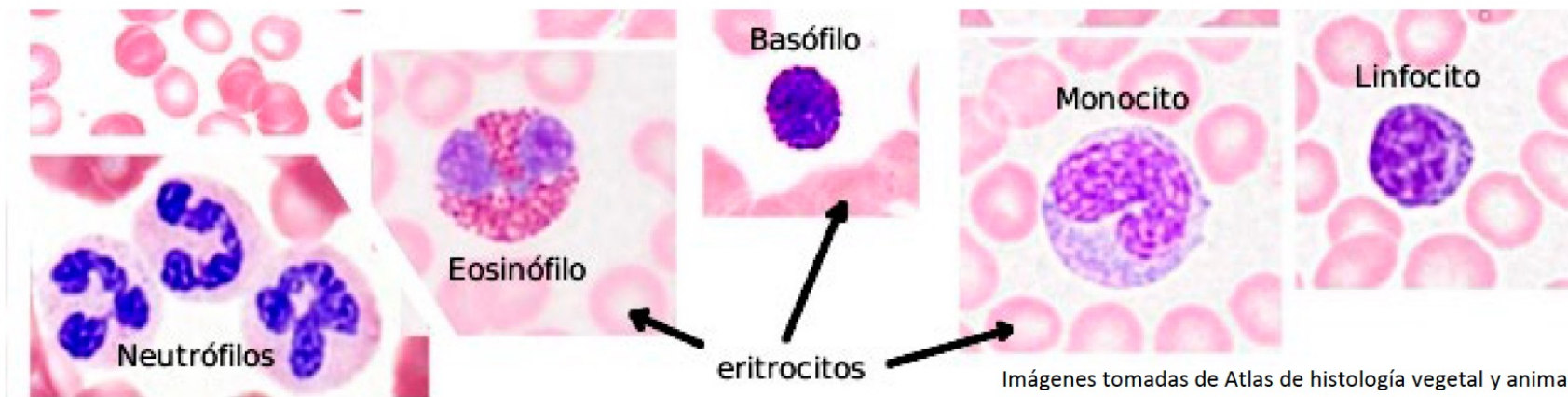
Secciones en serie de páncreas teñidas con **hematoxilina** (a), **eosina** (b) y su efecto combinado (c).

Microscopio óptico

- **4. TINCIÓN:** Tiene como finalidad **aumentar el contraste** de las **muestras** mediante la **utilización de sustancias que colorean artificialmente** componentes celulares y extracelulares.

Generales: **Giemsa**

- **Tinción general** muy empleada en **hematología**.
- Permite distinguir por su coloración los diferentes orgánulos de los leucocitos polimorfonucleares.
- Contiene una mezcla de colorantes catiónicos (azul de metileno, azur A y azur B) y aniónicos (eosina).



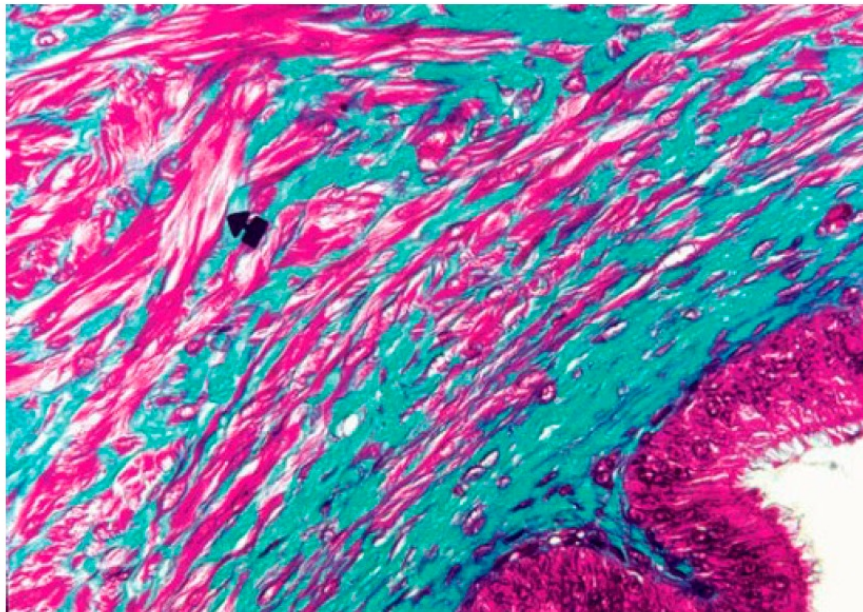
Imágenes tomadas de Atlas de histología vegetal y animal de la Universidad de Vigo.

Microscopio óptico

4. TINCIÓN: Coloración artificial de los distintos componentes celulares.

Tricrómicos: persiguen resaltar fibras colágenas del tejido conjuntivo, tiñiendo, además, el resto de estructuras tisulares.

- **Tricrómico de Masson:** coloración de fibras colágenas y elásticas. Se observan tres colores distintos; **tejido conjuntivo de verde**, **eritrocitos de rojizo**, **núcleos azul negro** y **citoplasma y fibras musculares rosa**



Las células musculares (flecha). El colágeno se tiñe de verde. Tinción tricrómico de Masson (400x).

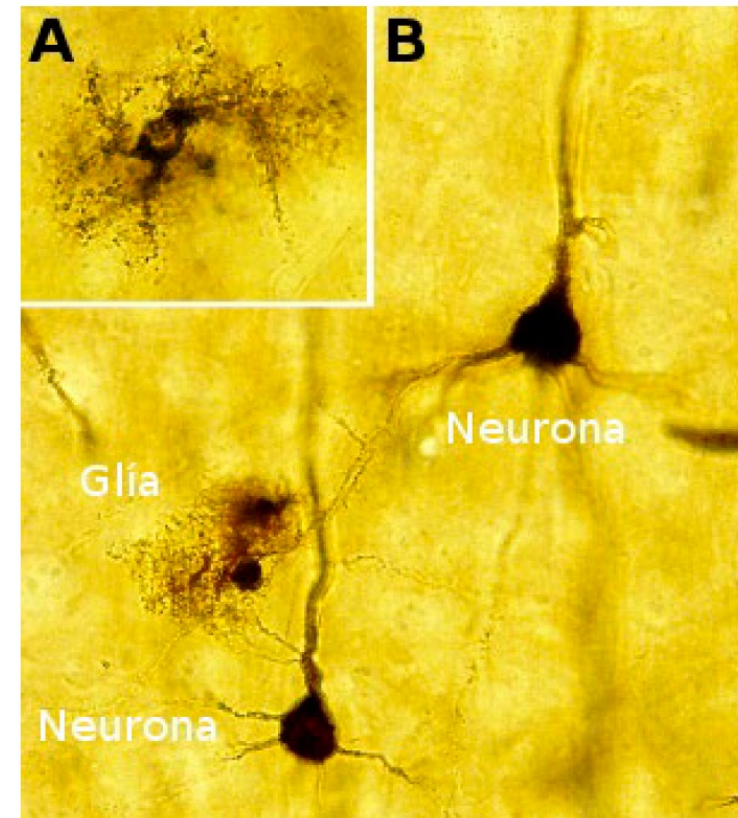
Microscopio óptico

4. TINCIÓN: Coloración artificial de los distintos componentes celulares.

Impregnaciones argénticas: Coloración histológica en la que se emplean **sales metálicas** como el **cloruro de oro (ClAu)** o **nitrato de plata (AgNO₃)** para generar precipitados metálicos sobre las estructuras a teñir.

- Técnicas de Golgi: para teñir células del tejido nervioso.

Secciones de tejido nervioso teñidas con **técnica de Golgi**.



Microscopio óptico

4. TINCIÓN: Coloración artificial de los distintos componentes celulares.

Citoquímicos o histoquímicos: Colorean determinadas sustancias mediante reacciones químicas específicas.

Persiguen localizar en el tejido moléculas específicas en función de sus características químicas, normalmente para demostrar *"in situ"* su actividad.

Ej: técnica enzimohistoquímica para la detección de NADPH-diaforasa.

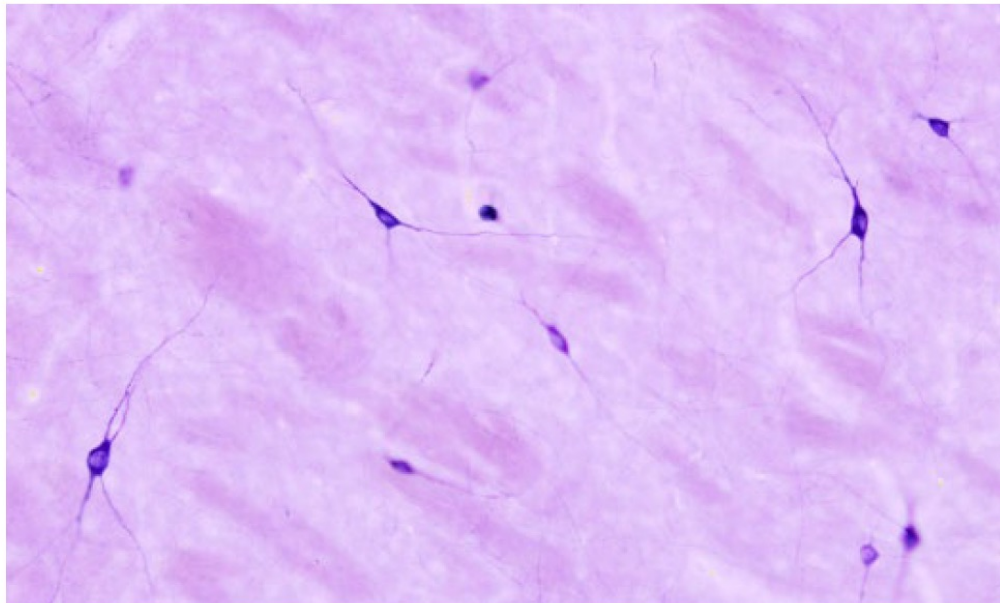


Imagen de un corte de 60 μm de grosor de cerebro obtenida con un vibratomo y procesada para histoquímica enzimática que pone de manifiesto una actividad diaforasa perteneciente a la enzima óxido nítrico sintasa neuronal que aparece en algunas neuronas (células con un color azul intenso).

Microscopio óptico

4. TINCIÓN: Coloración artificial de los distintos componentes celulares.

Citoquímicos:

- **REACCIÓN DE PAS (Periodic Acid Schiff):**

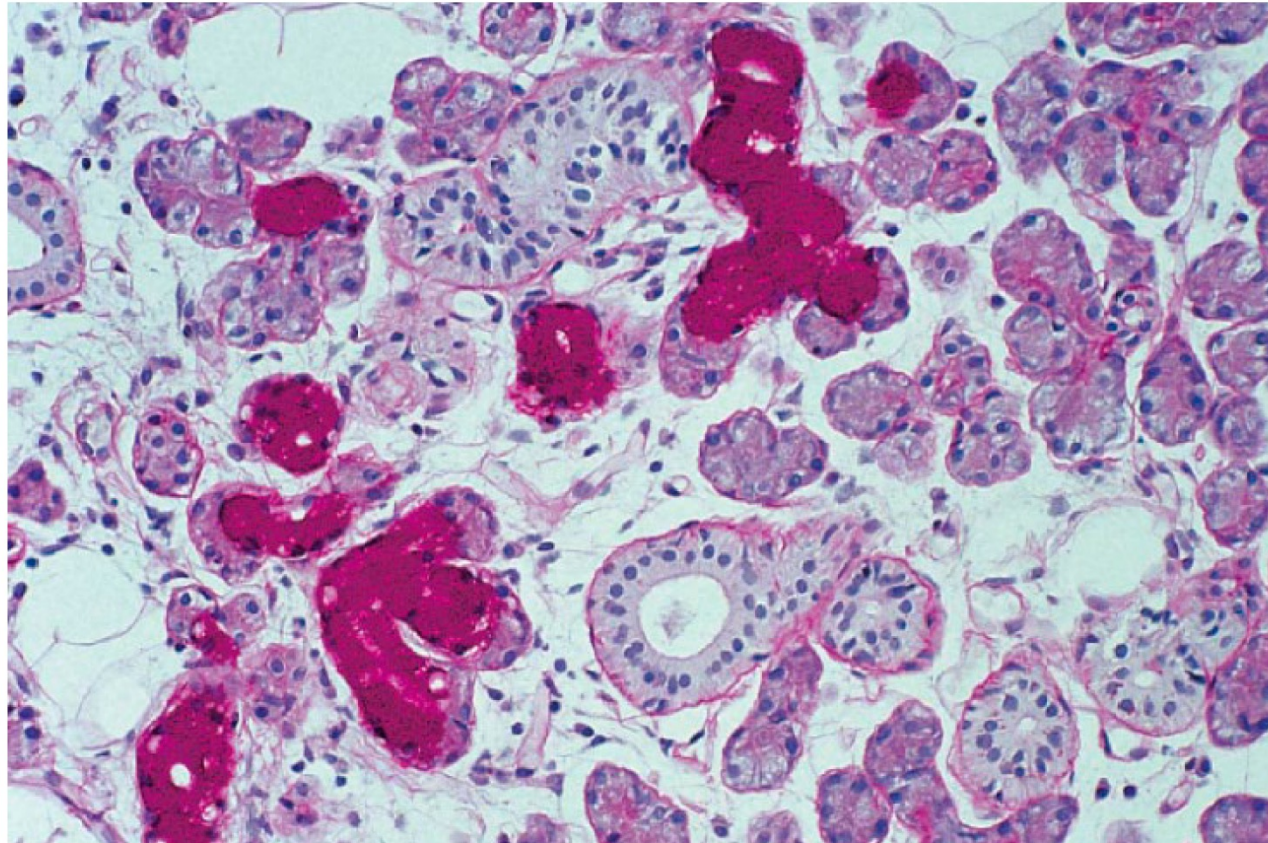
- **Ác peryódico:** rompe la unión entre los carbonos con hidroxilos adyacentes, y forma grupos aldehído.
- El reactivo de Schiff se obtiene a partir de **fuscina**. Cuando reacciona con grupos aldehído (R-OH) aparece un grupo cromóforo que da color **rojo fucsia**.

Tiñe carbohidratos: glucocalix, membranas basales, fibras de reticulina.

- Gránulos de **glucógeno**
- Moco en diversas células
- Membrana basal de los epitelios
- Fibras reticulares del tejido conjuntivo

Microscopio óptico

Tinción con el método PAS



Identificación de moco, glucoproteínas neutras, glucógeno.
El moco de las células mucosas de la glándula submandibular está teñido de púrpura intenso; otras estructuras con glucoproteínas (las membranas basales) aparecen más tenues. Coloración de contraste de los núcleos celulares con hemalumbre (tono semejante al de la hematoxilina). 200 X.

Microscopio óptico

4. TINCIÓN: Coloración artificial de los distintos componentes celulares.

Inmunocitoquímicos o inmunohistoquímicos: Evidenciar una sustancia (Ag) mediante la reacción específica de los **anticuerpos**, que reconocen específicamente ese antígeno.

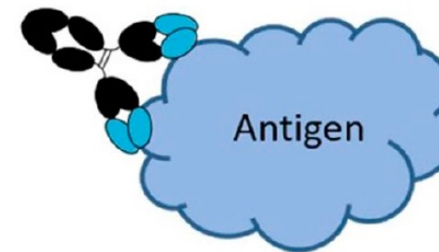
Antígeno: cualquier sustancia extraña que, introducida en el interior de un organismo, provoca una respuesta inmunitaria estimulando la producción de Ac.

Epítipo: región del antígeno que estimula la producción de un Ac. Un mismo antígeno puede tener distintos epítipos.

Especificidad: capacidad del Ac para discriminar e interaccionar diferencialmente con Ag de estructura similar.

Afinidad: fuerza o intensidad de unión entre un Ag-Ac.

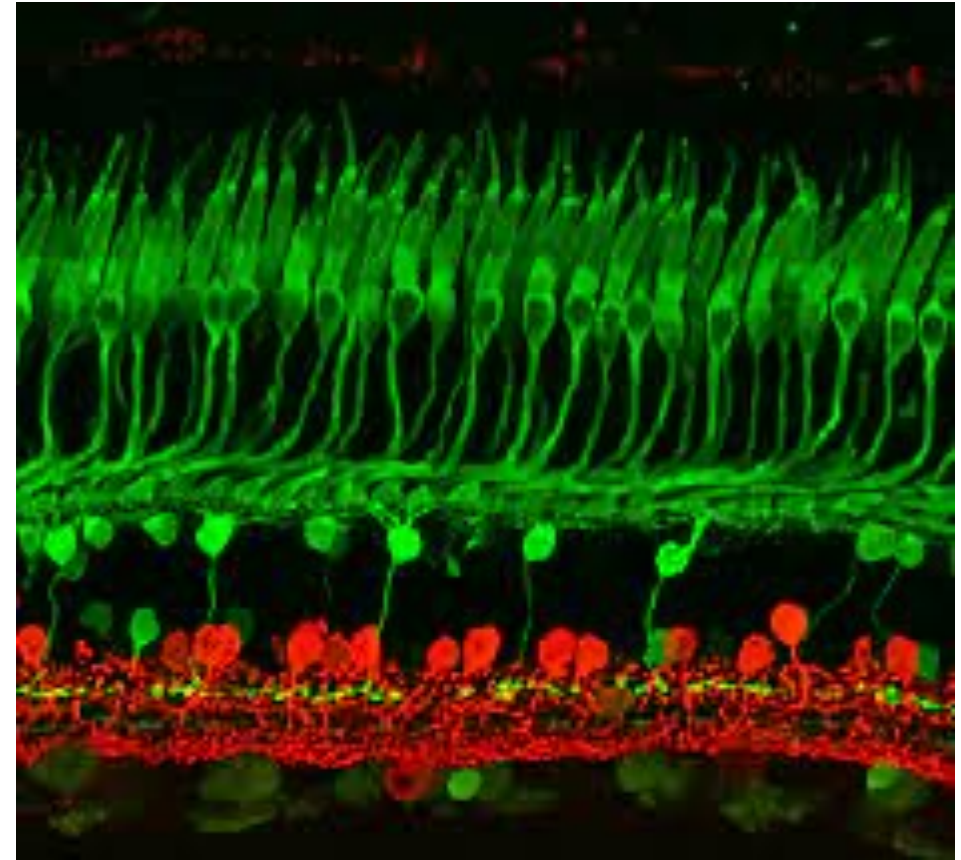
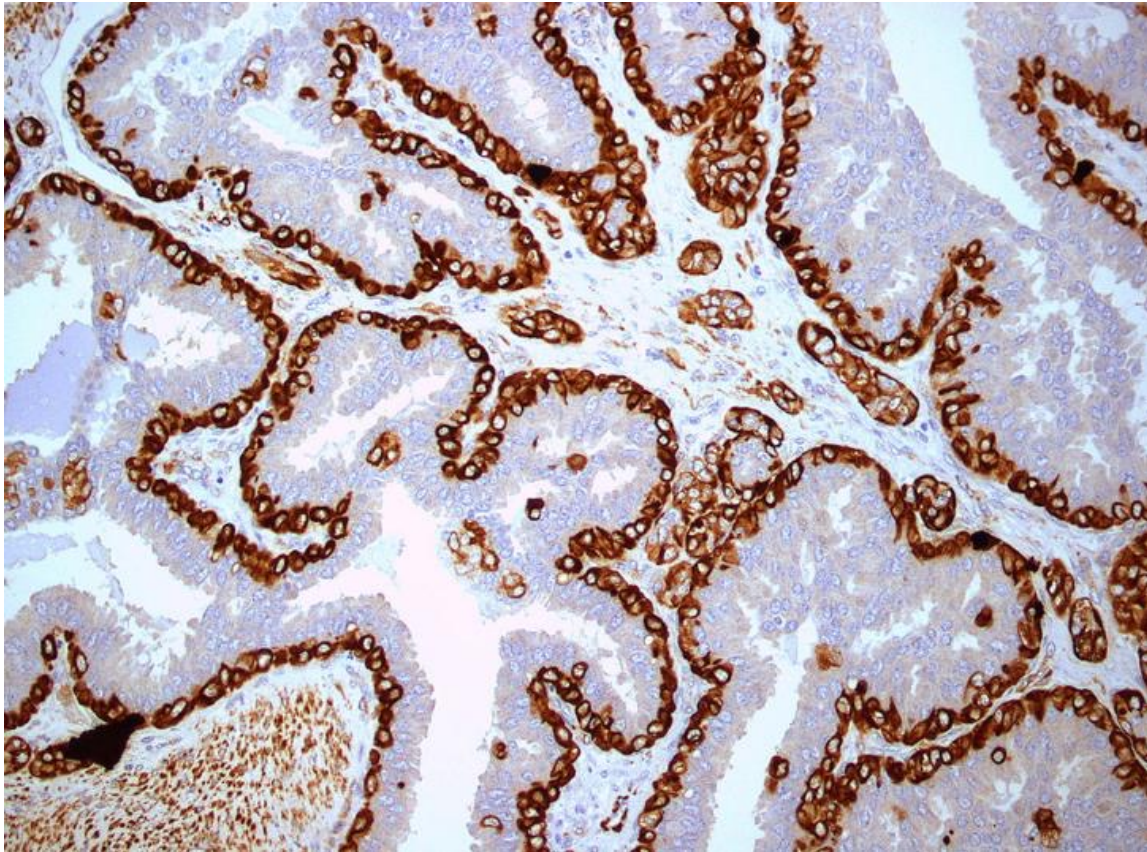
Monoclonal antibody



Polyclonal antibody



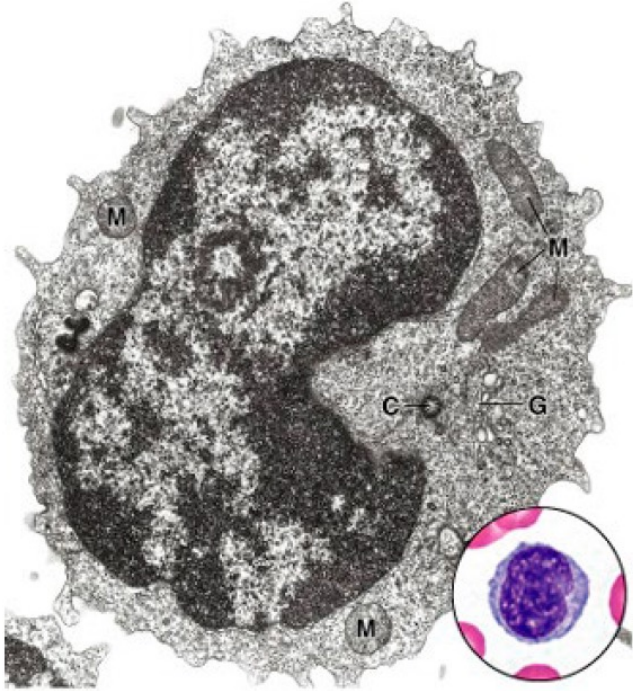
Microscopio óptico



Microscopio electrónico

M. electrónico de transmisión (TEM)

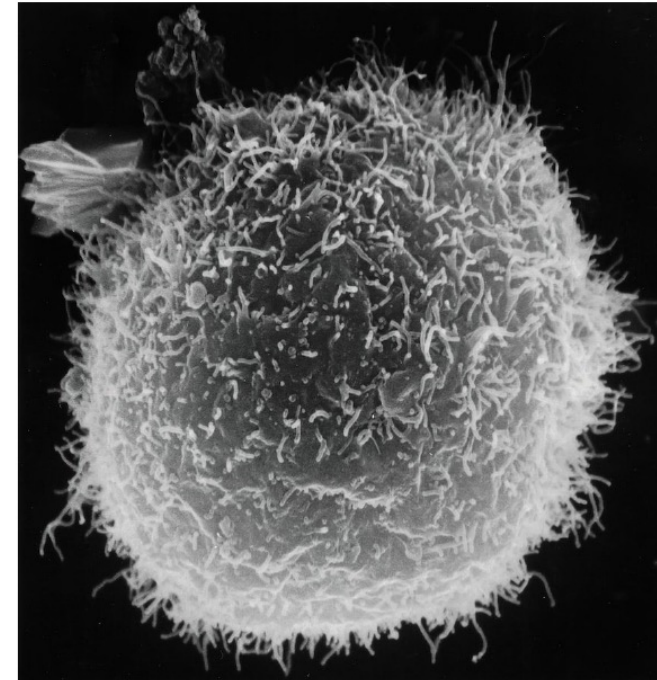
Permite estudiar la **ultraestructura** de la célula en secciones muy finas.



Linfocito visto al TEM. Abajo visto al microscopio óptico. C: cenrtíolo; G: complejo de Golgi; M: mitocondrias. Imagen tomada de Universidad Nacional de Córdoba.

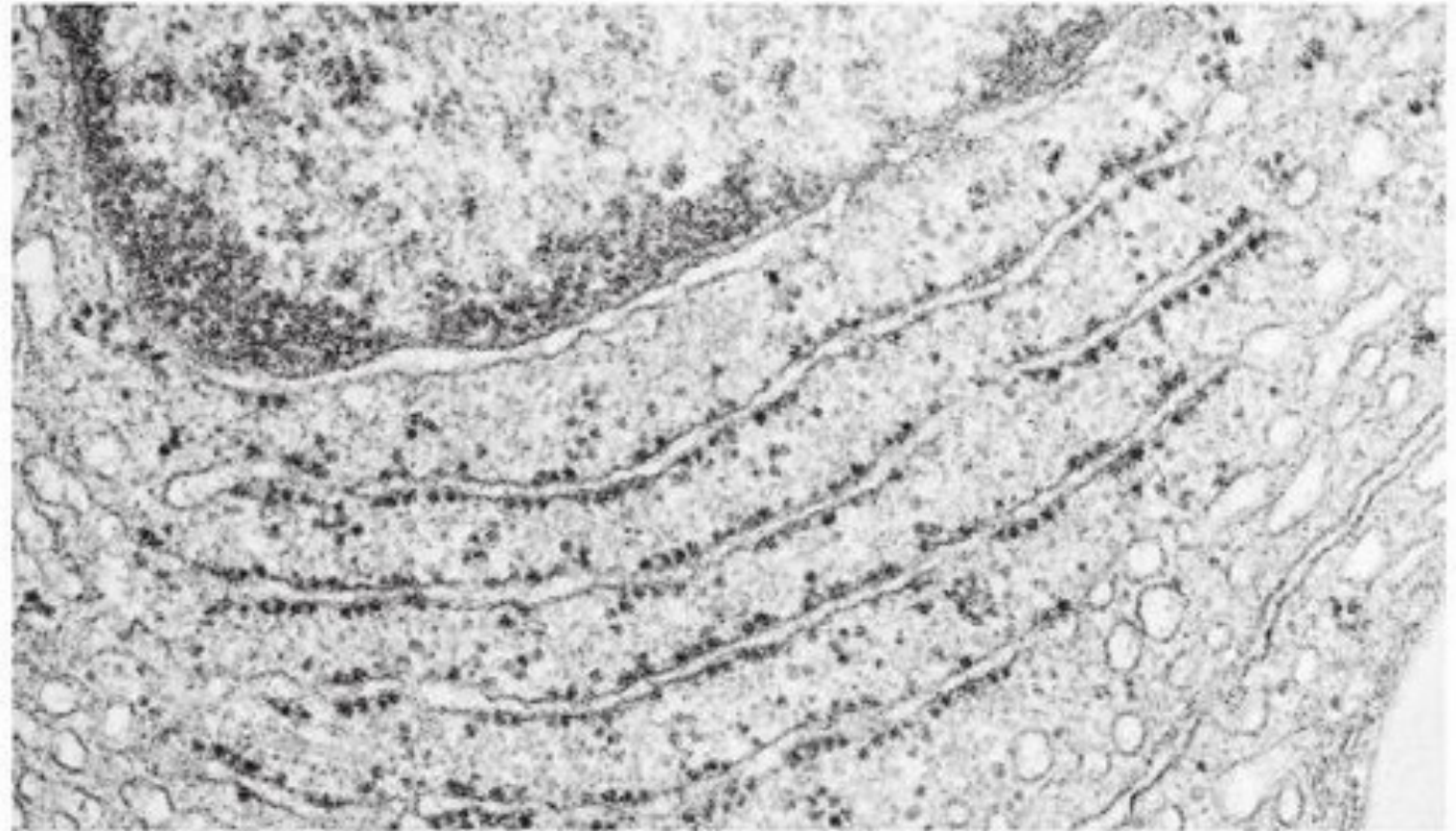
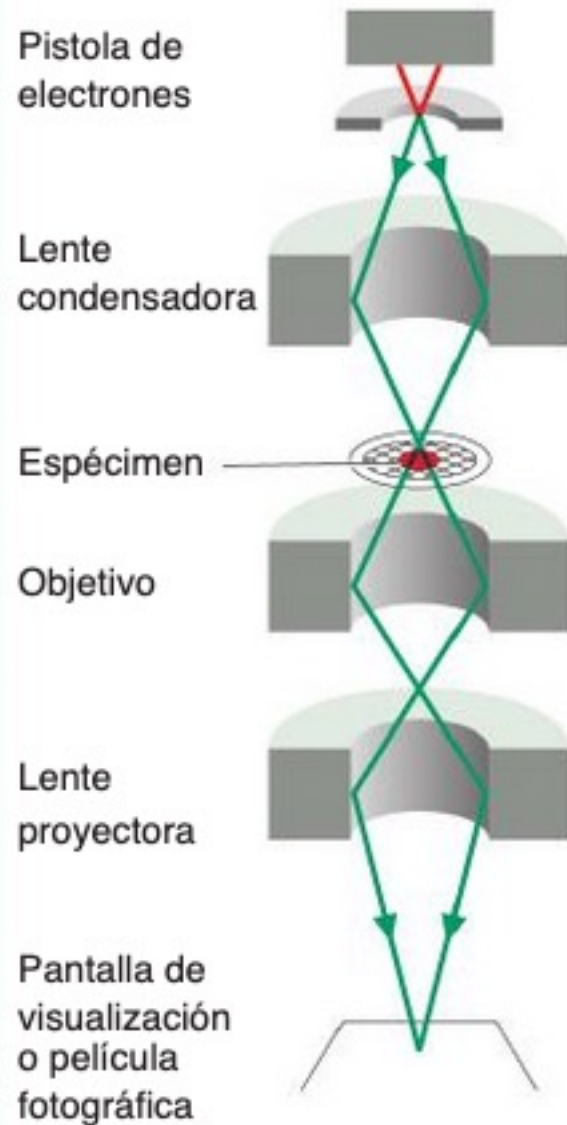
M. electrónico de barrido (SEM)

Permite estudiar **superficies**.



Linfocito visto al SEM. Imagen tomada de National Cancer Institue.

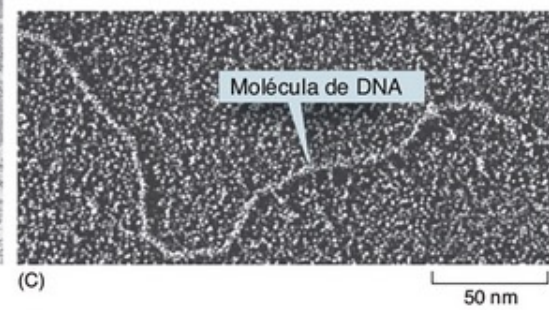
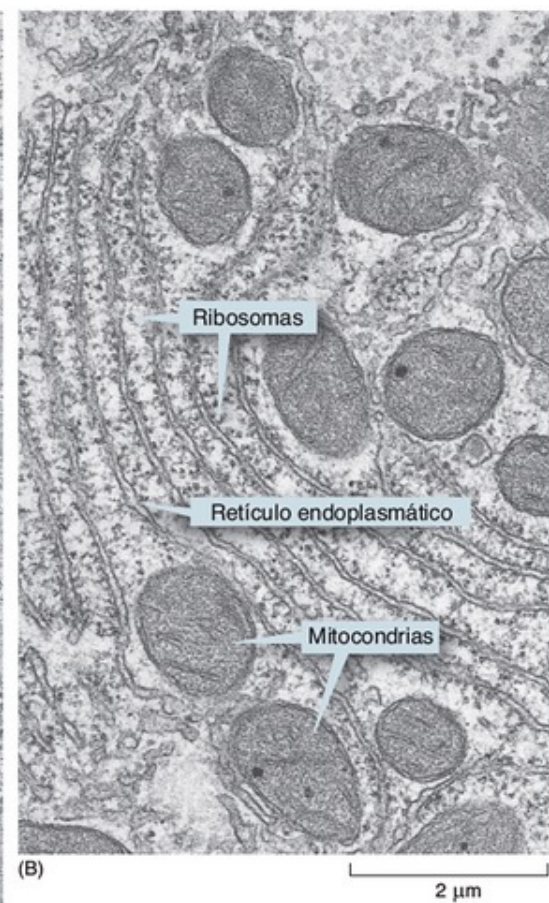
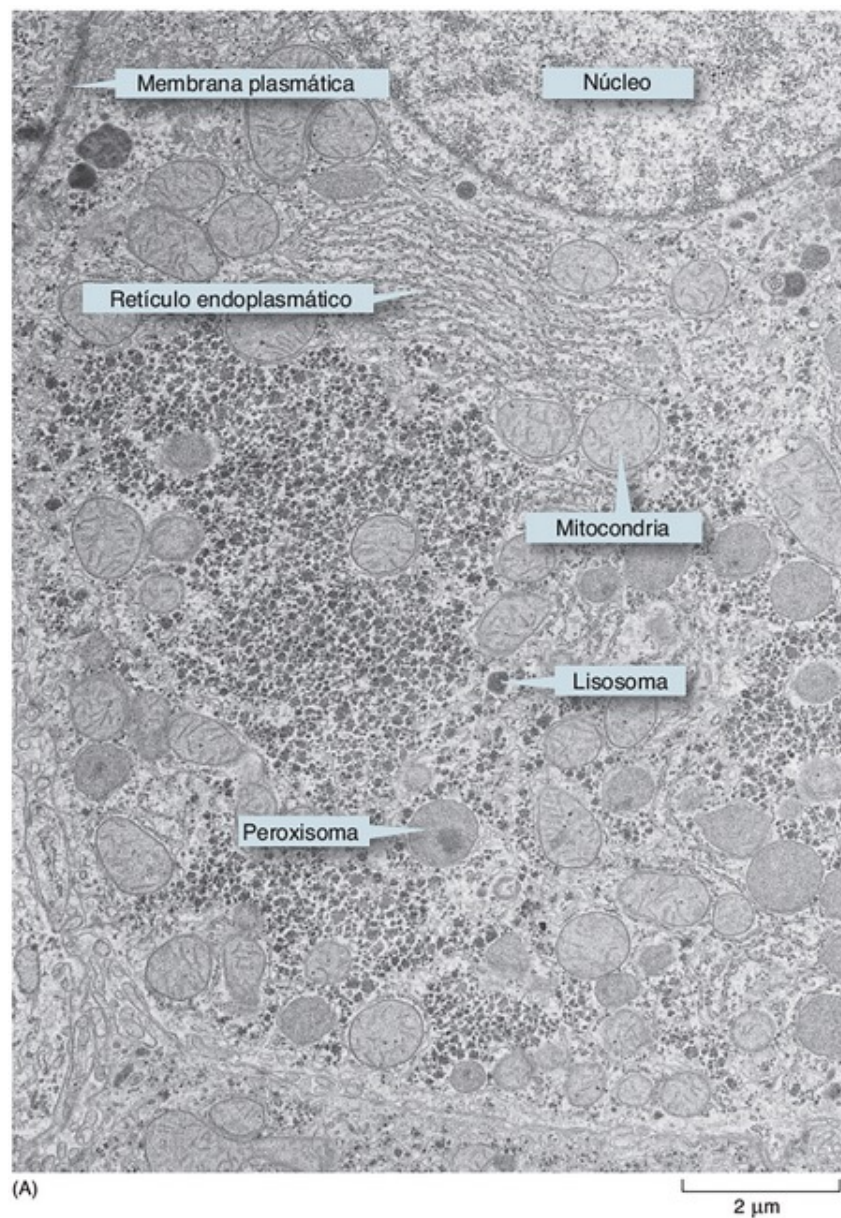
Microscopio electrónico



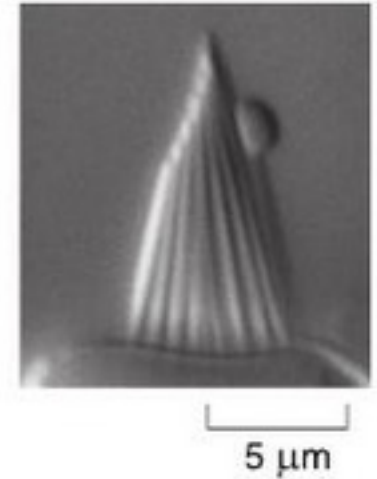
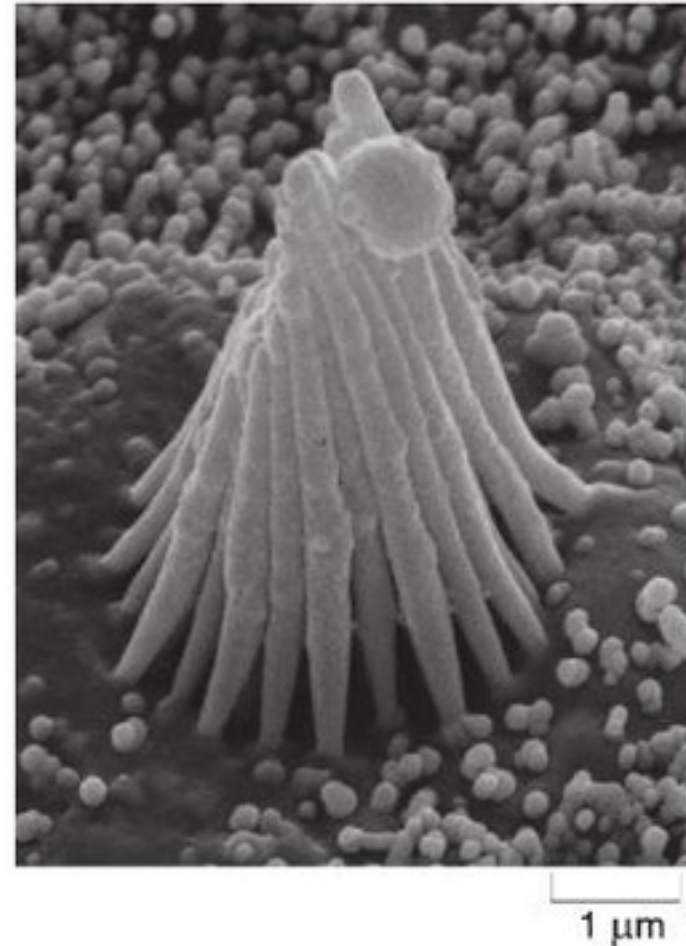
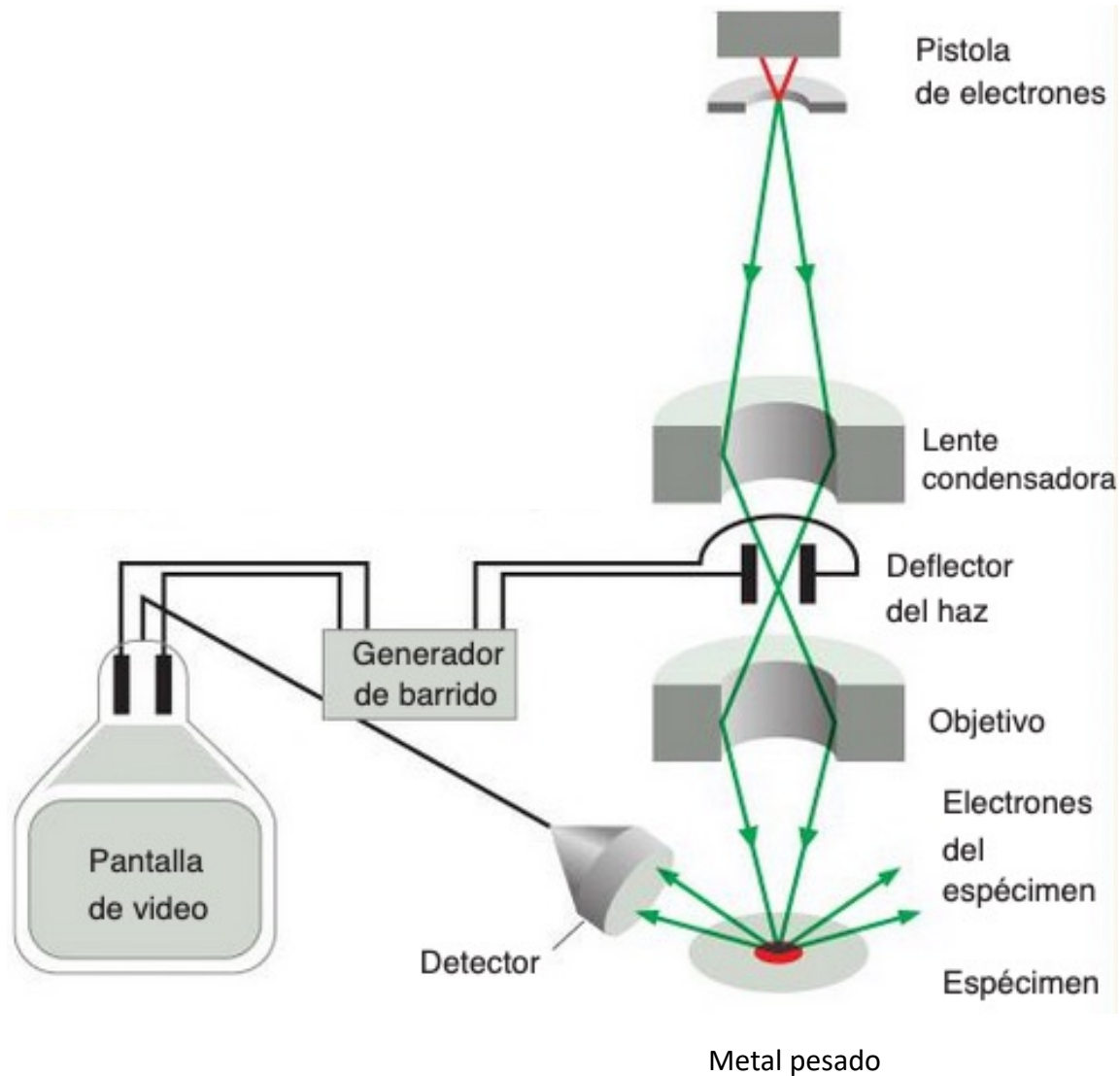
0,5 μm

Cortesía de Daniel S. Friend.

Microscopio electrónico



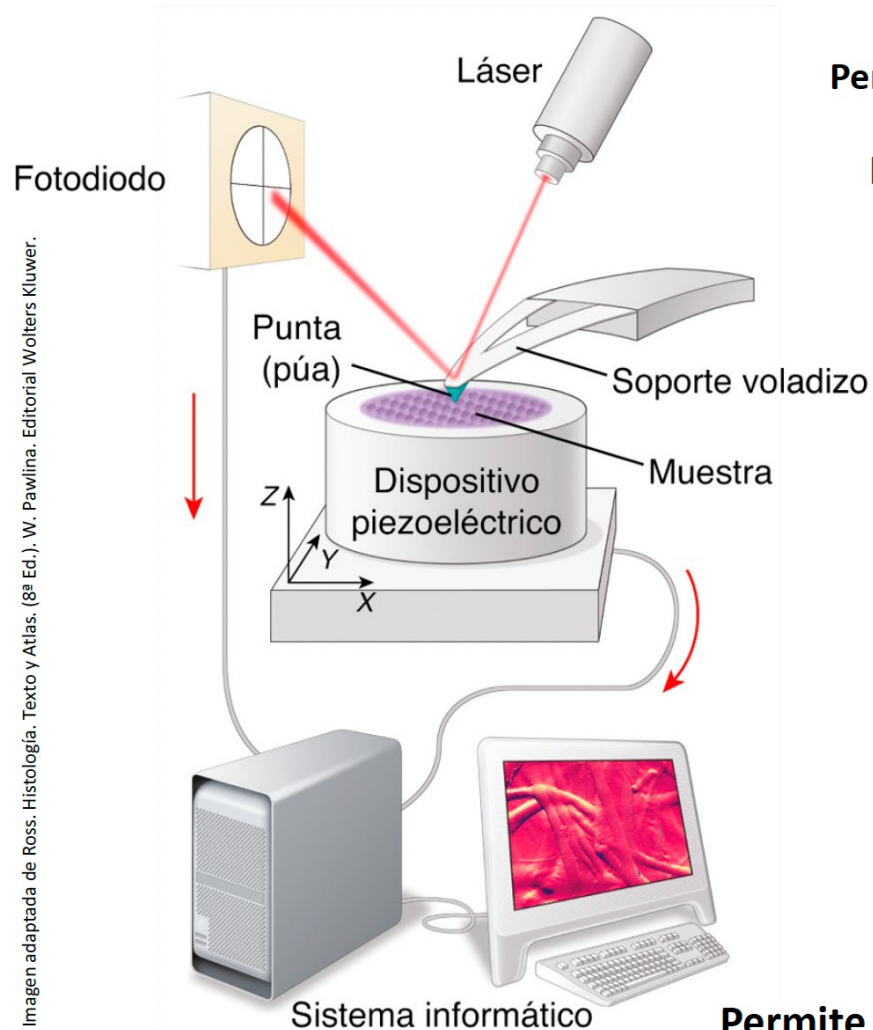
Microscopio electrónico



Microfotografía electrónica de barrido de estereocilios que se proyectan desde una célula vellosa del oído interno (izquierda). Con fines comparativos, se muestra la misma estructura mediante microscopia óptica en el límite de su resolución (arriba)

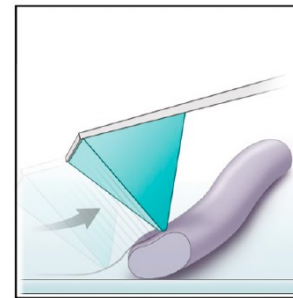
Microscopio de fuerza atómica

Microscopio de fuerza atómica = microscopio de barrido de fuerzas

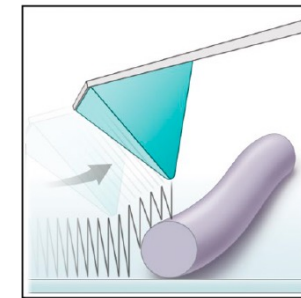


Permite **visualizar muestras con resolución nanométrica** por “palpación” mediante una **punta nanométrica** localizada en el extremo de una **micropalanca flexible**, que actúa como **sensor de la fuerza punta-muestra**.

Cuando la punta sube o baja a medida que atraviesa la muestra, los movimientos se registran en un diodo como movimientos de un haz láser reflejado.



MODO DE CONTACTO



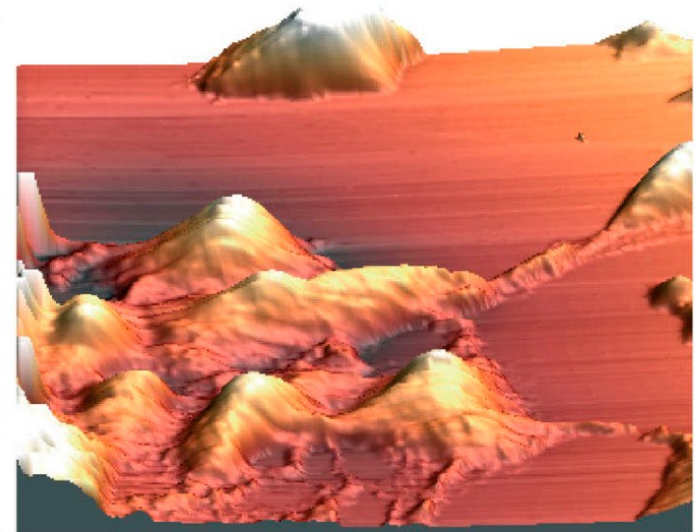
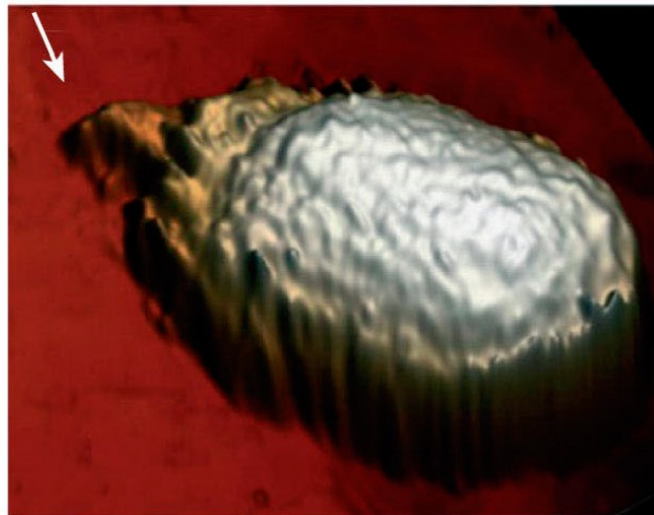
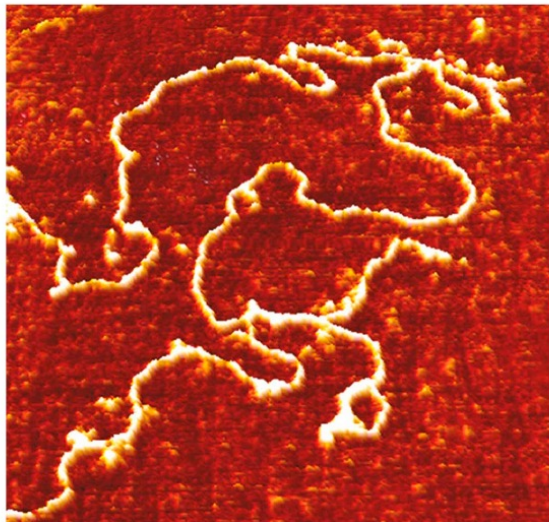
MODO DE PERCUSIÓN

Permite obtener un mapa de la **topografía de la muestra**.

Microscopio de fuerza atómica

Permite **visualizar muestras biológicas** de todos los grados de complejidad a **escala nanométrica** incluso en su ambiente fisiológico acuoso:

- Biomoléculas individuales (ácidos nucleicos, proteínas y lípidos) y membranas lipídicas.
- Virus y microorganismos unicelulares.
- Células humanas y otras células eucariotas.
- Matriz extracelular y tejidos.



A) Molécula de ADN con proteínas unidas. **B)** Bacteriófago $\phi 29$, un tipo de virus que infecta bacterias.
C) Células epiteliales de pulmón humano adheridas sobre un cubreobjetos en medio de cultivo.



Universidad de Valladolid

Métodos y técnicas básicas en biología celular

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

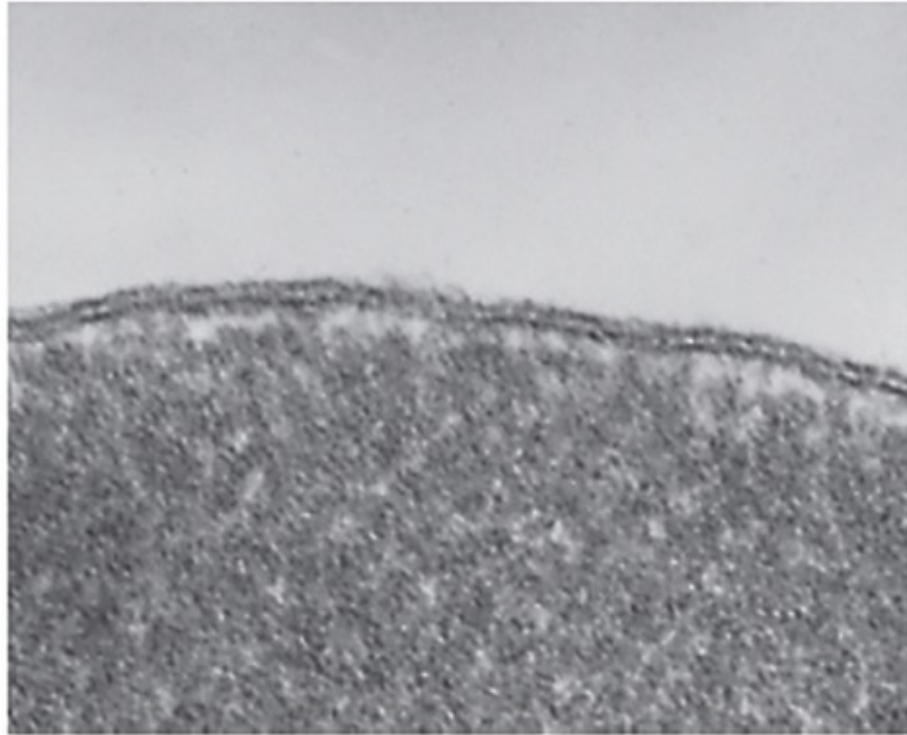
Membrana plasmática

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

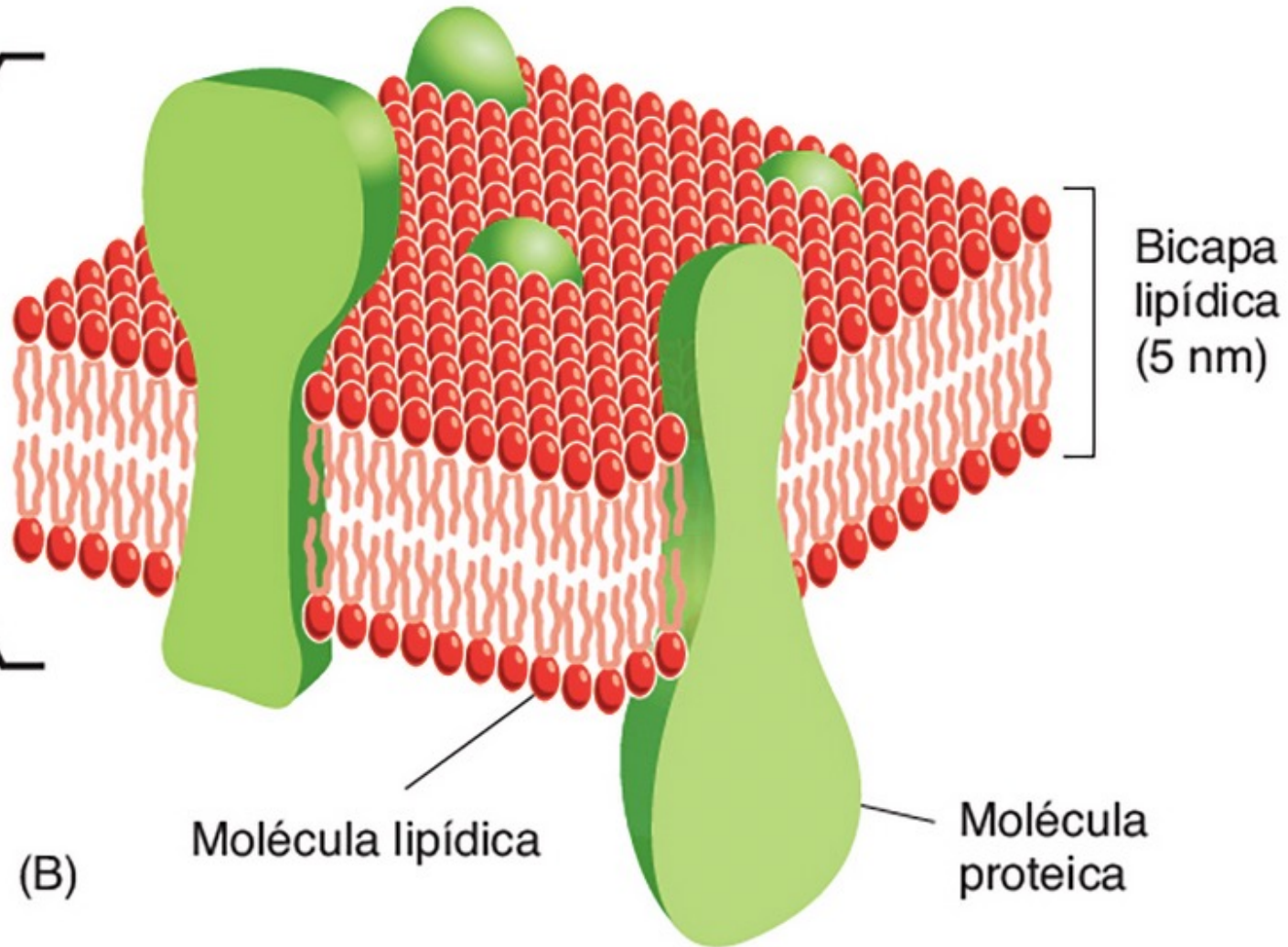
ricardo.usategui@uva.es

Bicapa lipídica con proteínas incluidas



(A)

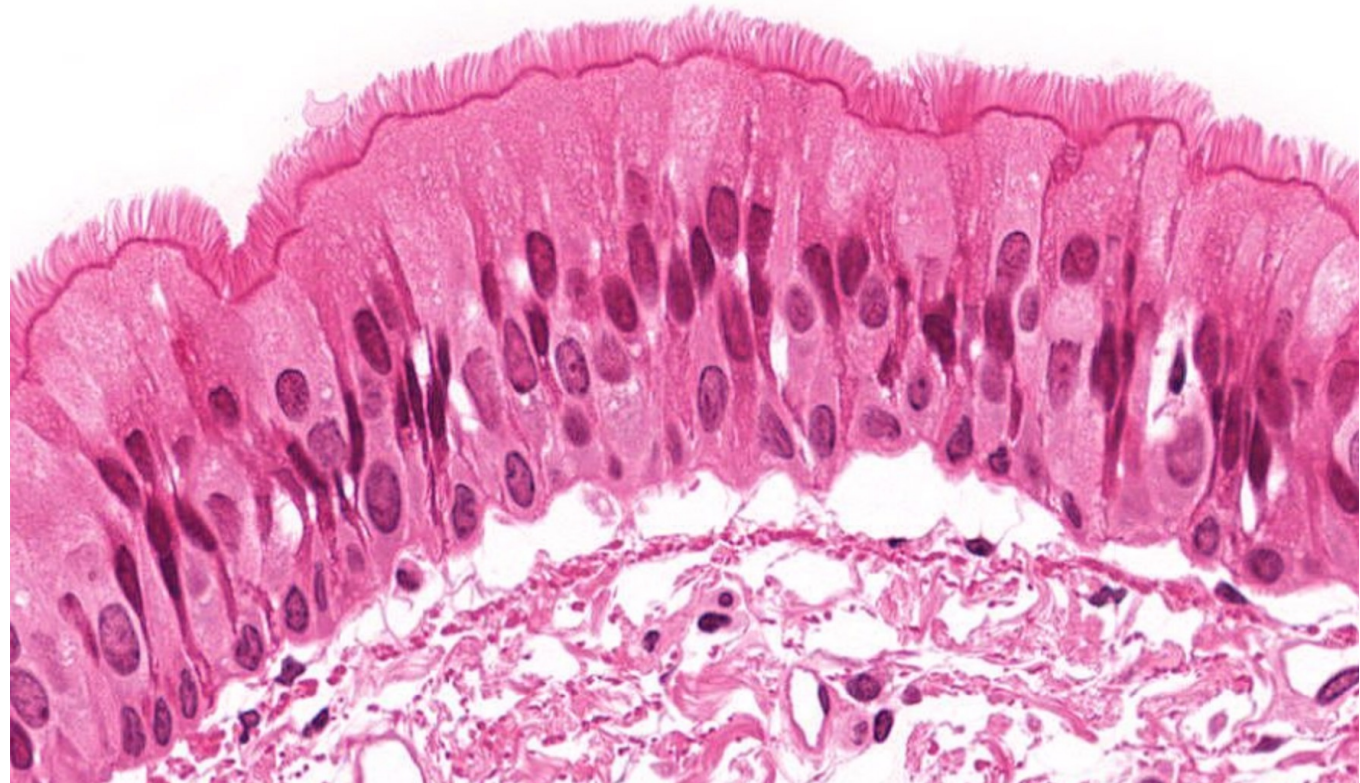
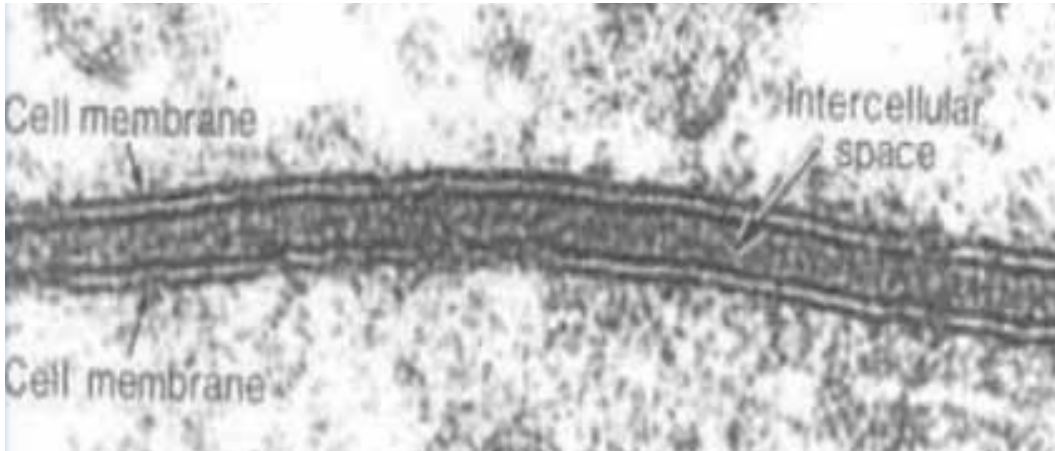
- Película adiposa tachonada de proteínas
- Aparece en todas las células de la Tierra



(B)

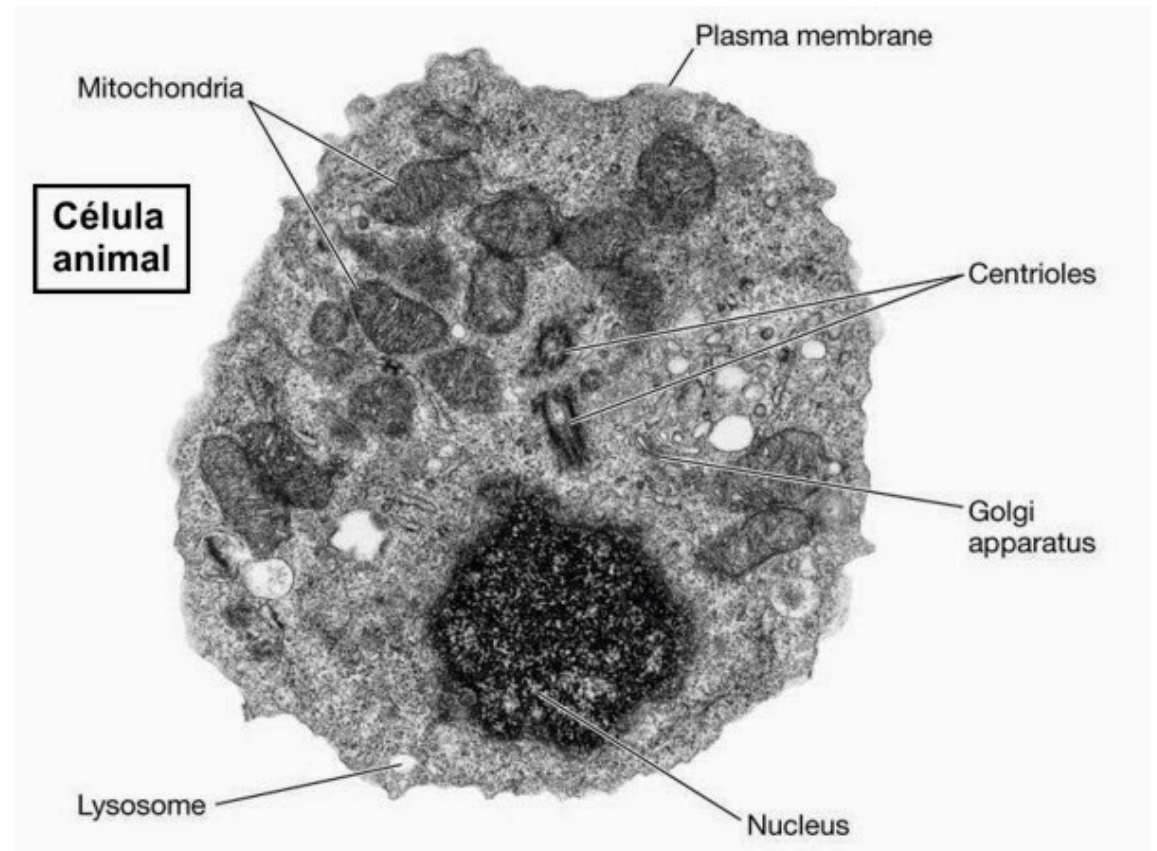
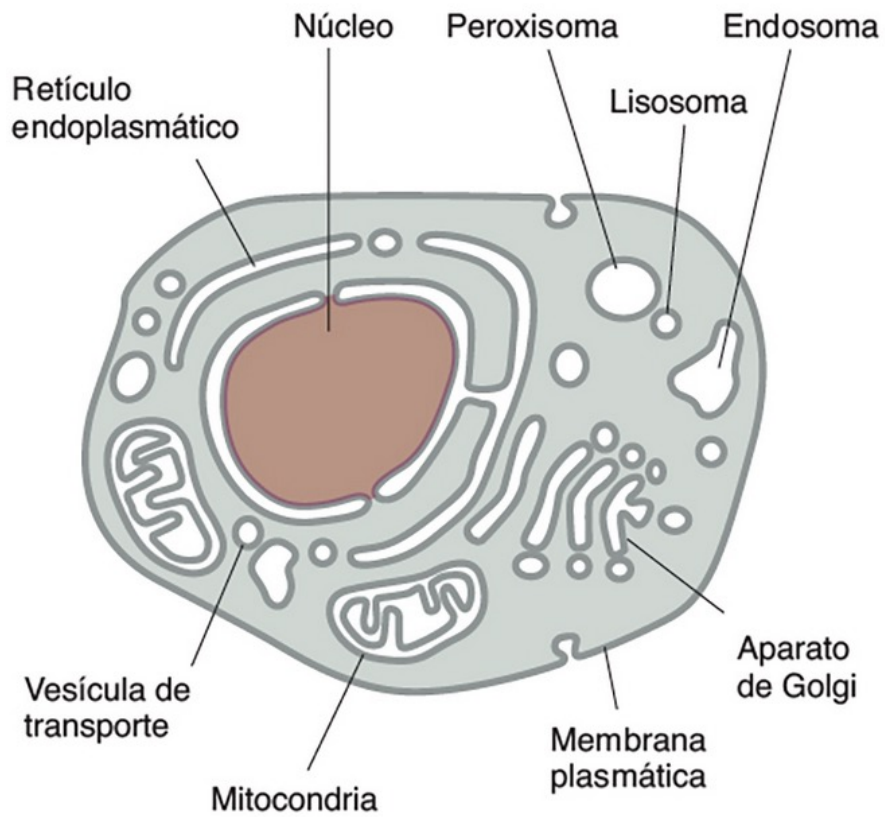
Membrana plasmática: bicapa lipídica con proteínas incluidas

No puede visualizarse al microscopio óptico

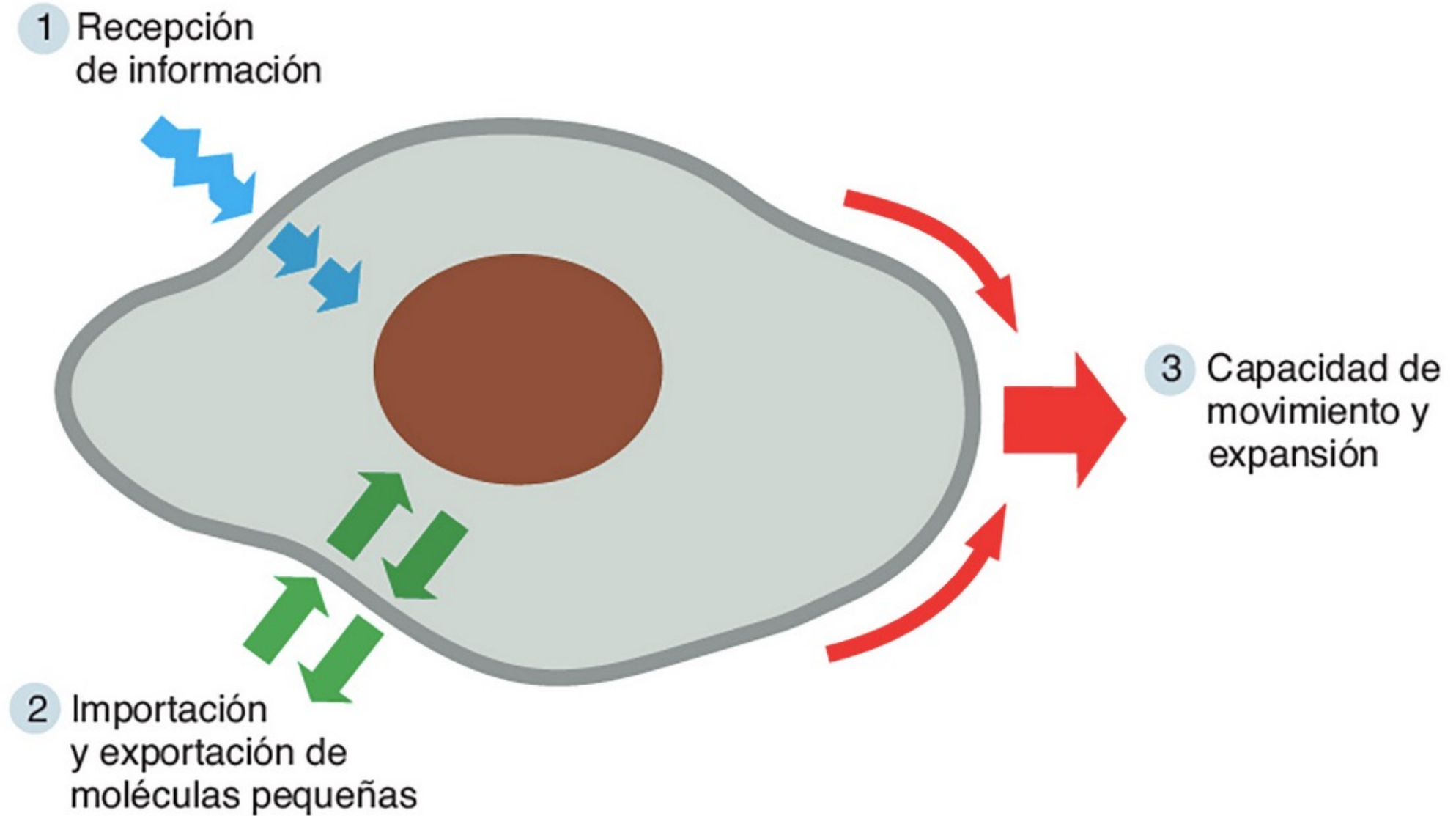


Membranas internas en células eucariotas

Las células eucariotas también tienen membranas internas: delimitación de compartimentos intracelulares

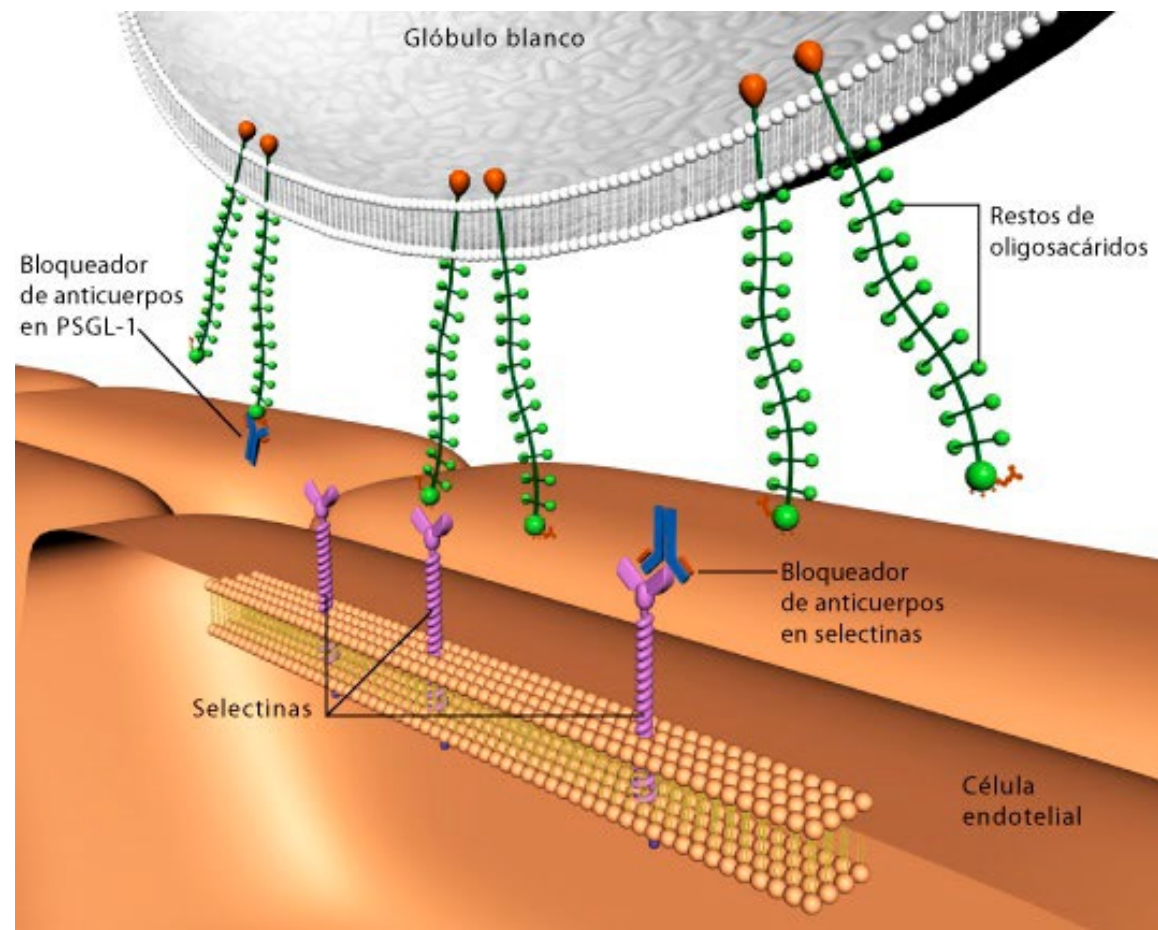
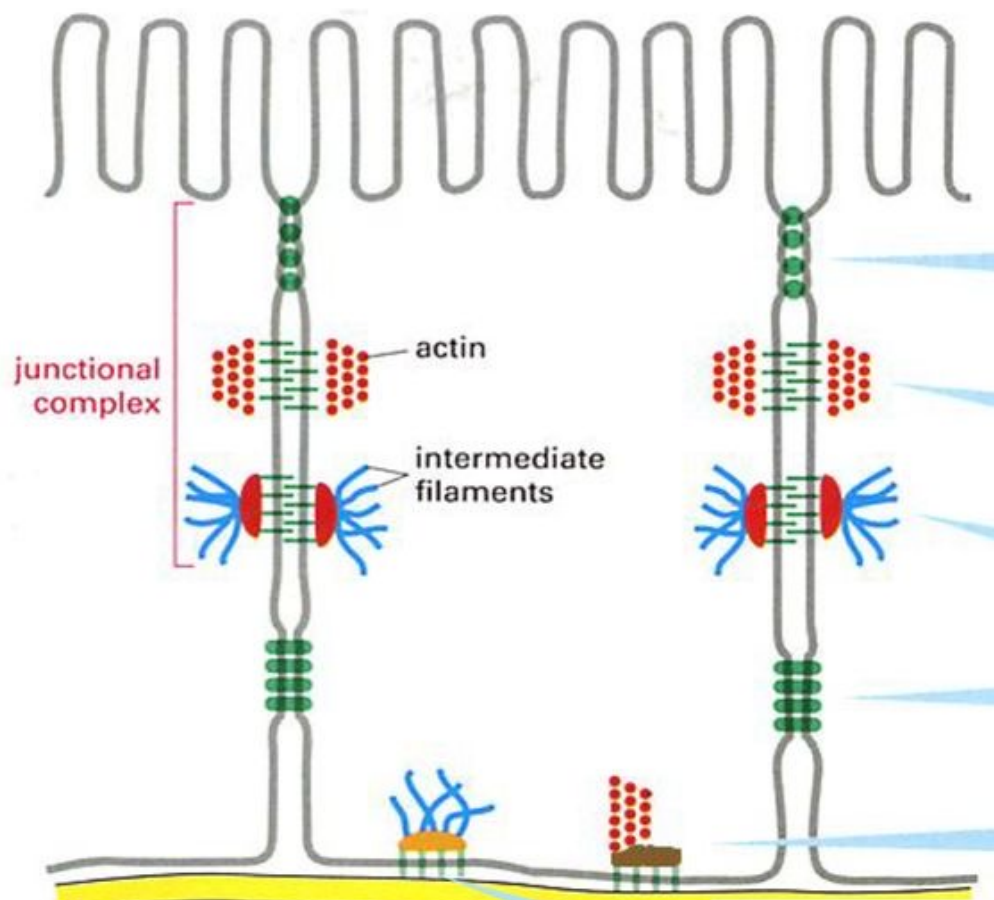


Funciones



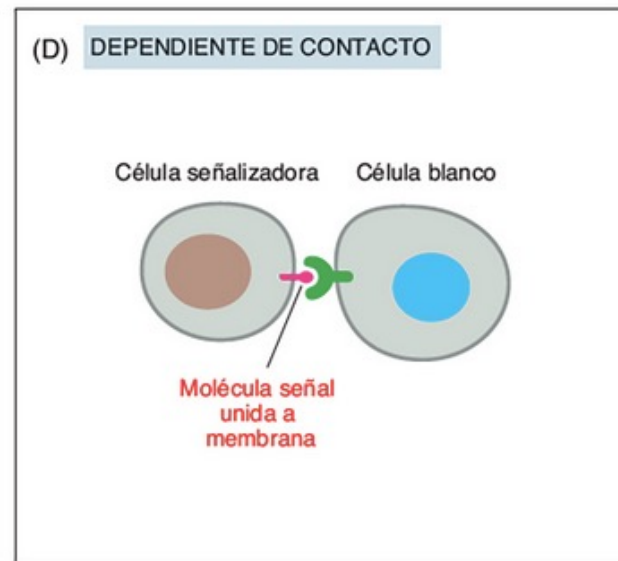
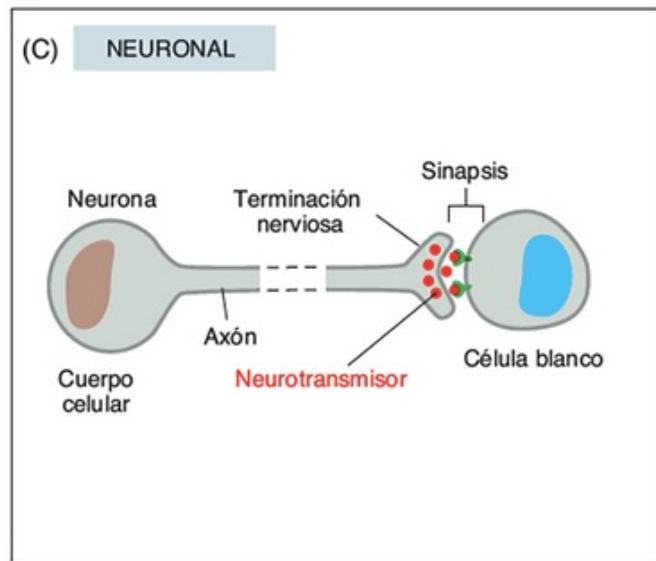
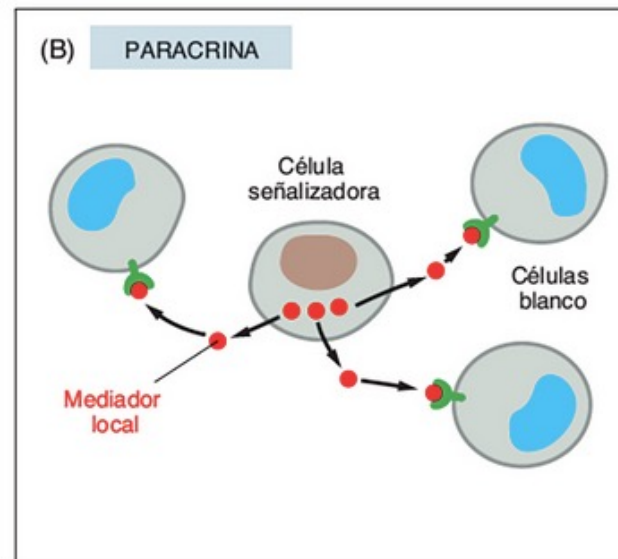
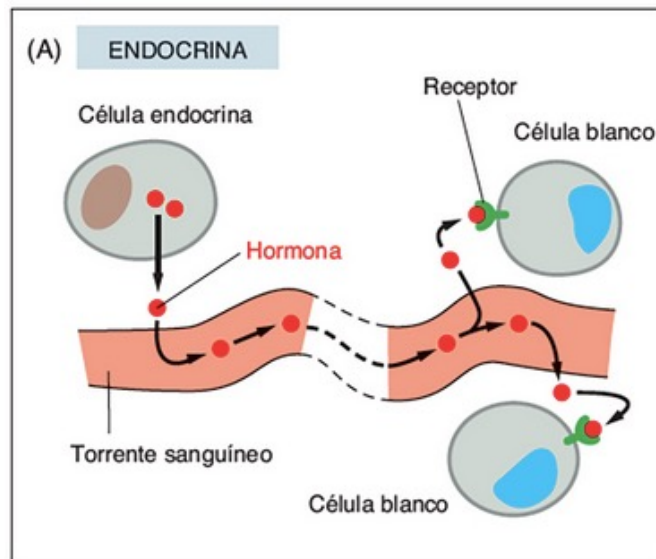
Funciones

4. Interacción célula-célula o célula-matriz



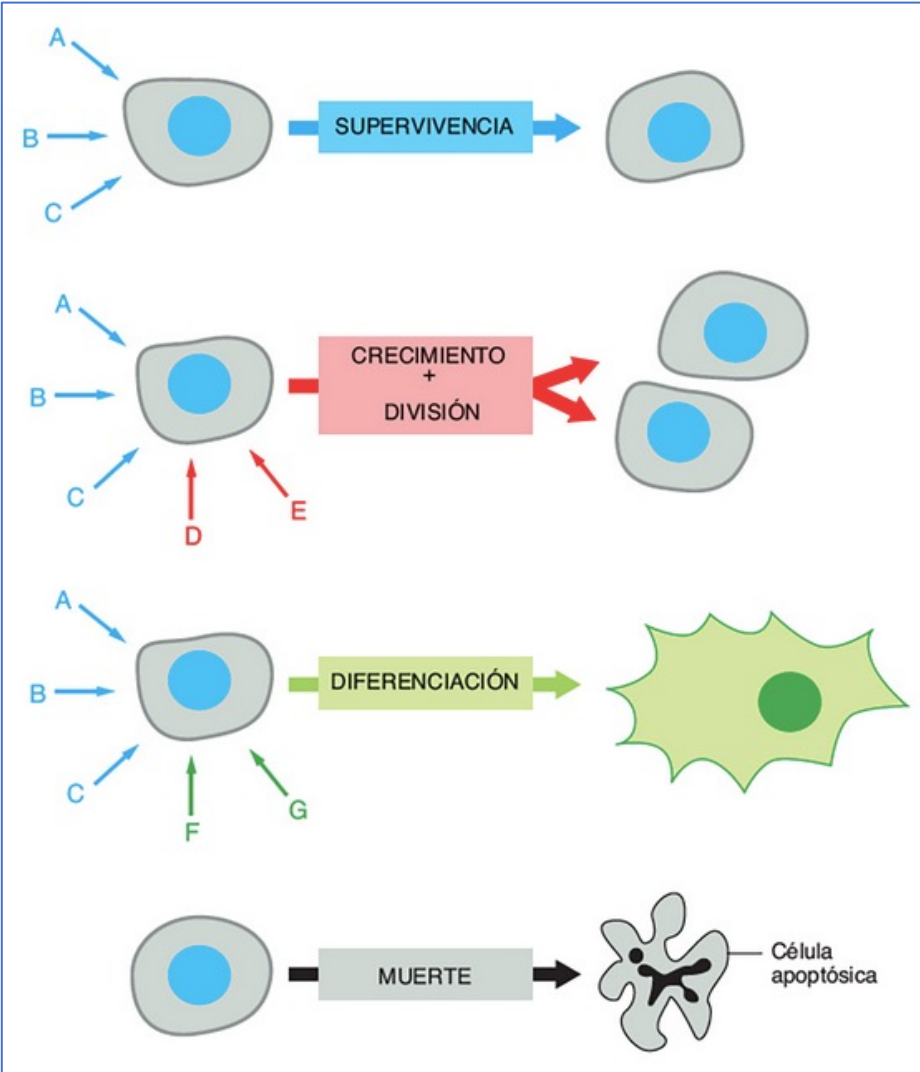
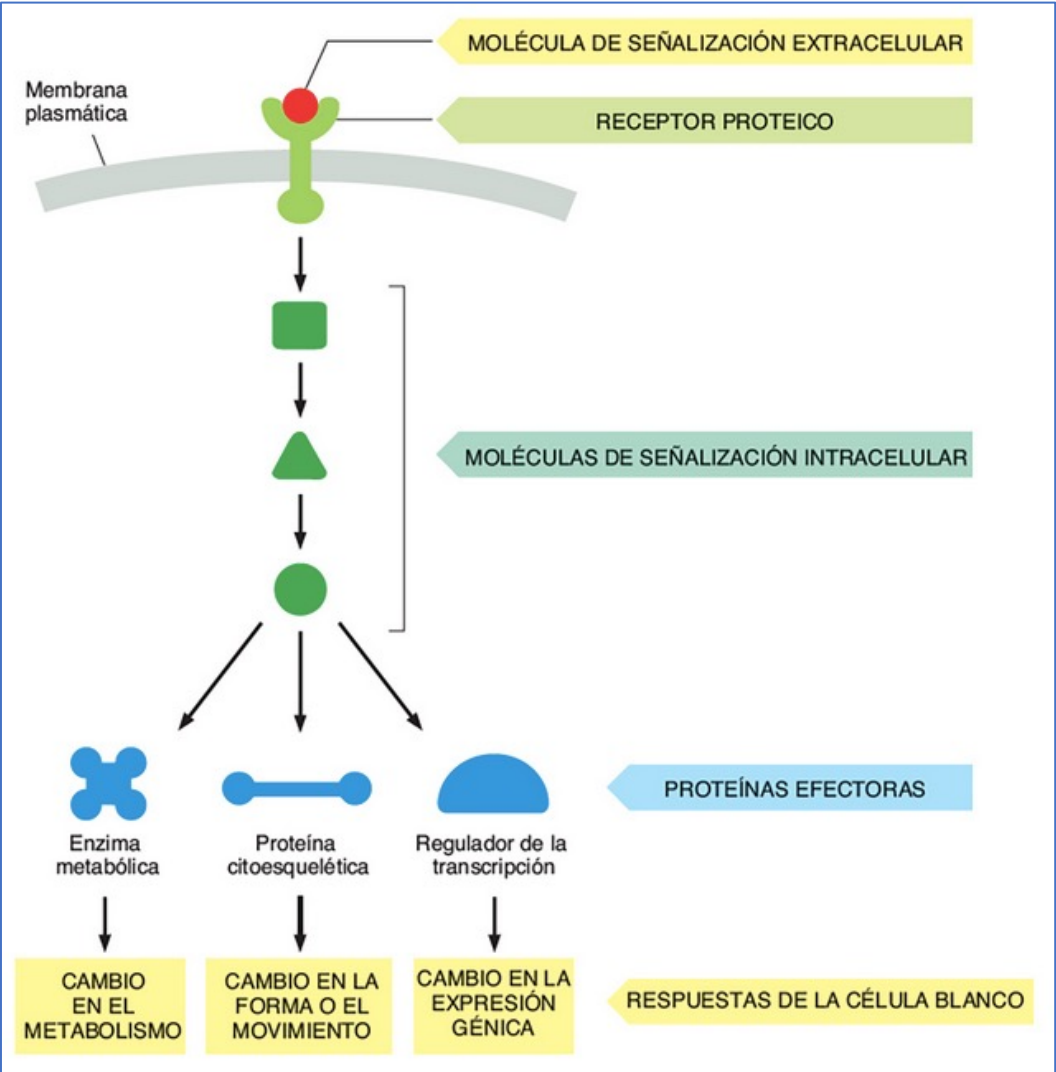
Funciones

5. Señalización celular

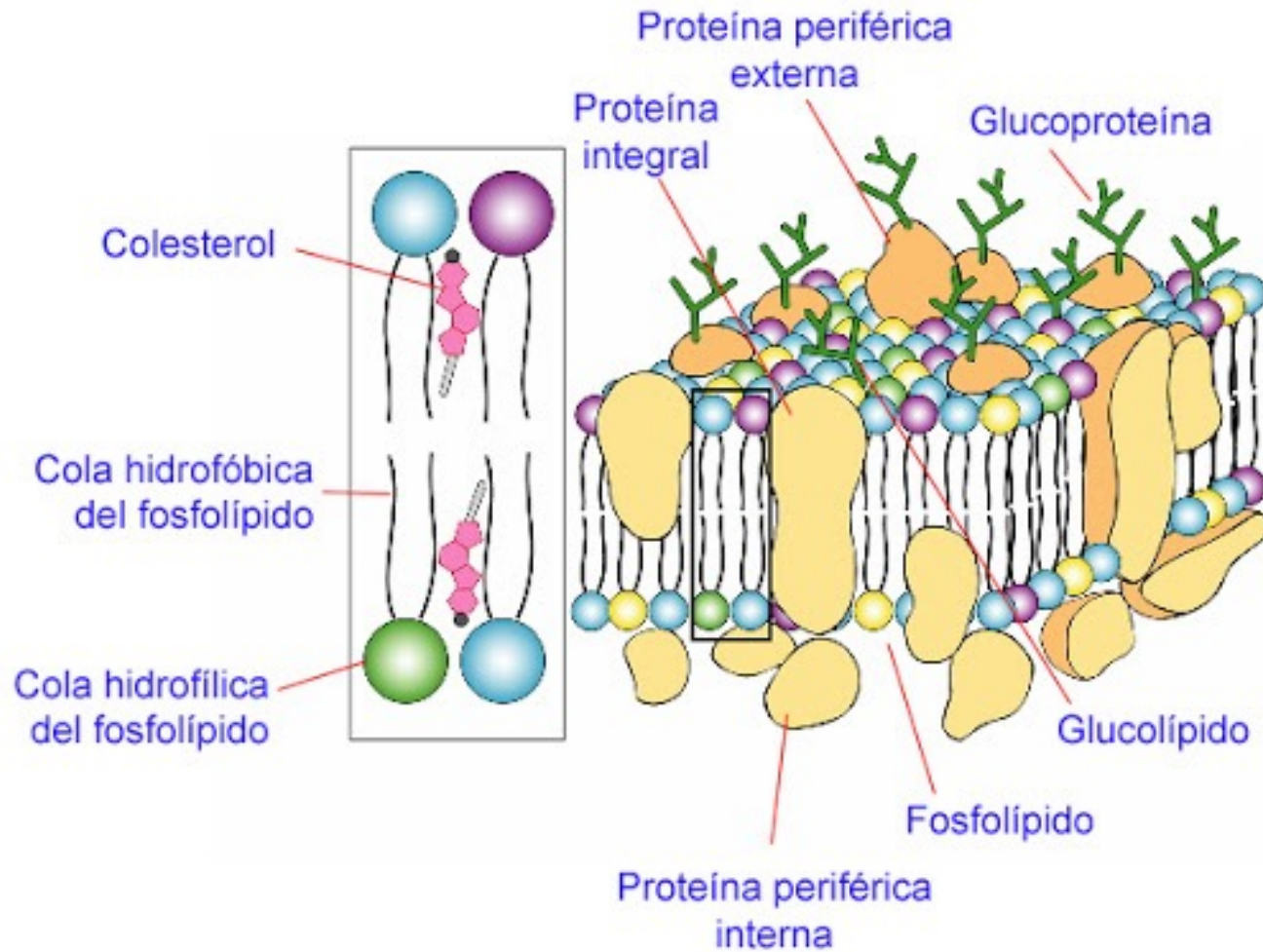


Funciones

5. Señalización celular

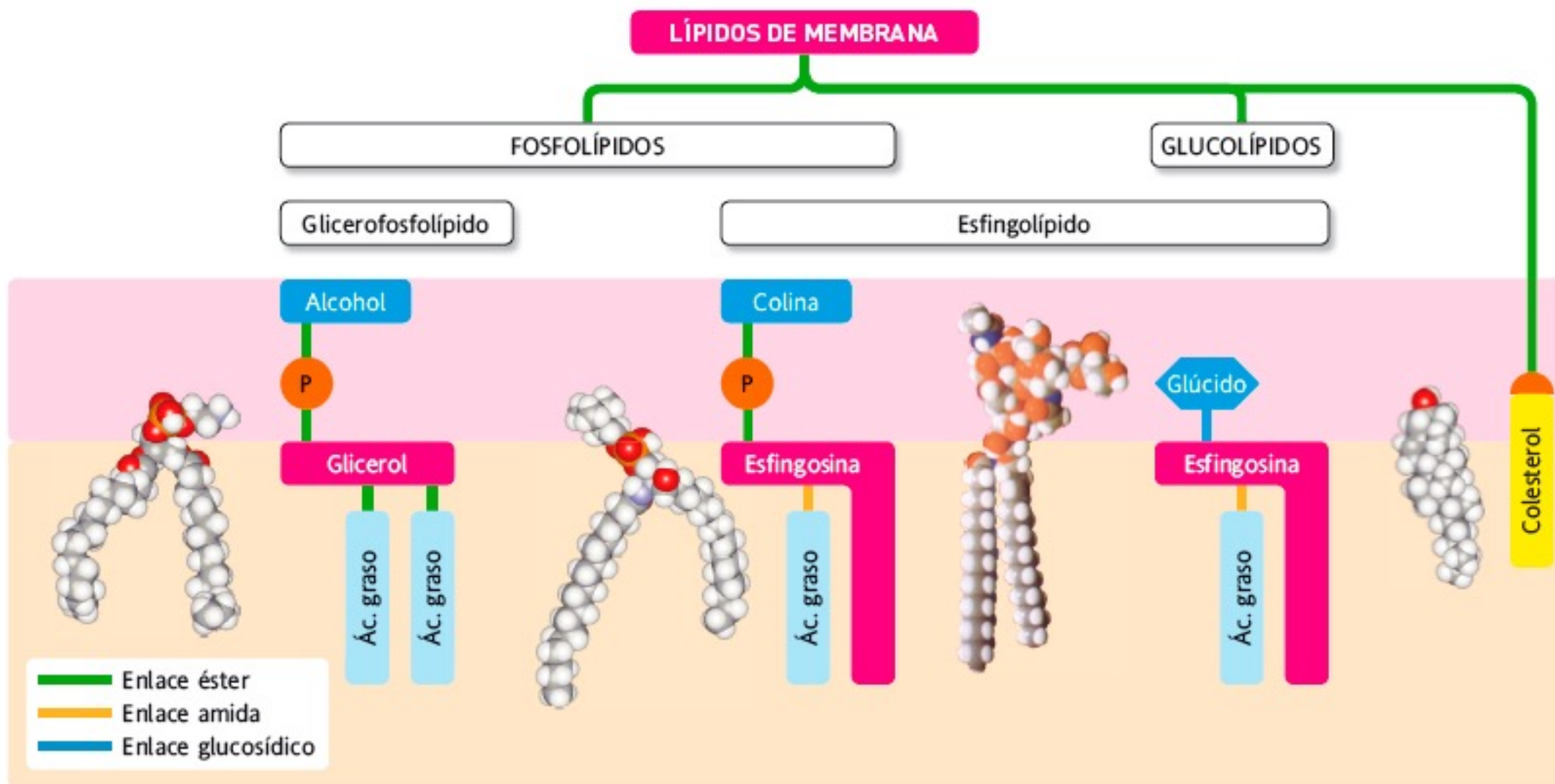


Composición y estructura



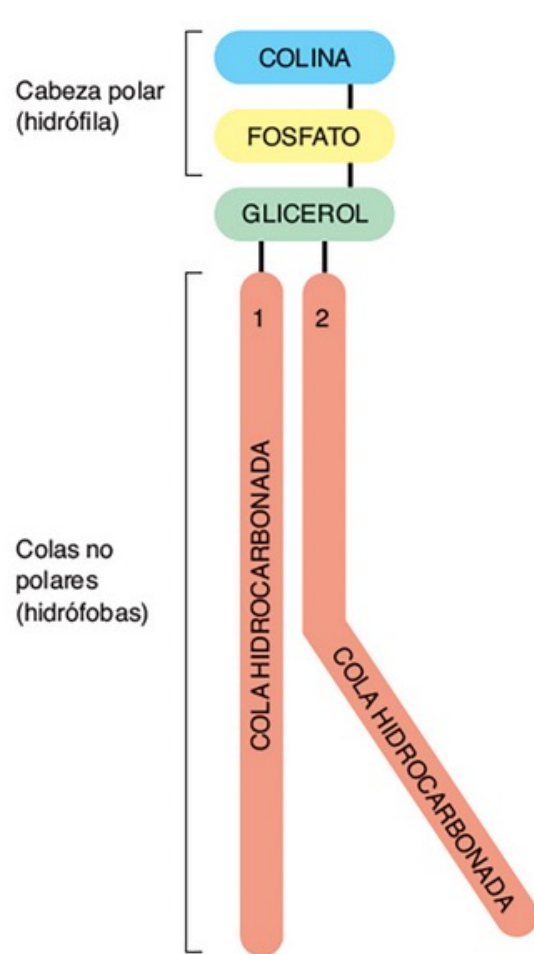
- Lípidos: 48%
- Proteínas: 48%
- Hidratos de carbono: 4%

Composición y estructura

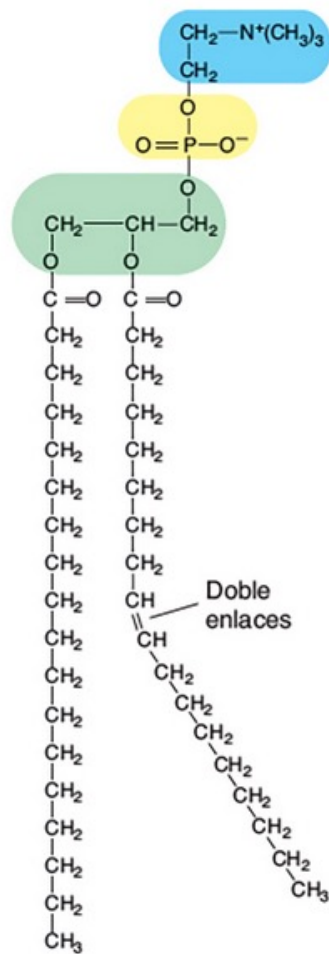


Composición y estructura

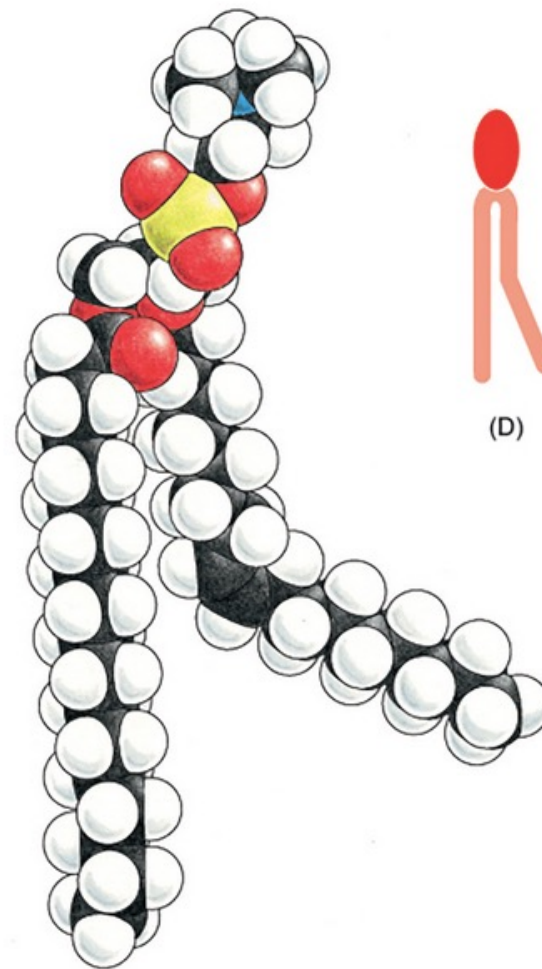
La **fosfatidilcolina** es el fosfolípido más abundante



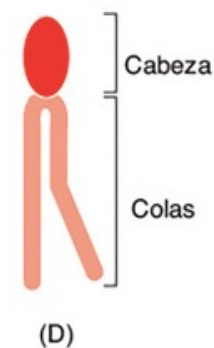
(A)



(B)

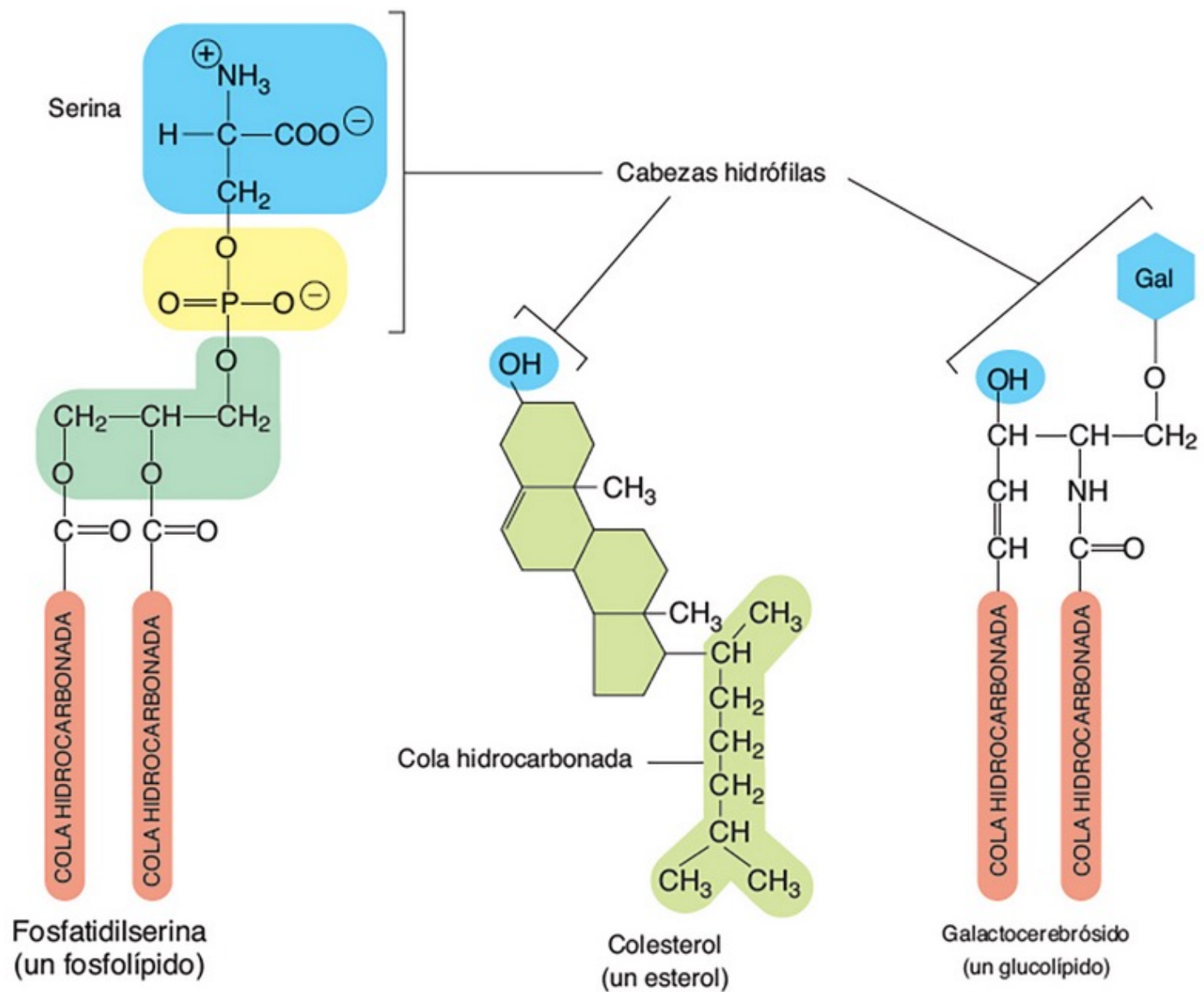


(C)



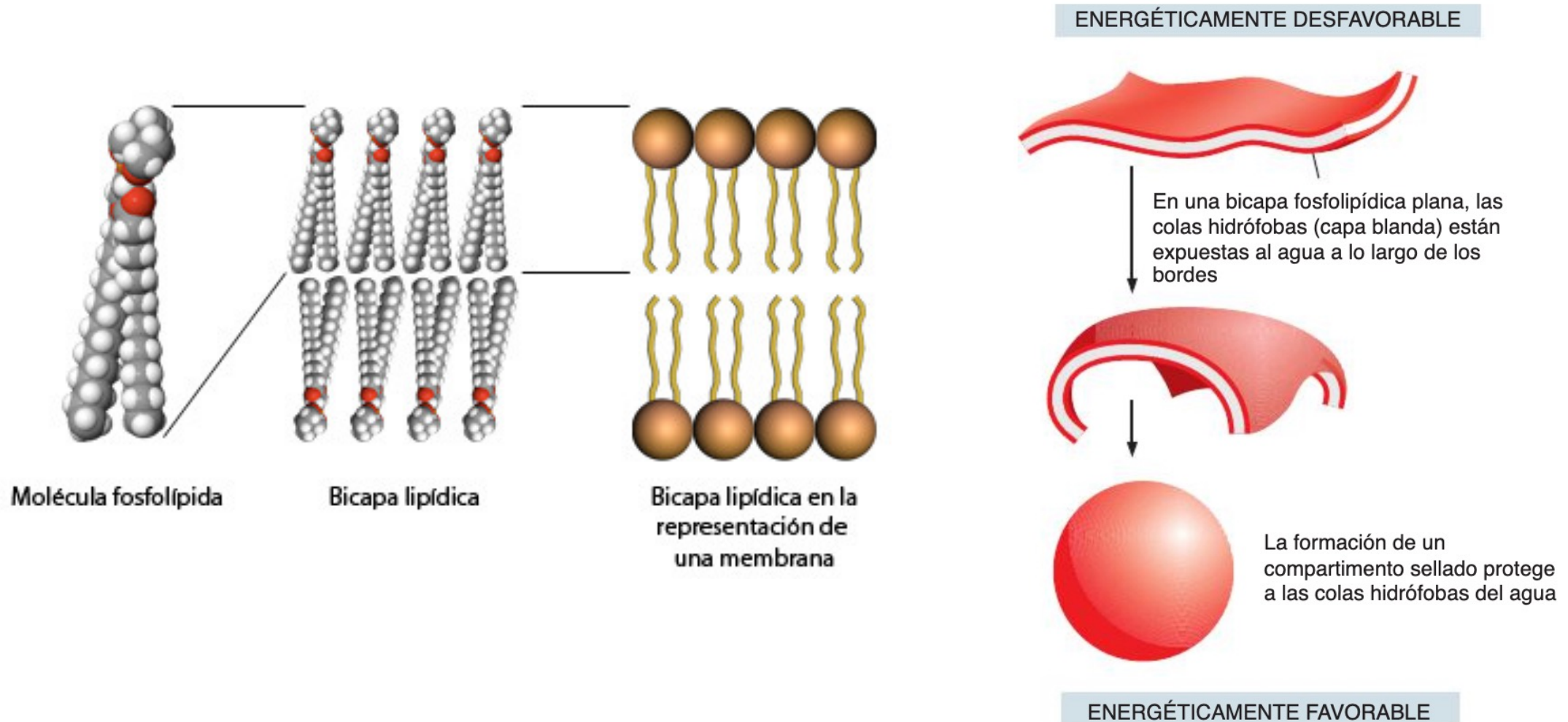
(D)

Composición y estructura



Composición y estructura

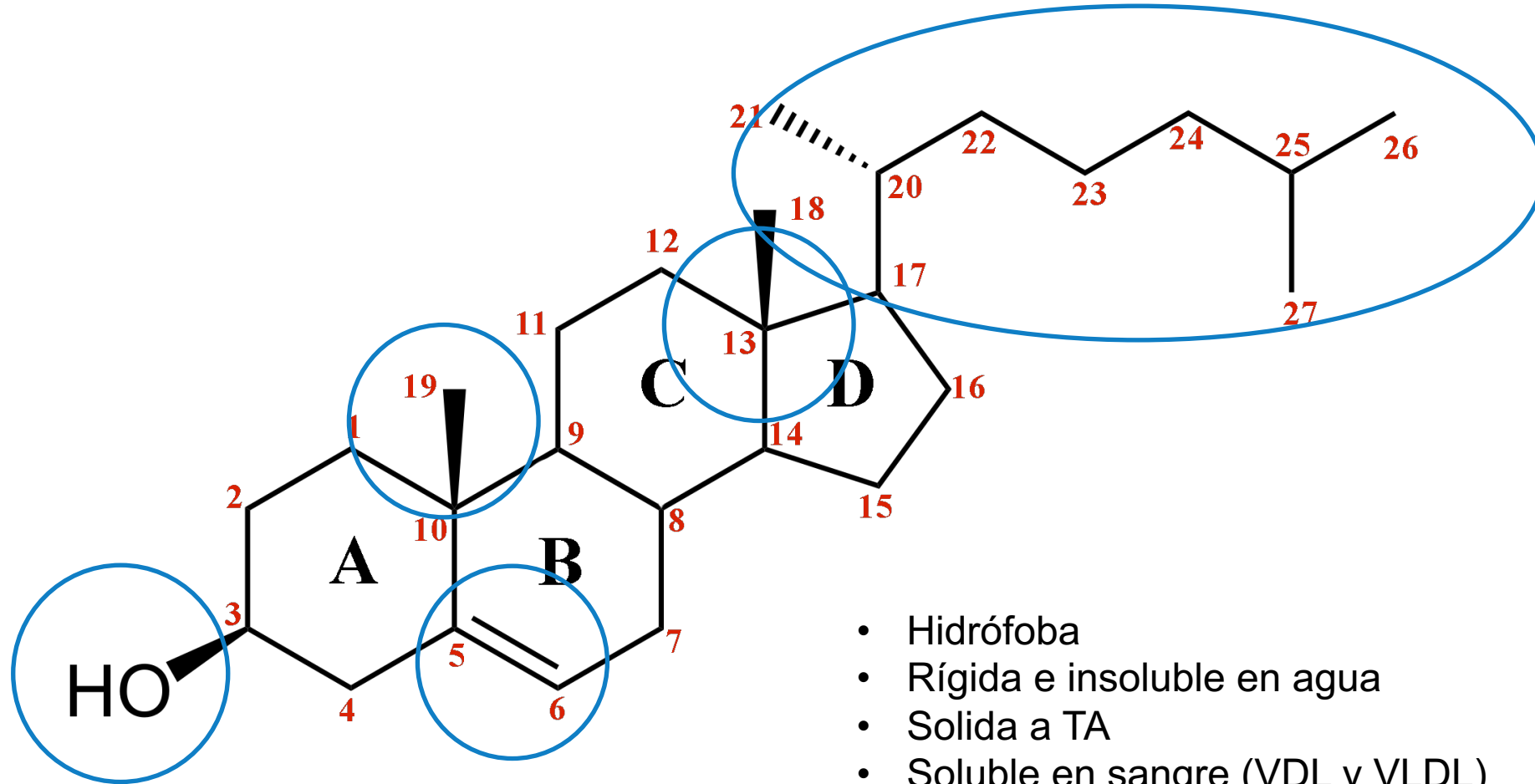
El carácter anfipático de los fosfolípidos permite que se cree una doble capa lipídica



Composición y estructura

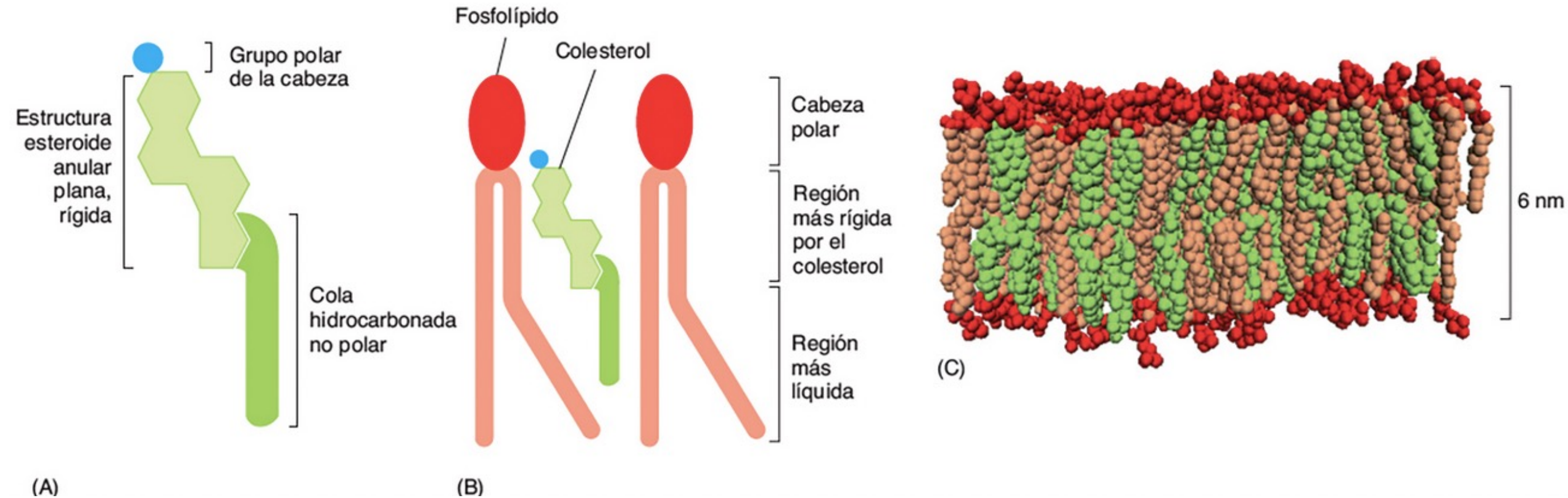
COLESTEROL: molécula de esterano + cadena hidrocarbonada

8C



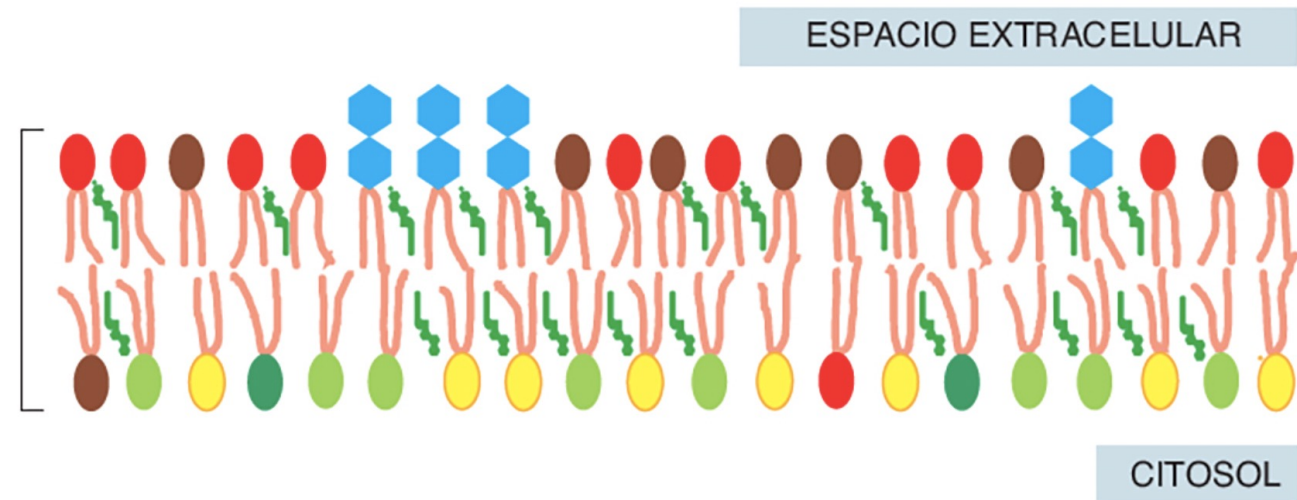
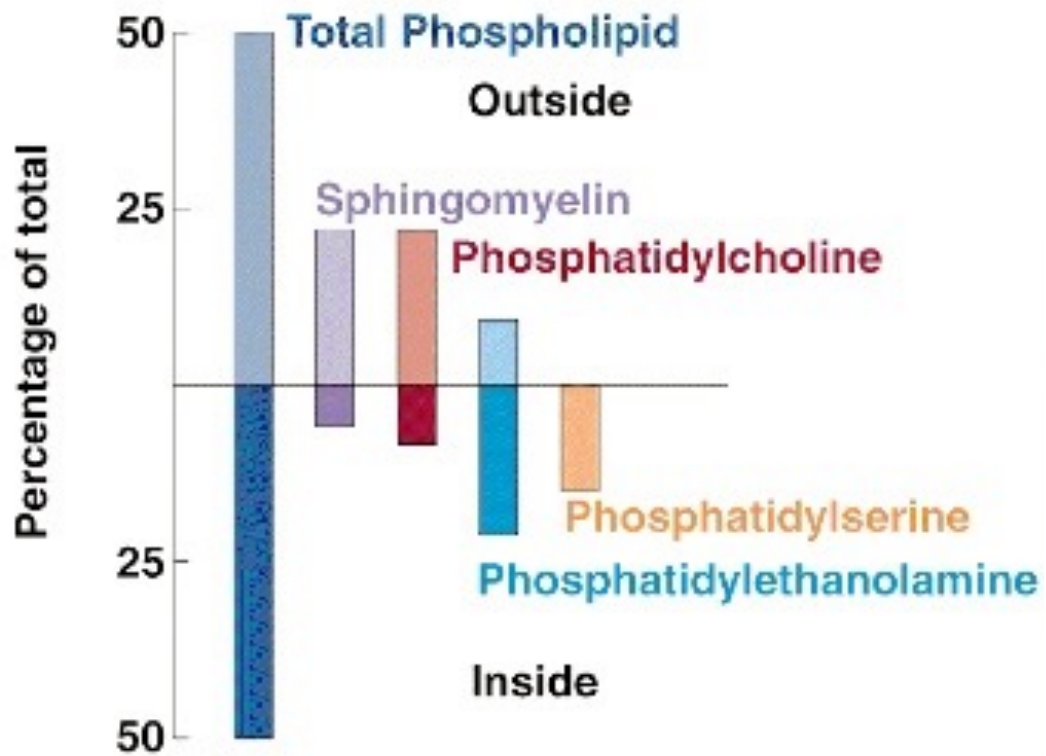
Composición y estructura

El colesterol tiende a volver más rígidas las membranas plasmáticas



Composición y estructura

La membrana plasmática es asimétrica

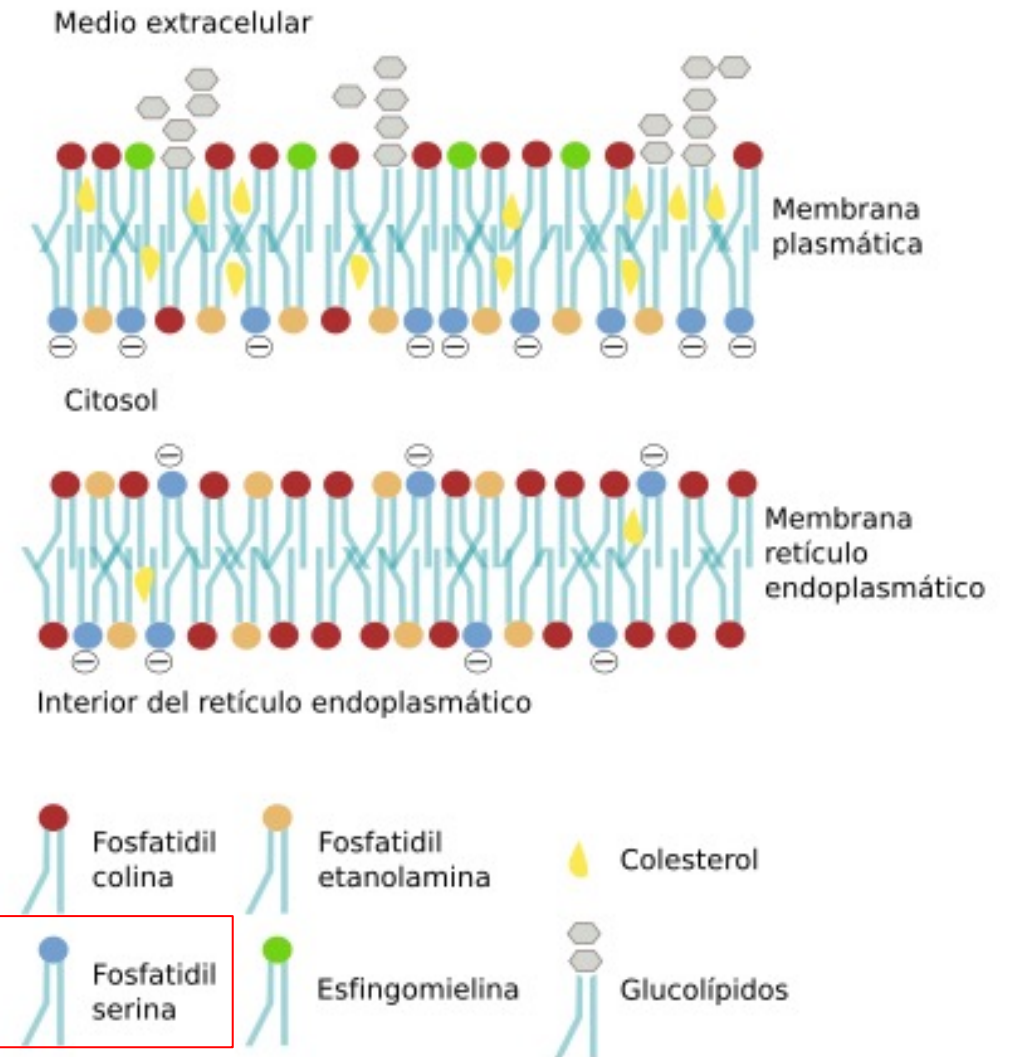


Los fosfolípidos y los glucolípidos están distribuidos de manera asimétrica en la bicapa lipídica

Composición y estructura

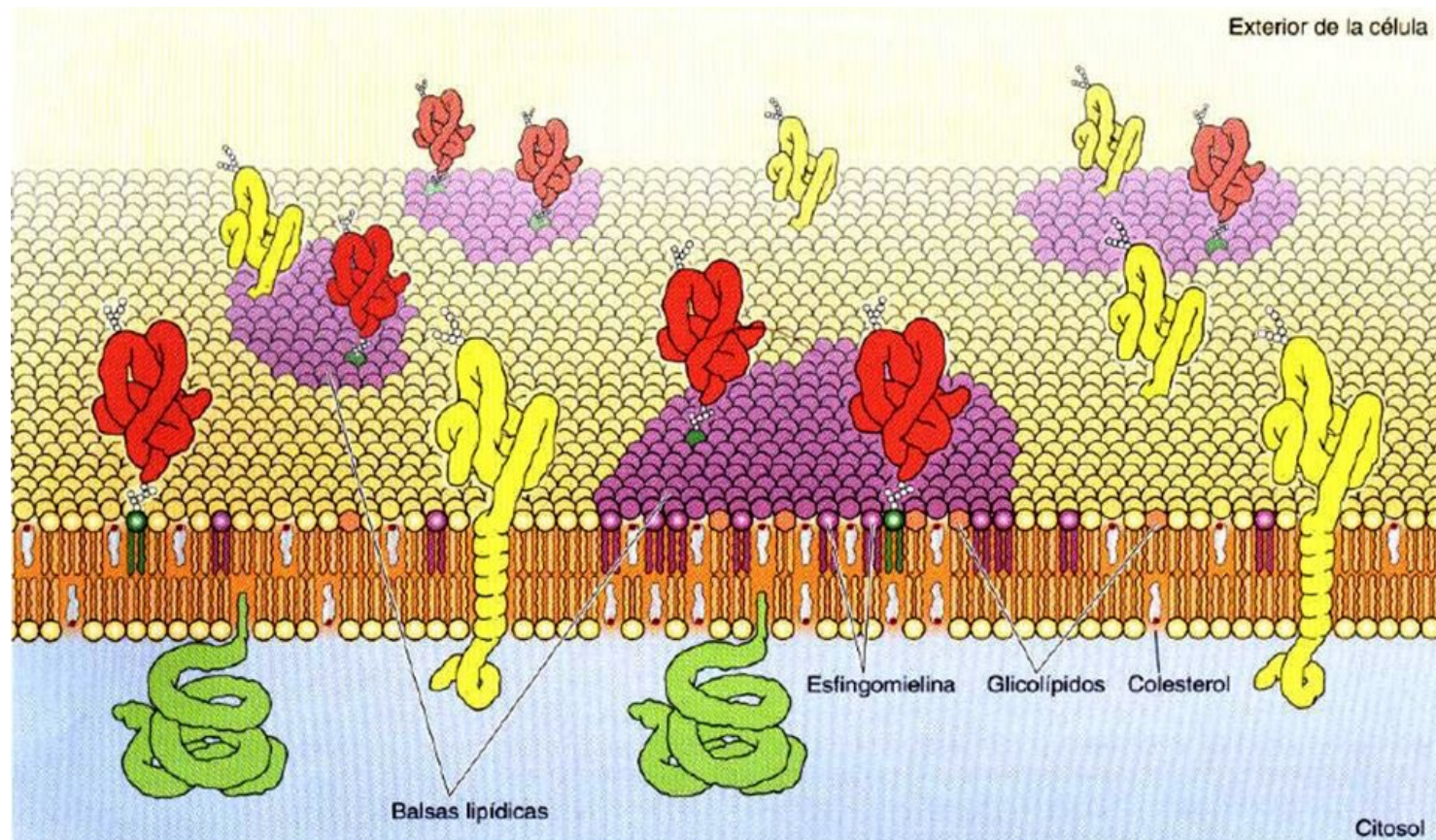
La membrana plasmática es asimétrica

- Condensador eléctrico
- Viabilidad celular: inicio de apoptosis
- Reconocimiento celular



Composición y estructura

Los esfingolípidos y el colesterol no se distribuyen de forma uniforme



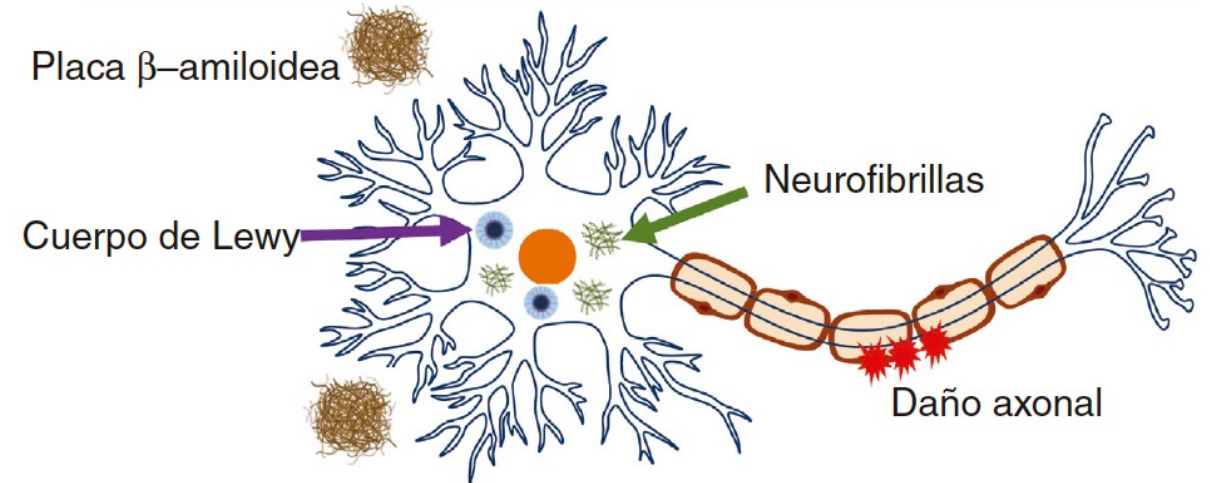
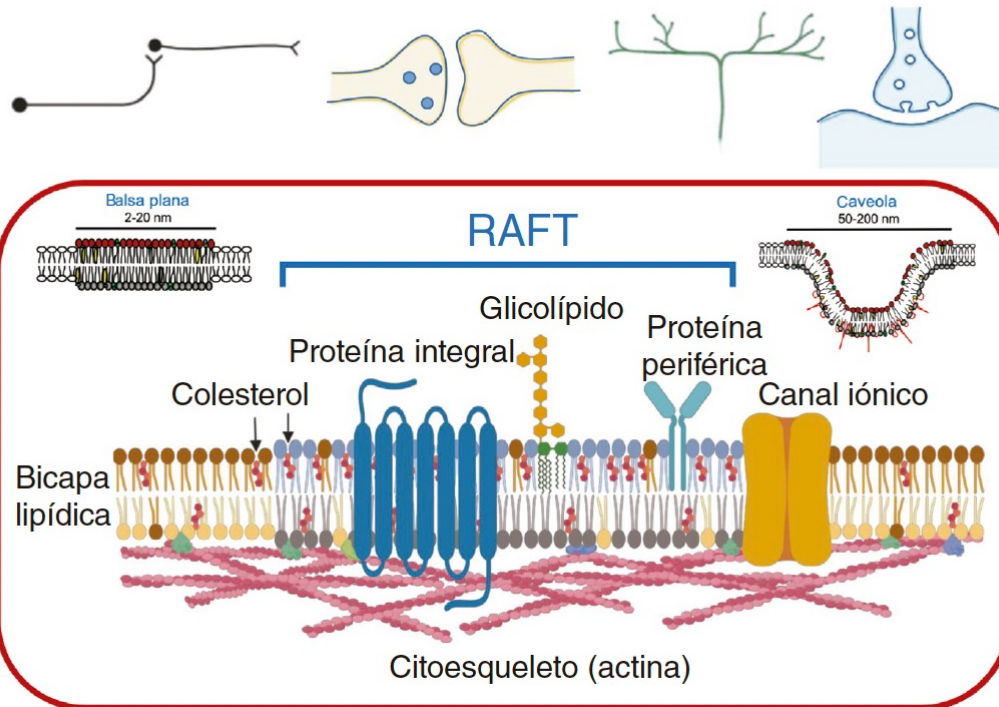
Balsas o *rafts* de esfingolípidos y colesterol

Composición y estructura

La alteración de la composición de los RAFT propicia la **desregulación de las vías de señalización y circuitos neuronales**

EVENTOS FISIOLÓGICOS

Proyección axonal - transmisión sináptica - plasticidad sináptica

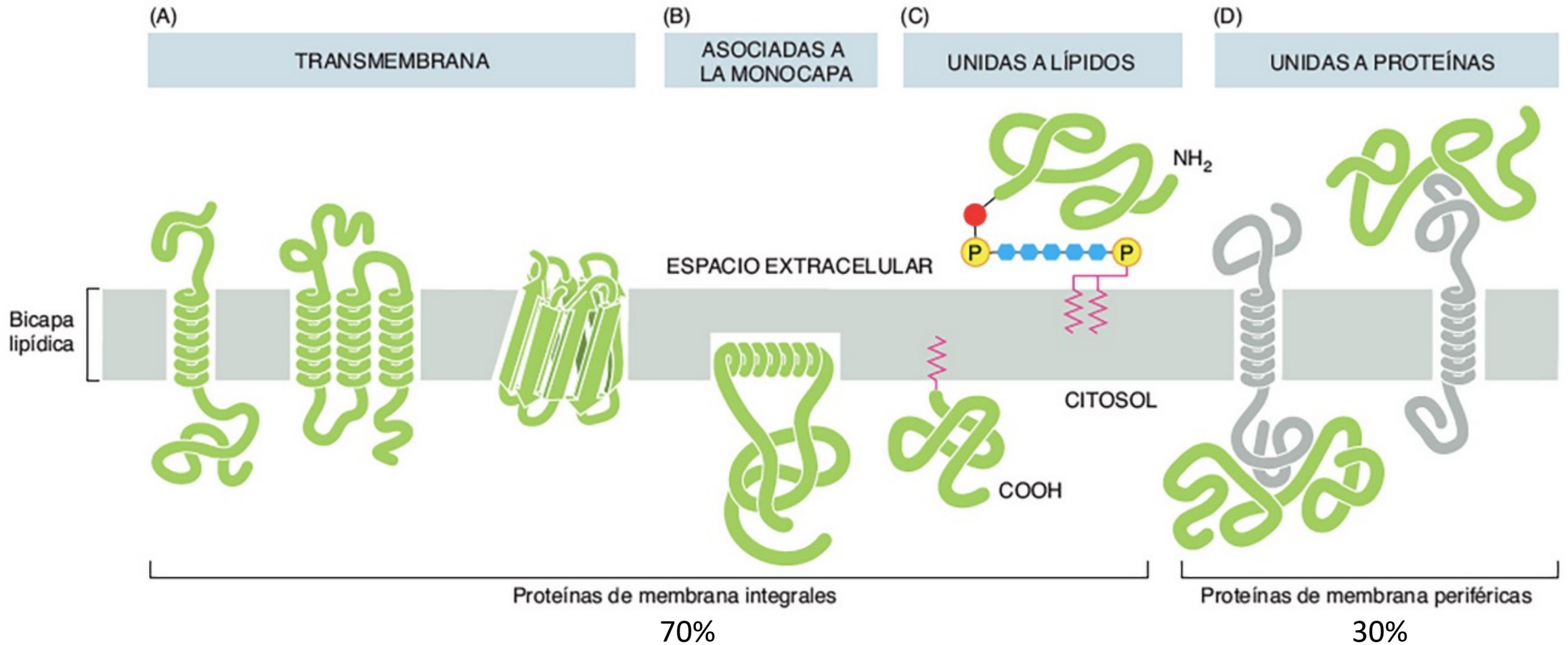


Alzheimer – Parkinson –Huntington – SLO – NPC – DLB – NO – CJ

ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS

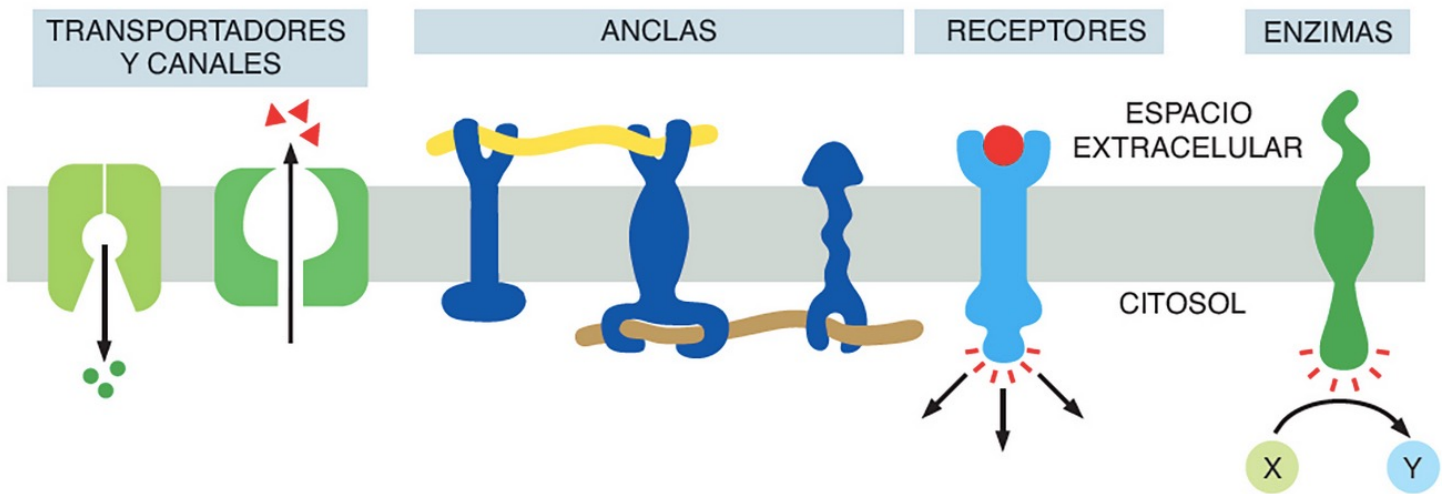
Composición y estructura

Las proteínas de membrana se asocian con la bicapa lipídica de diferentes maneras



Composición y estructura

Las proteínas de la membrana plasmática cumplen diversas funciones



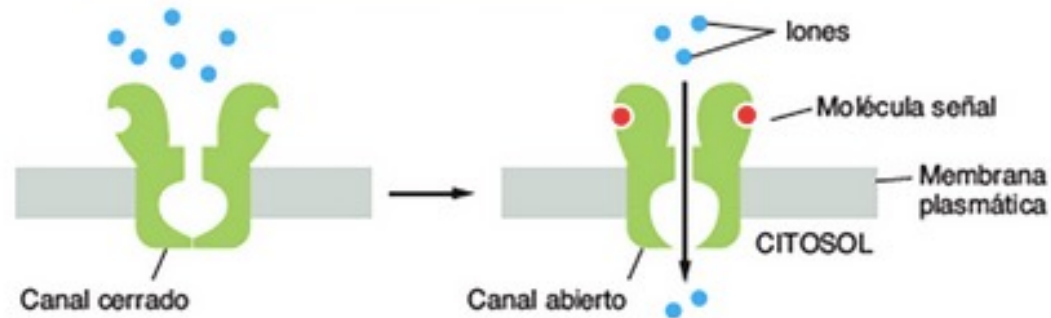
CUADRO 11-1 ALGUNOS EJEMPLOS DE PROTEÍNAS DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA Y SUS FUNCIONES

Clase funcional	Ejemplo de proteína	Función específica
Transportadores	Bomba de Na ⁺	Bombea activamente Na ⁺ hacia el exterior de la célula y K ⁺ hacia el interior (se analiza en el cap. 12)
Canales iónicos	Canal de filtración de K ⁺	Permite que los iones K ⁺ abandonen las células, lo que influye en la excitabilidad celular (se analiza en el cap. 12)
Proteínas de anclaje	Integrinas	Conectan filamentos de actina intracelulares con proteínas de la matriz extracelular (se analiza en el cap. 20)
Receptores	Receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)	Se une al PDGF extracelular y, en consecuencia, genera señales intracelulares que llevan a la célula a crecer y dividirse (se analiza en los caps. 16 y 18)
Enzimas	Adenililciclasa	Cataliza la producción de la pequeña molécula de señalización intracelular AMP cíclico en respuesta a señales extracelulares (se analiza en el cap. 16)

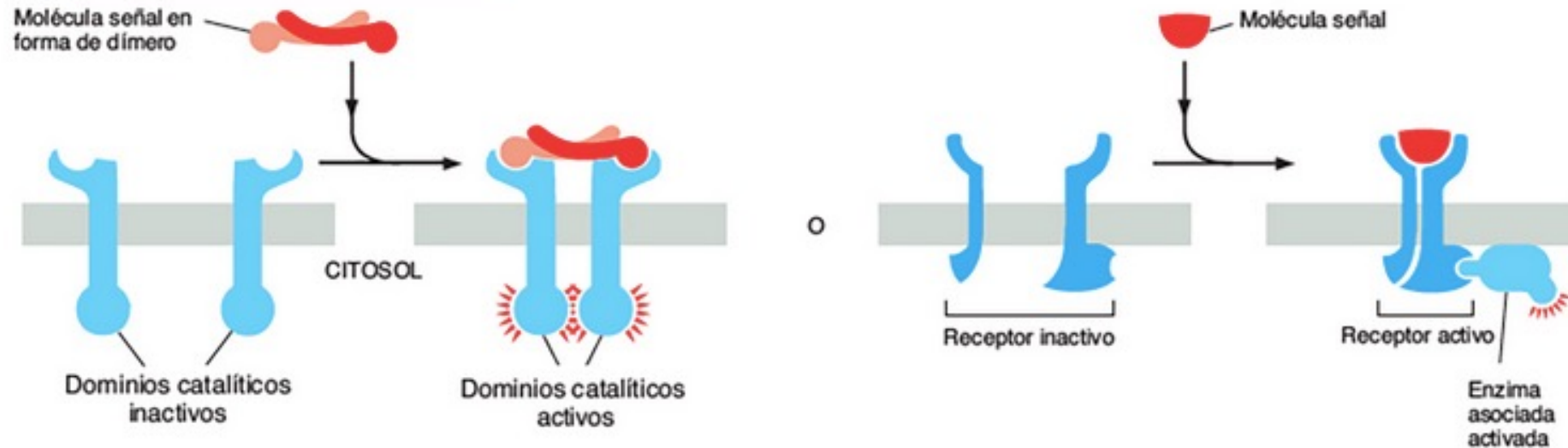
Composición y estructura

Las proteínas de la membrana plasmática cumplen diversas funciones: **receptores de membrana**

RECEPTORES ACOPLADOS A CANALES IÓNICOS



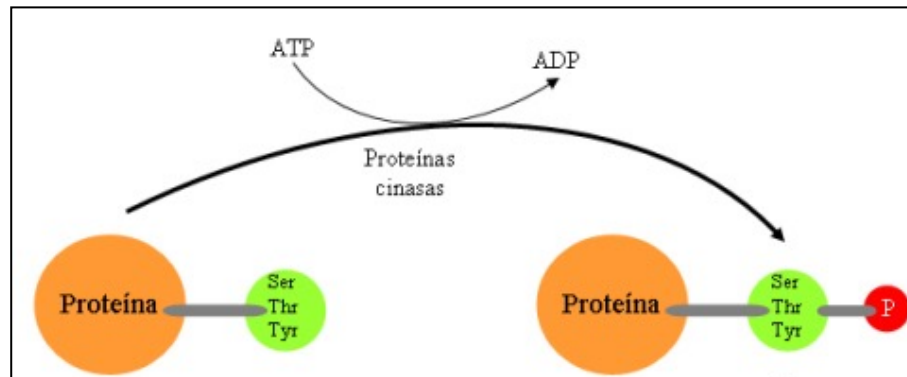
RECEPTORES ACOPLADOS A ENZIMAS



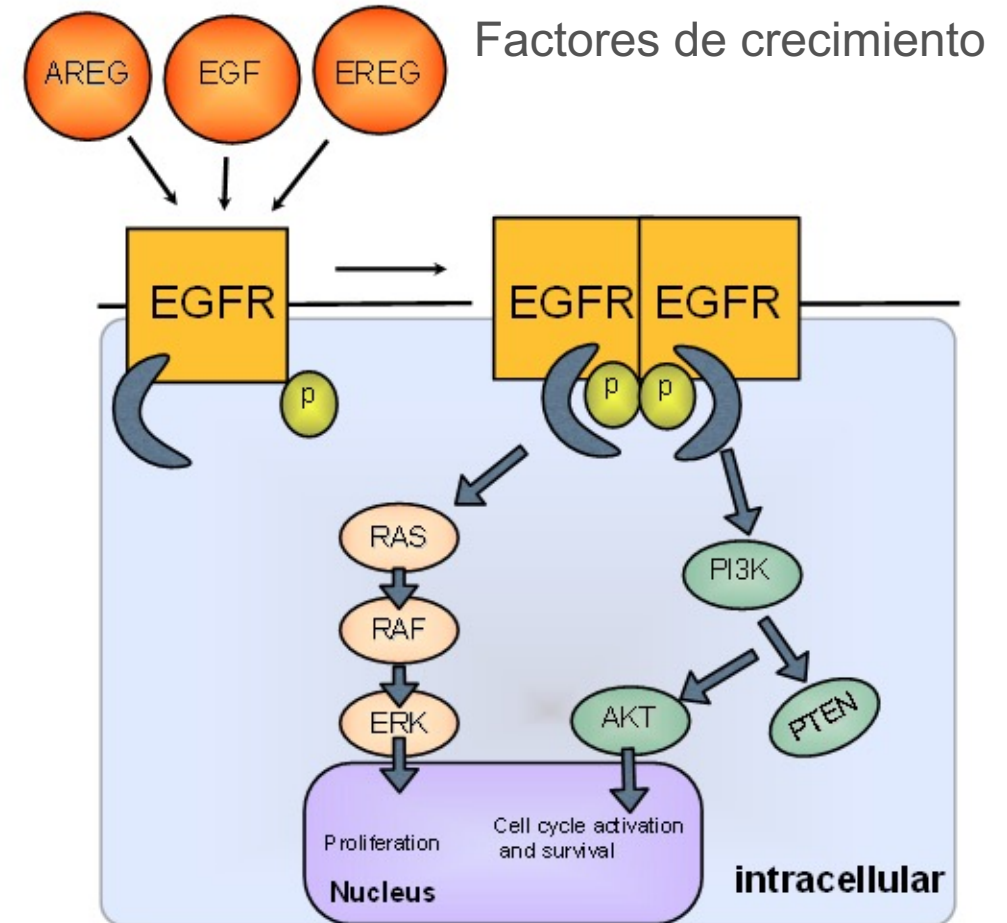
Composición y estructura

Las proteínas de la membrana plasmática cumplen diversas funciones: **receptores de membrana**

- Receptores con actividad quinasa
- Receptores con actividad fosfatasa



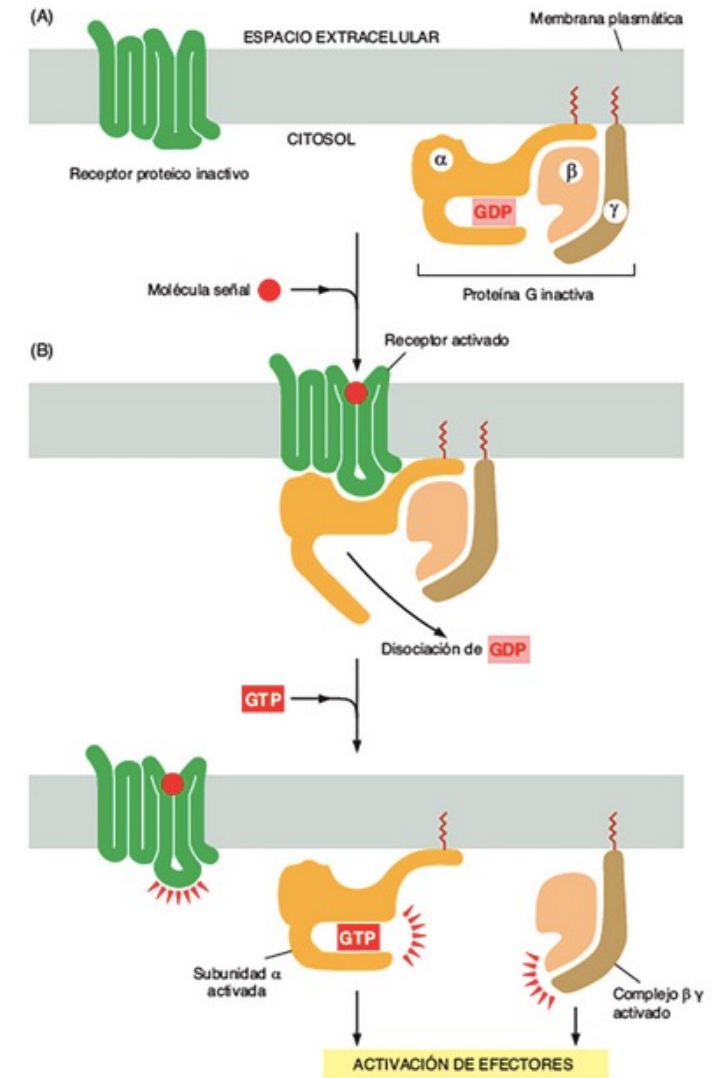
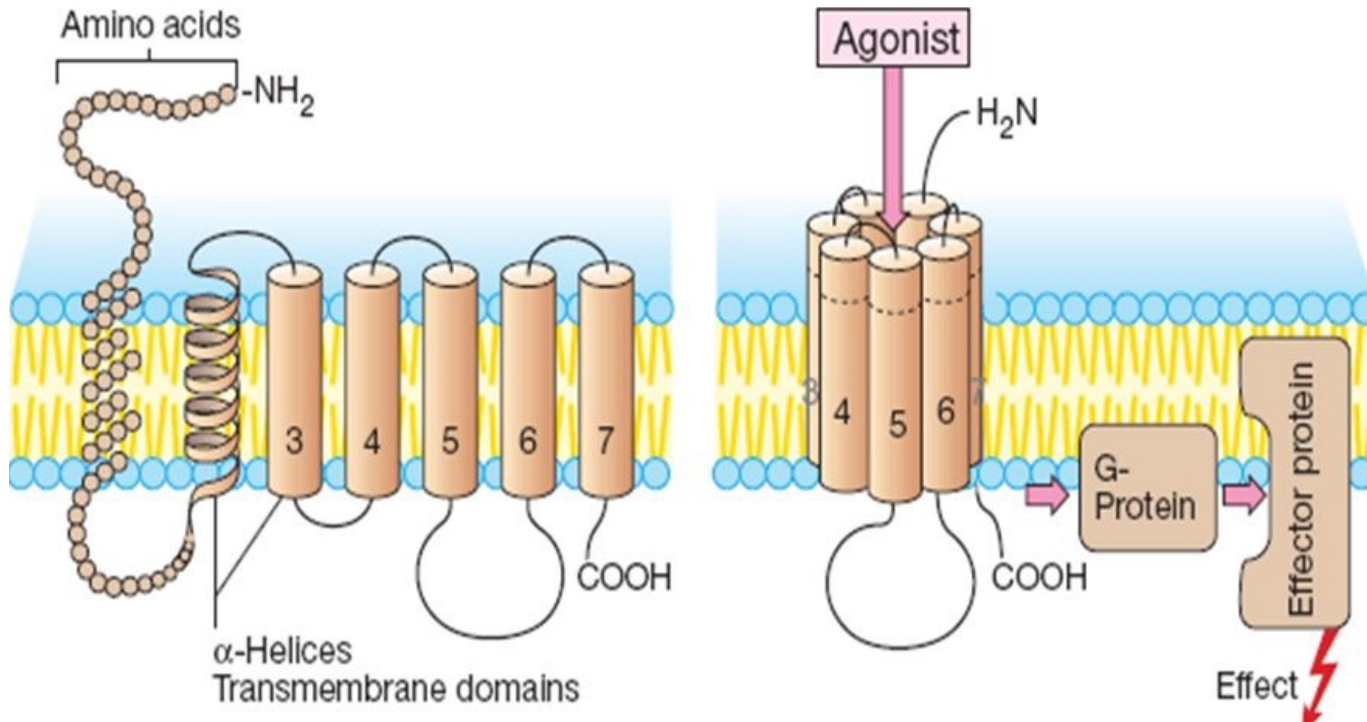
Quinasas y fosfatasas



Composición y estructura

Las proteínas de la membrana plasmática cumplen diversas funciones: **receptores de membrana**

Receptores acoplados a proteínas G (**GPCRs**)



Composición y estructura

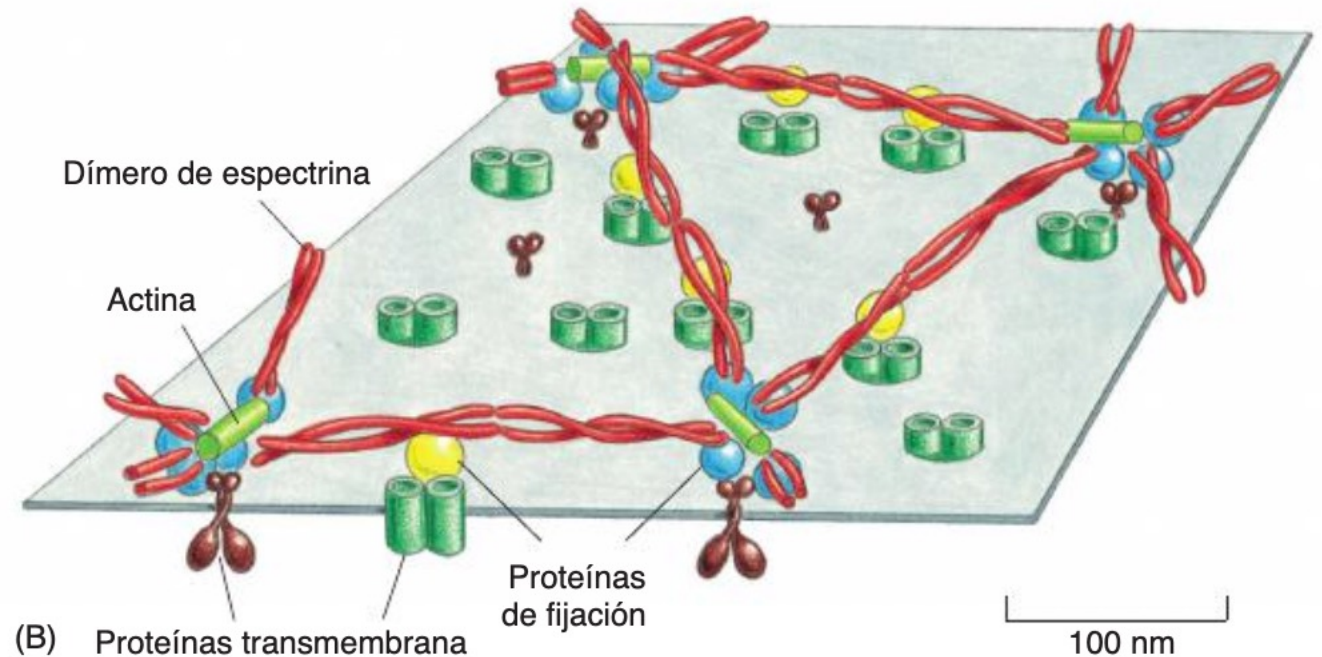
Las proteínas de la membrana plasmática cumplen diversas funciones: **estructural**

Una corteza compuesta en gran medida por **espectrina** confiere a las células su forma característica



(A)

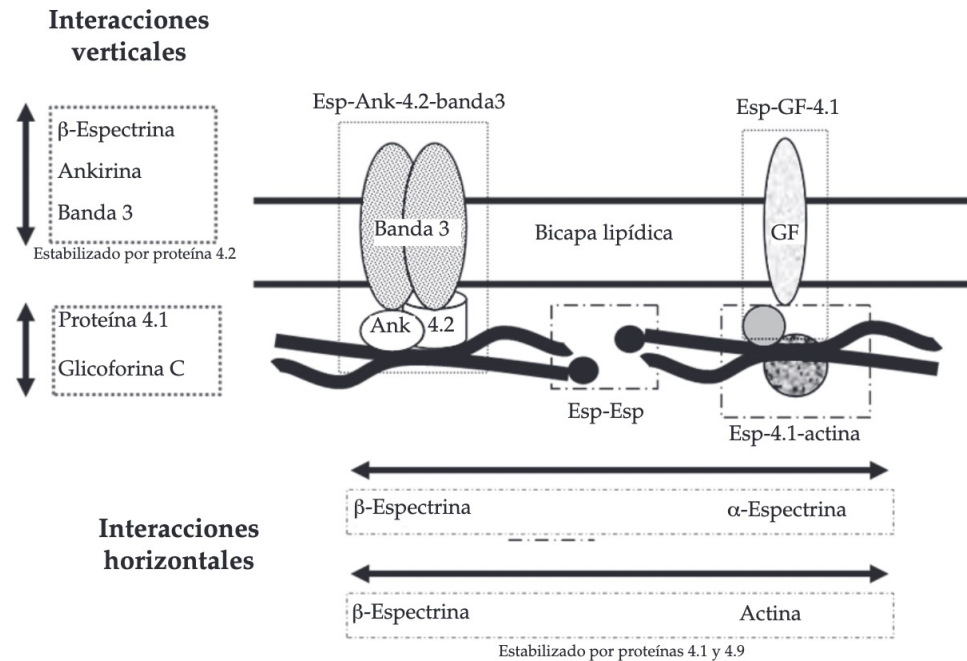
5 μm



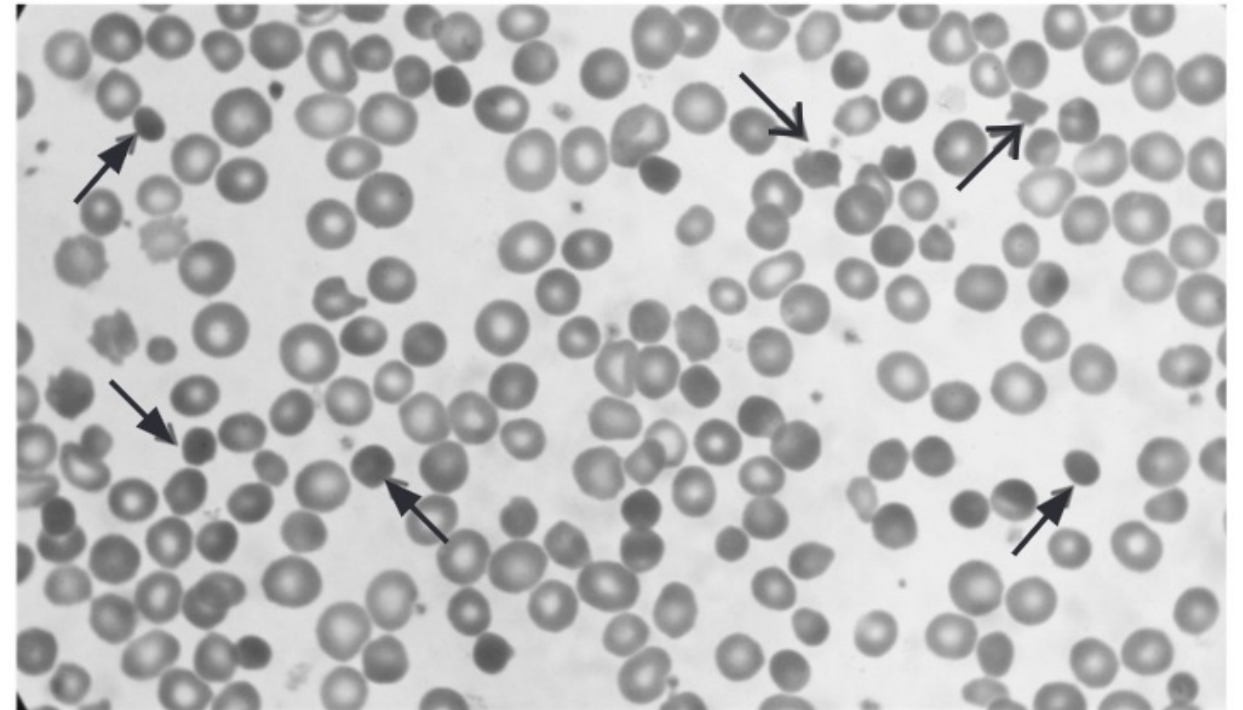
(B)

Composición y estructura

La **ESFEROCITOSIS HEREDITARIA** es una anemia hemolítica congénita



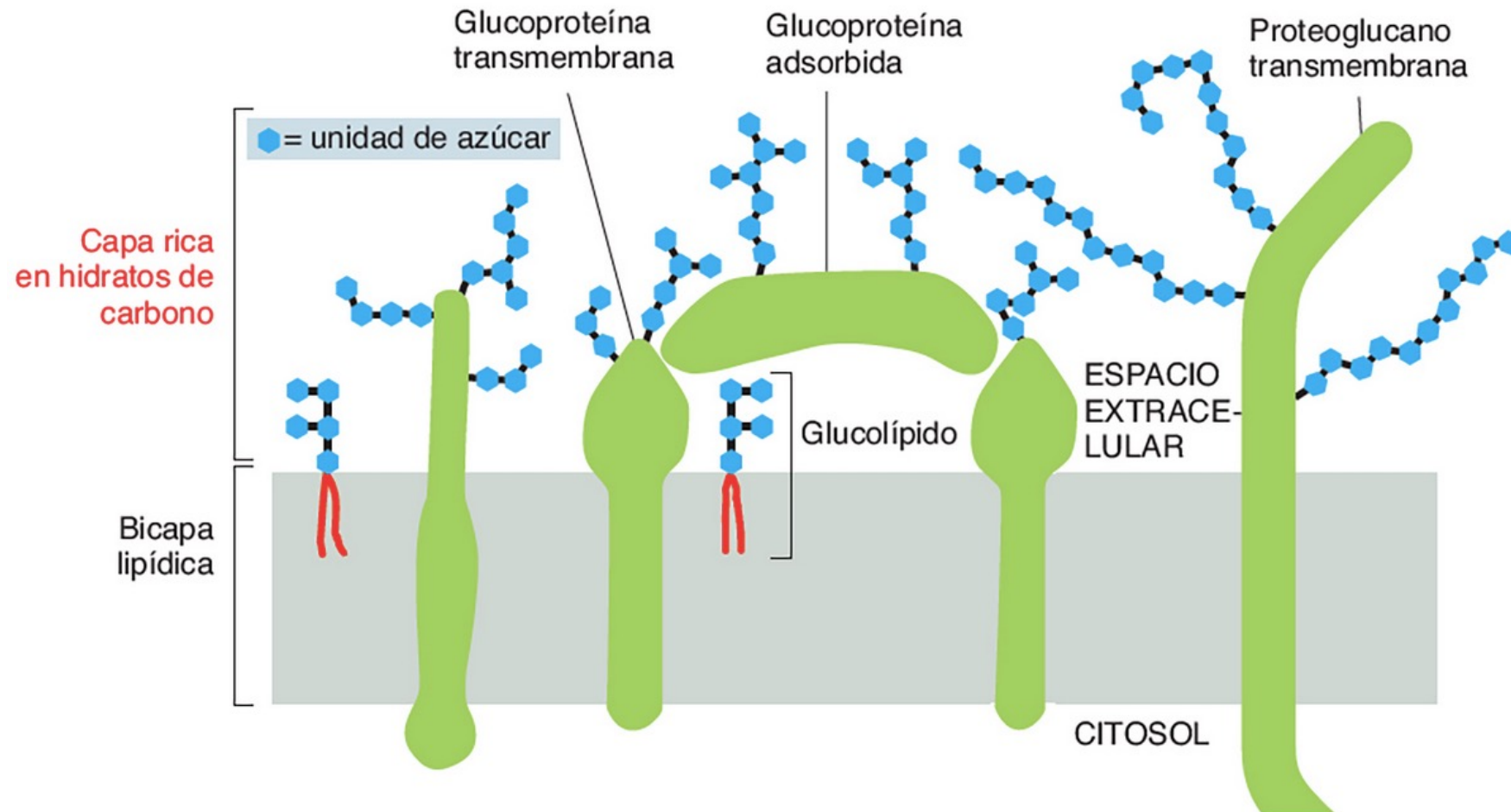
Esp: espectrina; Ank: ankirina; Gf: glicoforina.
..... : interacciones verticales.
..... : interacciones horizontales.



Defectos en las proteínas de la membrana de los glóbulos rojos resultan en su **destrucción prematura en el bazo**

Composición y estructura: GLUCOCALIX

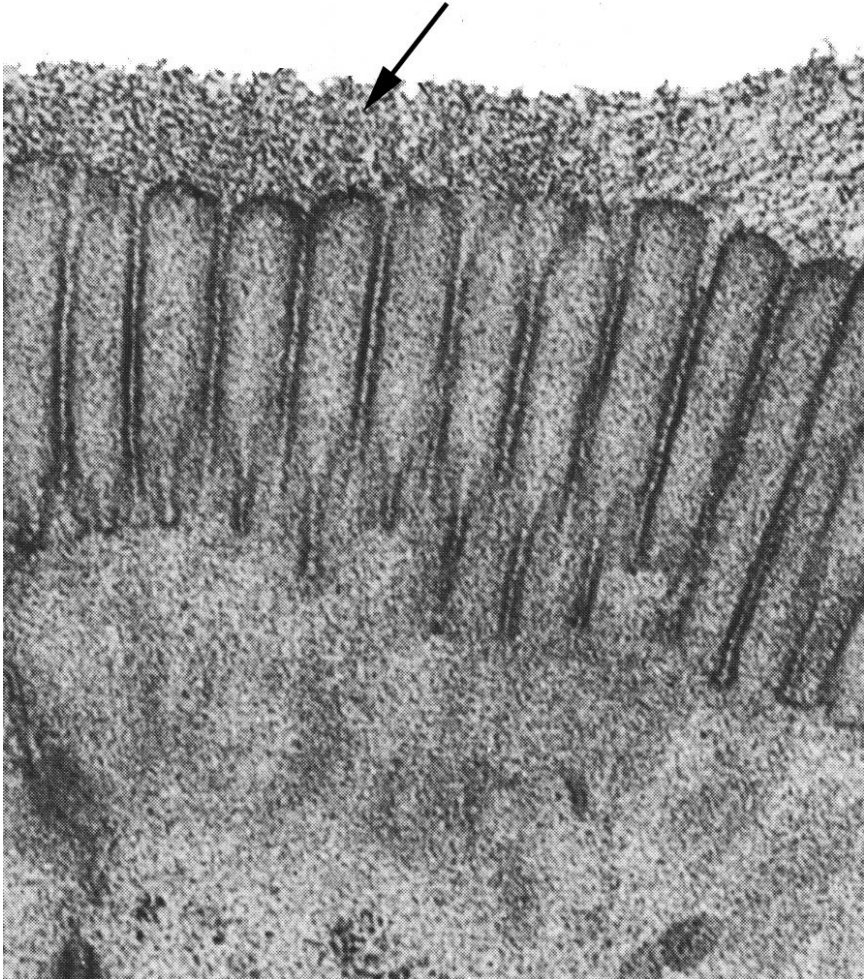
Los hidratos de carbono se encuentran en el lado externo de la membrana formando el **Glucocalix**



Composición y estructura: GLUCOCALIX

Los hidratos de carbono se encuentran en el lado externo de la membrana formando el **Glucocalix**

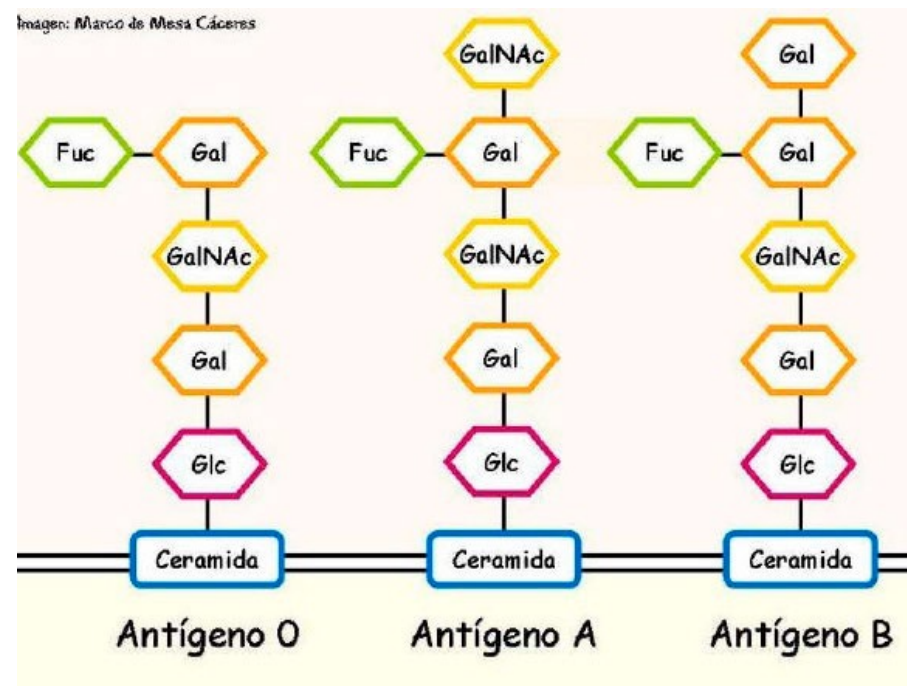
Glycocalyx



- Protección mecánica de la célula
- Atracción de agua a la superficie celular
- Confieren superficie limosa: movimiento
- Especificidad celular
 - Reconocimiento intercelular: lectinas
 - Adhesión celular: cadherinas e integrinas

Composición y estructura: GLUCOCALIX

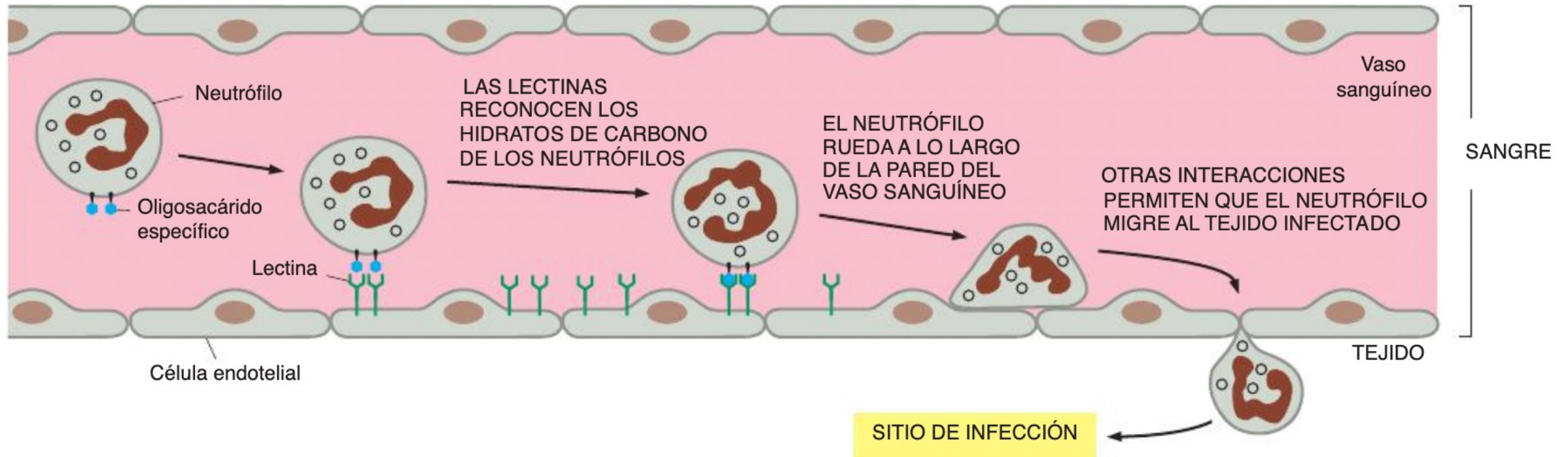
Grupo sanguíneo.



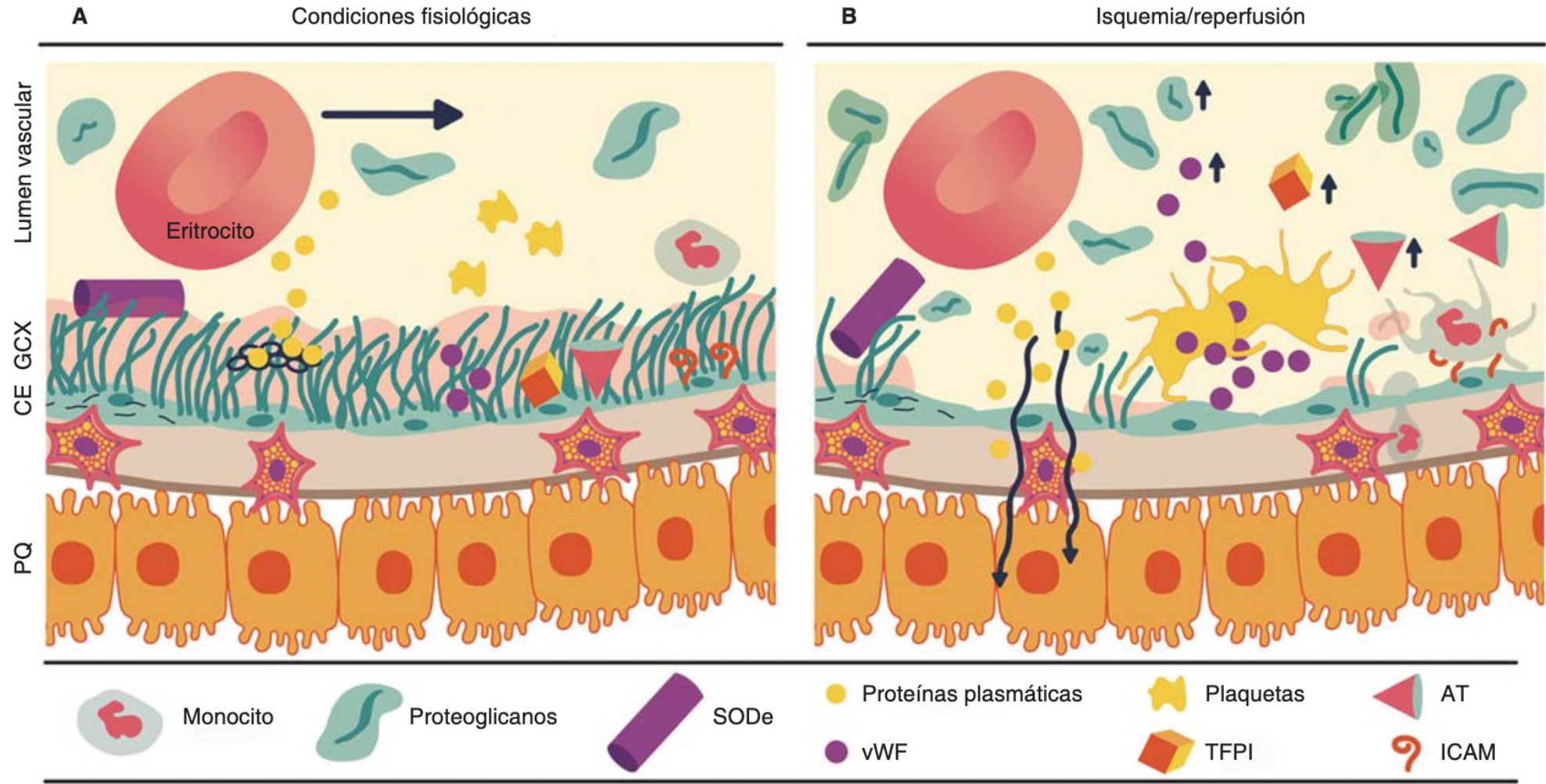
	Grupo A	Grupo B	Grupo AB	Grupo O
Eritrocito				

Composición y estructura: GLUCOCALIX

El reconocimiento de **hidratos de carbono de la superficie celular de los neutrófilos** permite que estas células inmunitarias comiencen a migrar fuera de la sangre y hacia los tejidos infectados



Composición y estructura: GLUCOCALIX

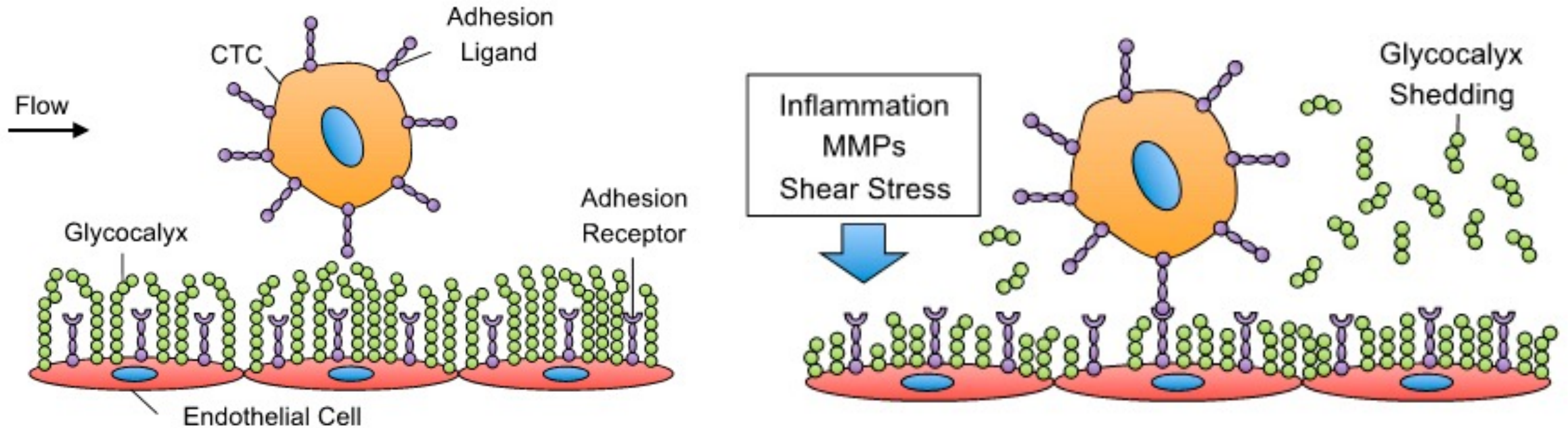


- Mantener el tono vascular
- Barrera

- Superficie inflamatoria

Composición y estructura: GLUCOCALIX

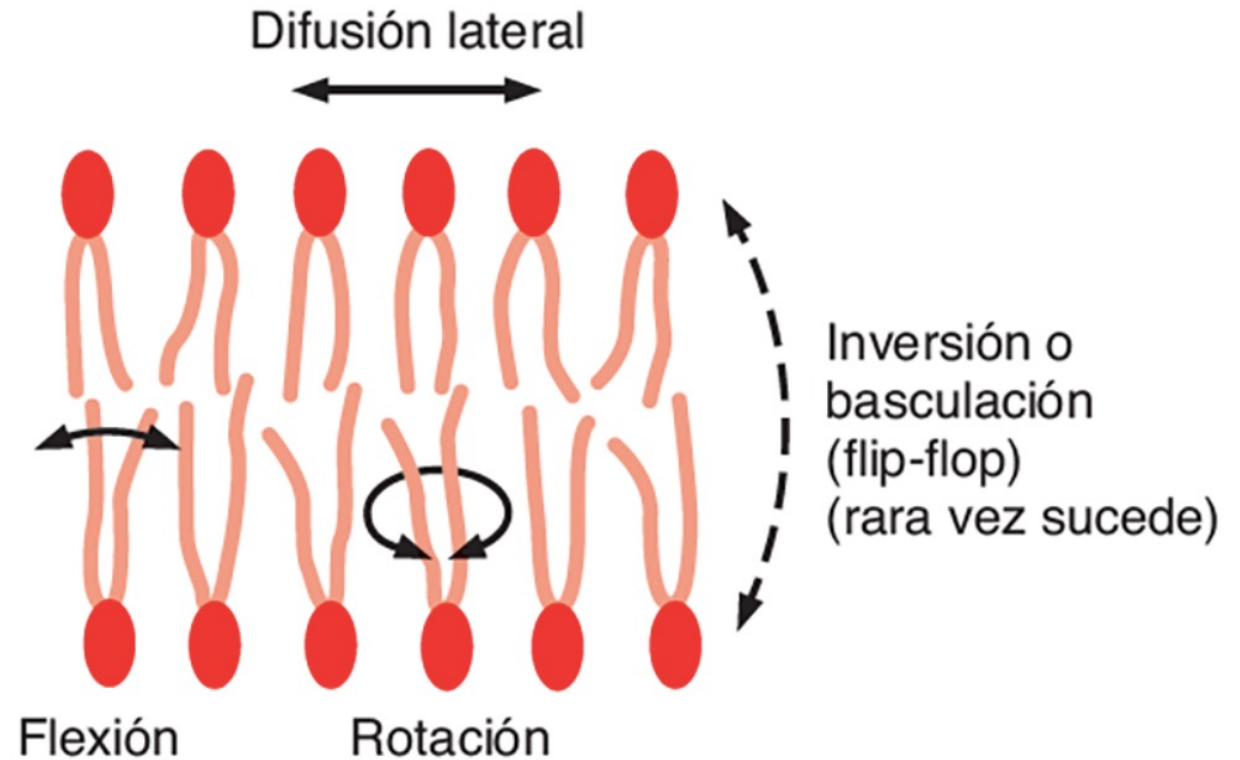
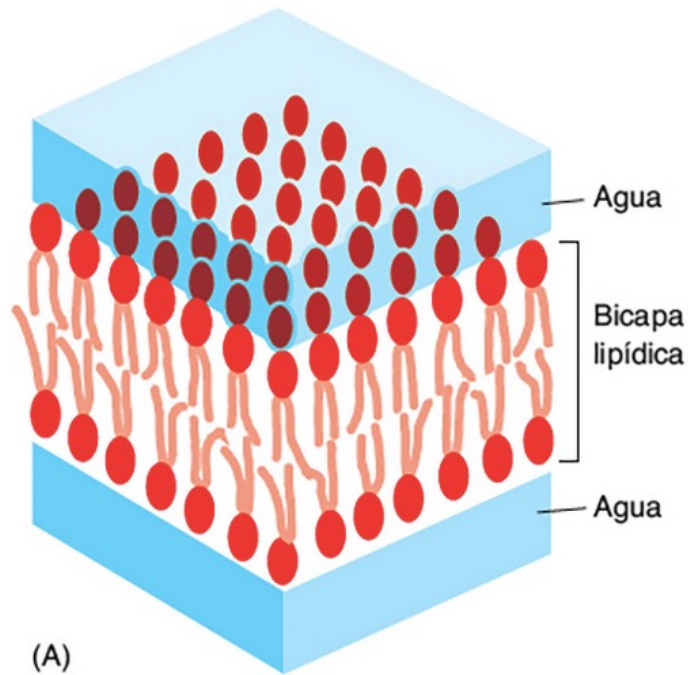
Alteraciones del glucocalix se asocian con los procesos metastásicos



Composición y estructura

MODELO DE MOSAICO FLUIDO

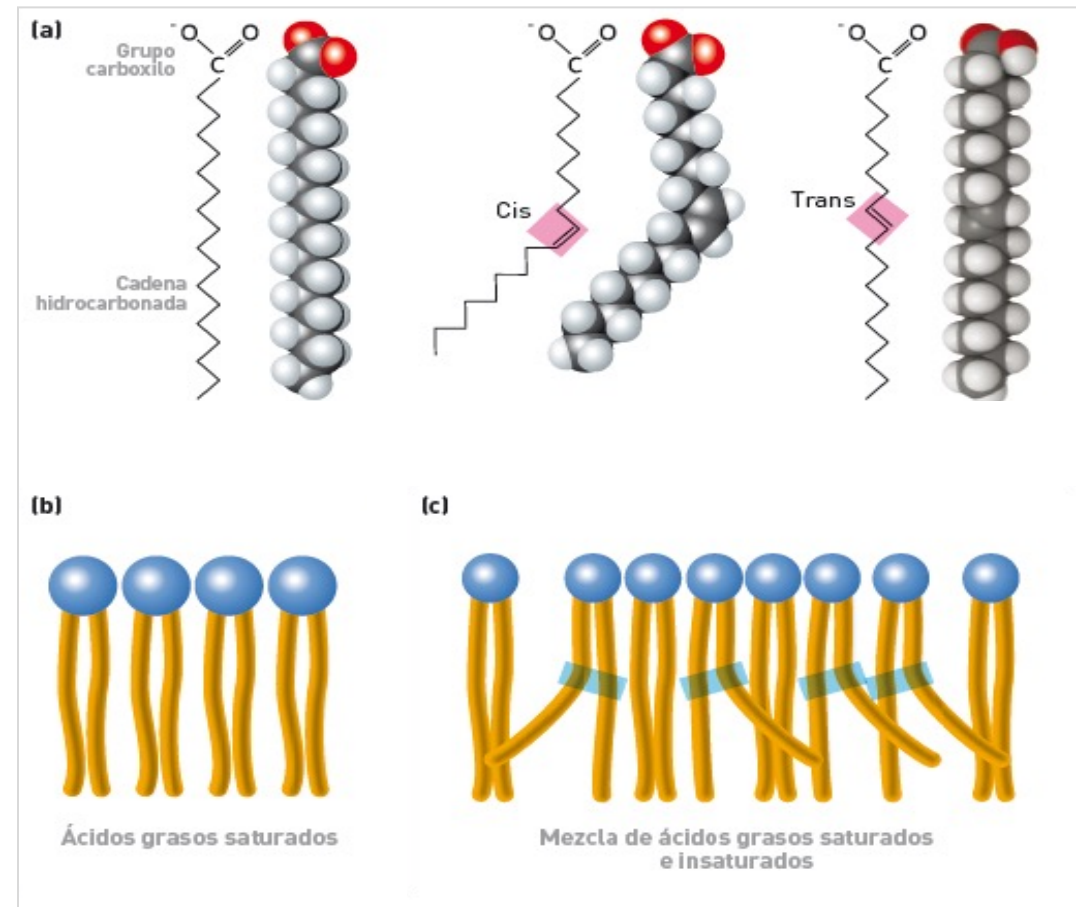
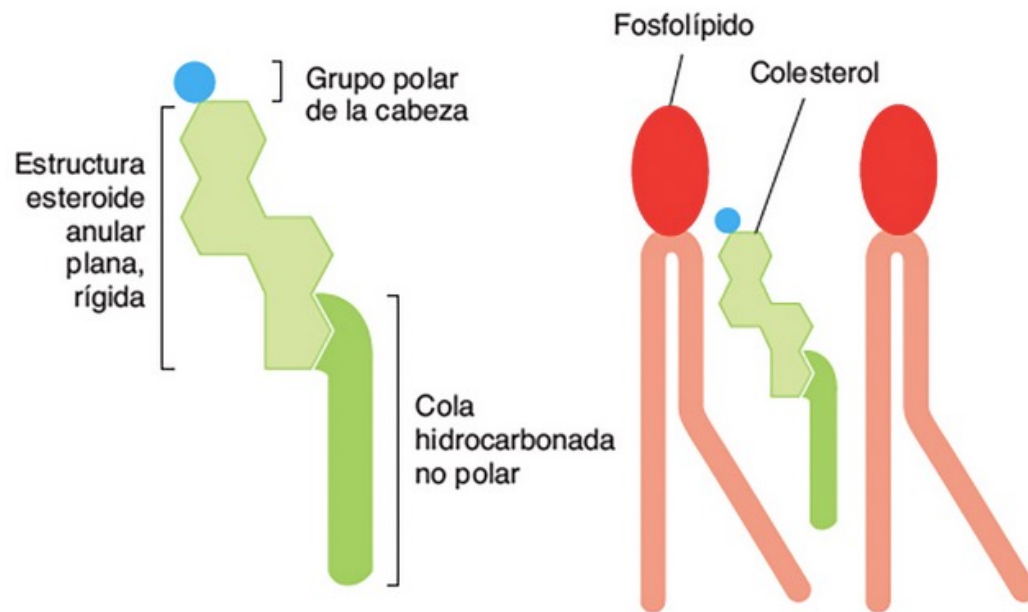
La bicapa lipídica es un líquido flexible bidimensional y la fluidez de la capa lipídica depende de su composición



Composición y estructura

MODELO DE MOSAICO FLUIDO

La bicapa lipídica es un líquido flexible bidimensional y la fluidez de la capa lipídica depende de su composición



Composición y estructura

MODELO DE MOSAICO FLUIDO

La **ACANTOCITOSIS** se caracteriza por eritrocitos anormales con una membrana plasmática rígida debido a la elevada cantidad de colesterol

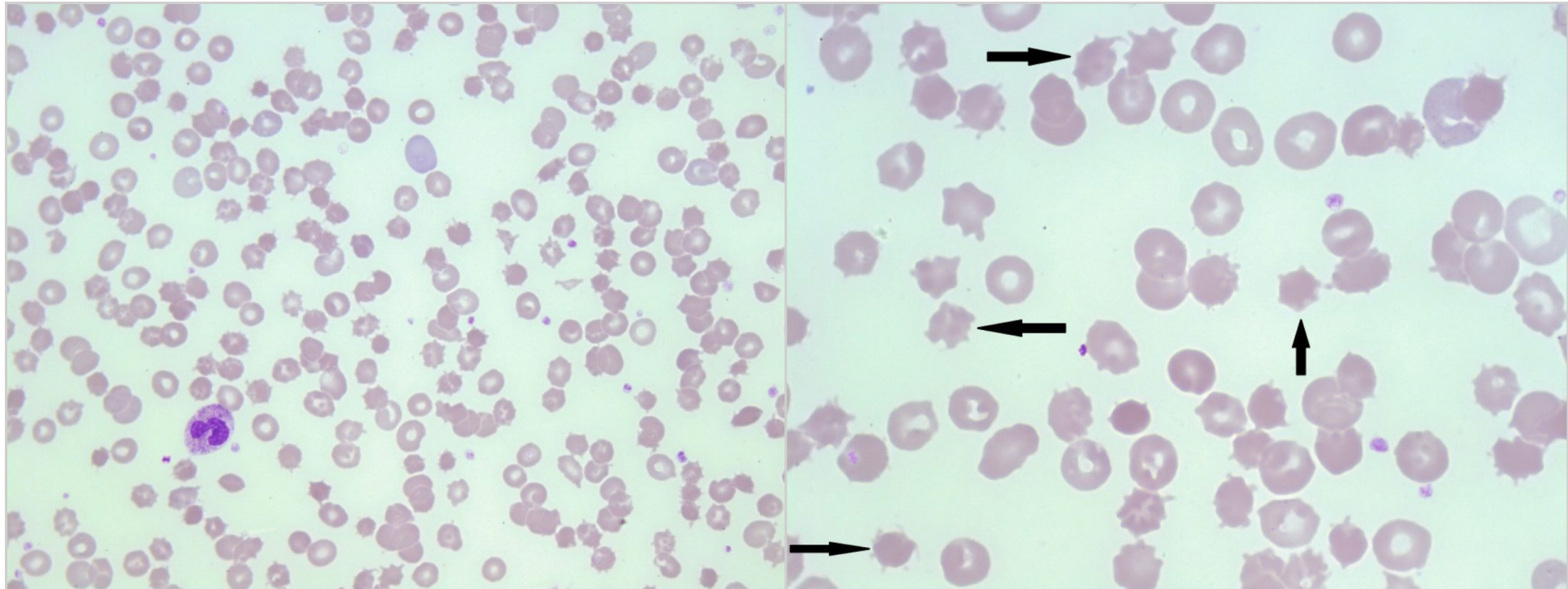
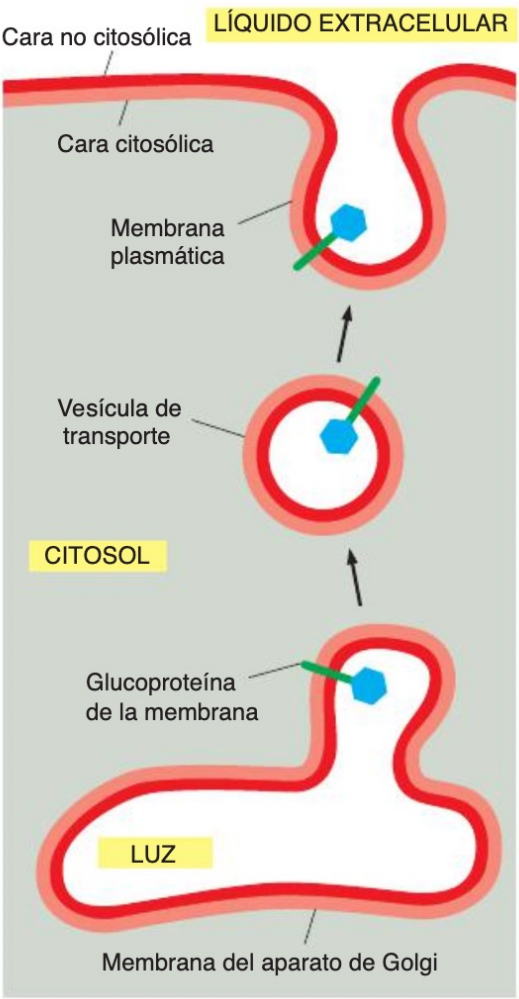
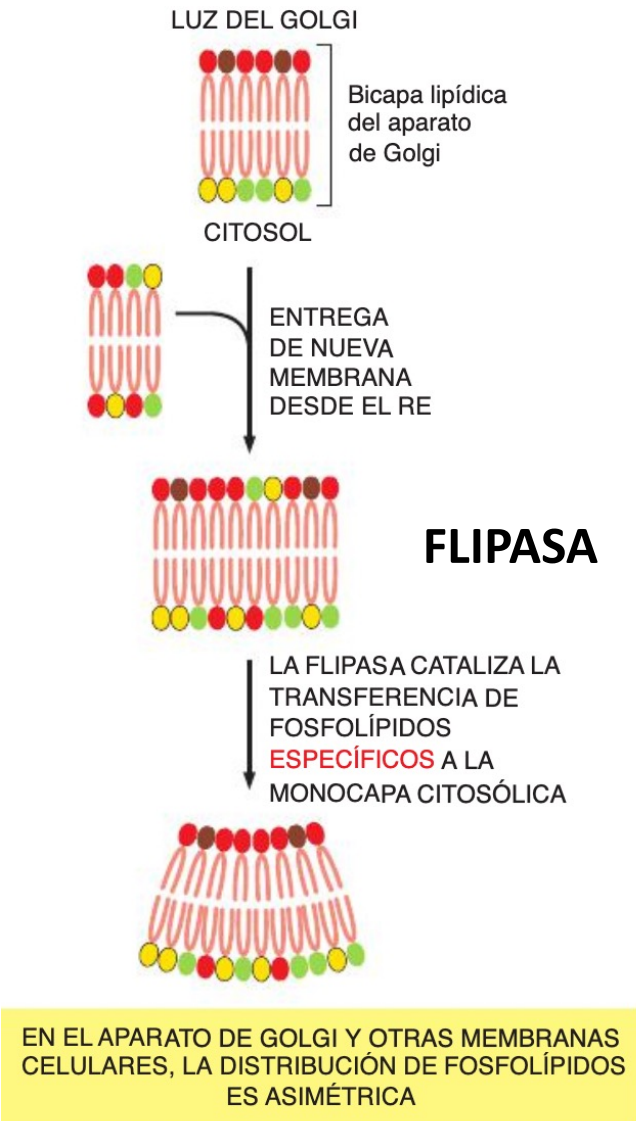
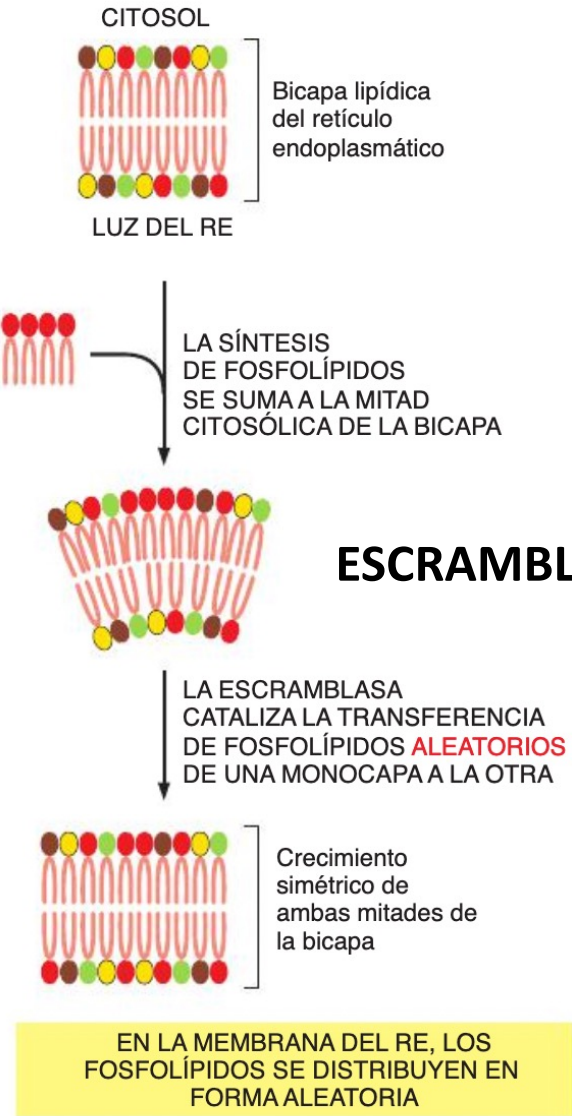


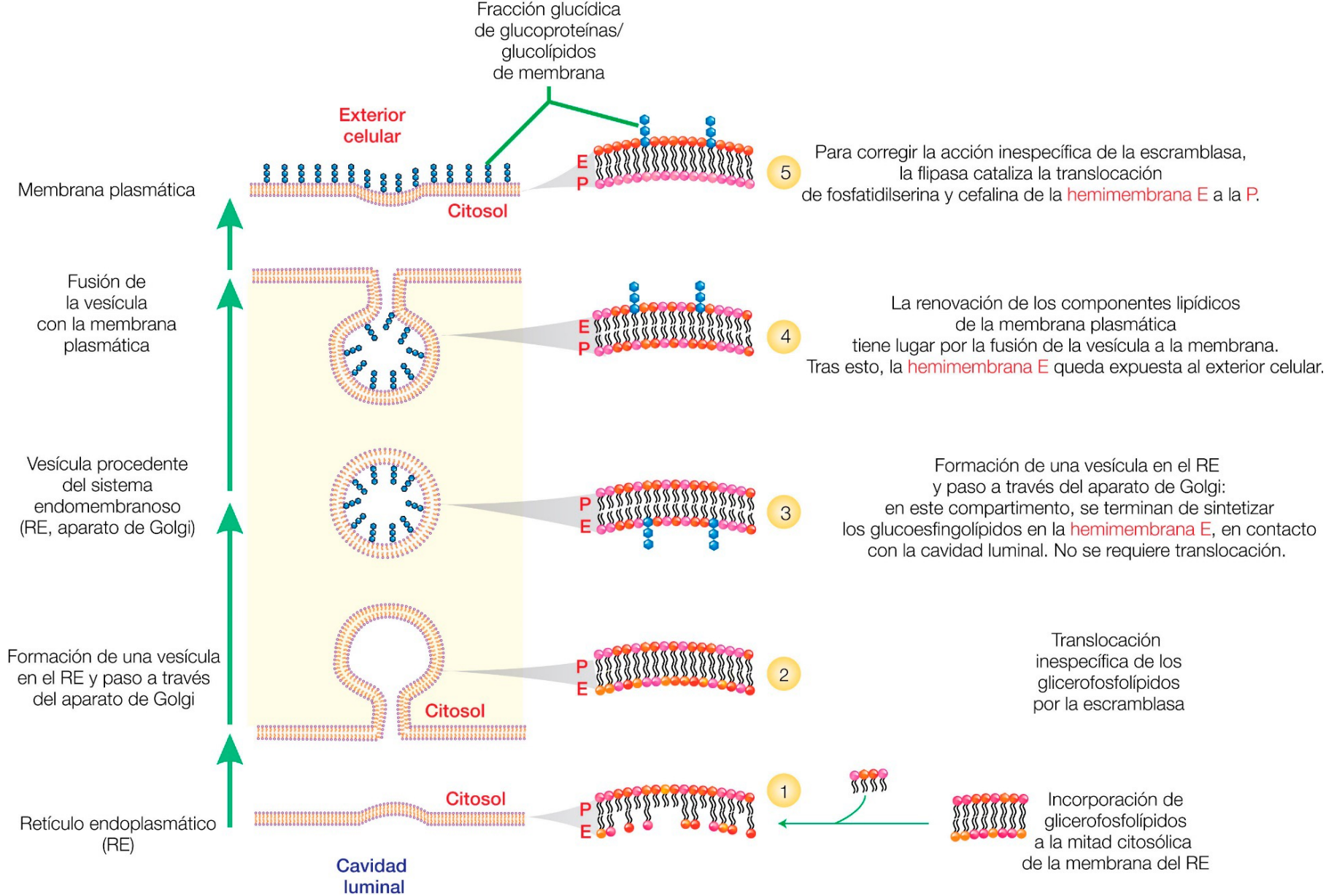
Imagen de un frotis de sangre periférica que contiene algunos acantocitos. Inmersión en aceite 50x. De la Colección MLS, Universidad de Alberta, <https://doi.org/10.7939/R3MP4W32X>

Imagen de un frotis de sangre periférica que contiene algunos acantocitos (ejemplos mostrados con flechas). Inmersión en aceite 50x. De la Colección MLS, Universidad de Alberta, <https://doi.org/10.7939/R3MP4W32X>

Renovación de la membrana plasmática



Renovación de la membrana plasmática





Universidad de Valladolid

Membrana plasmática

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

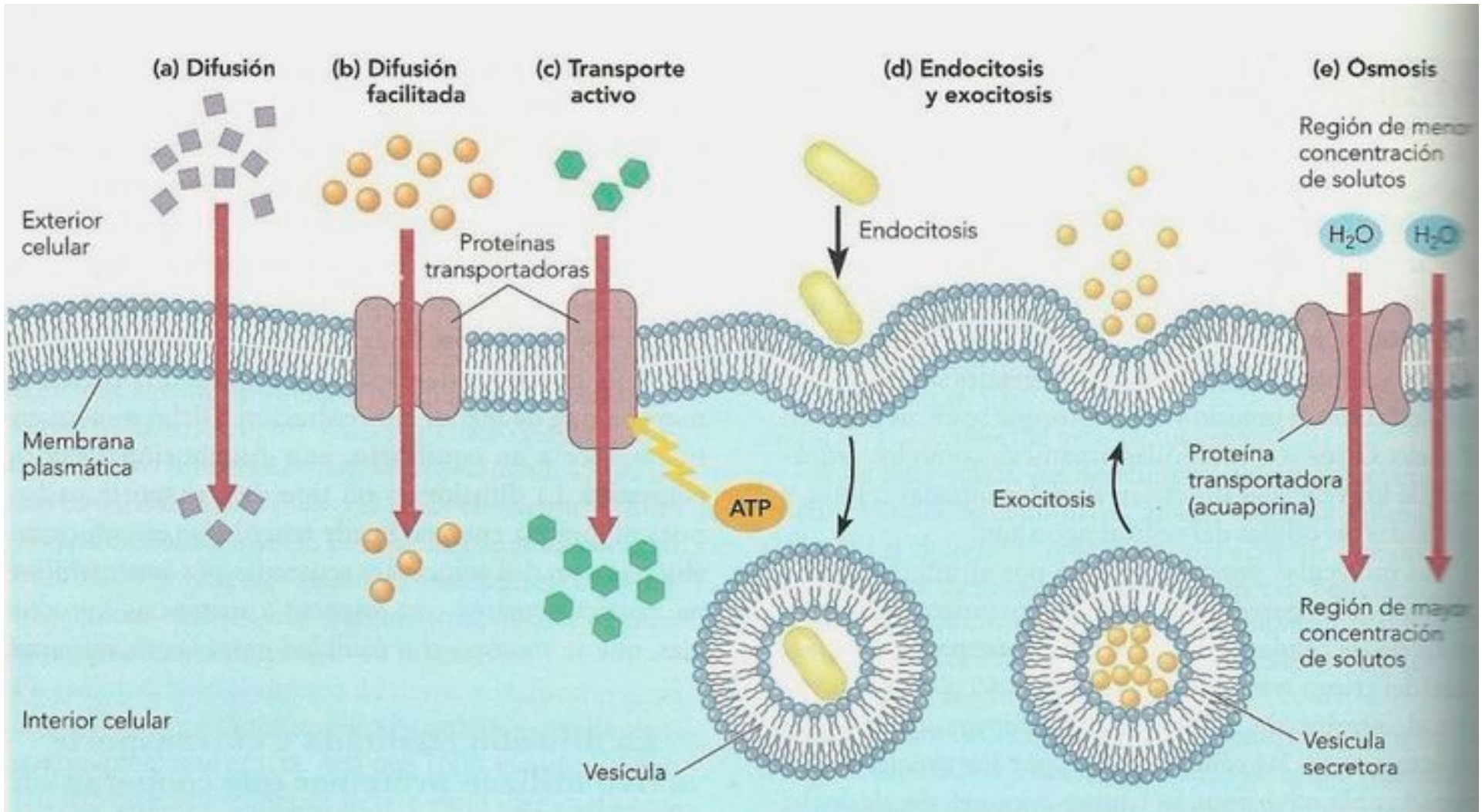
Transporte de sustancias a través de la membrana

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es

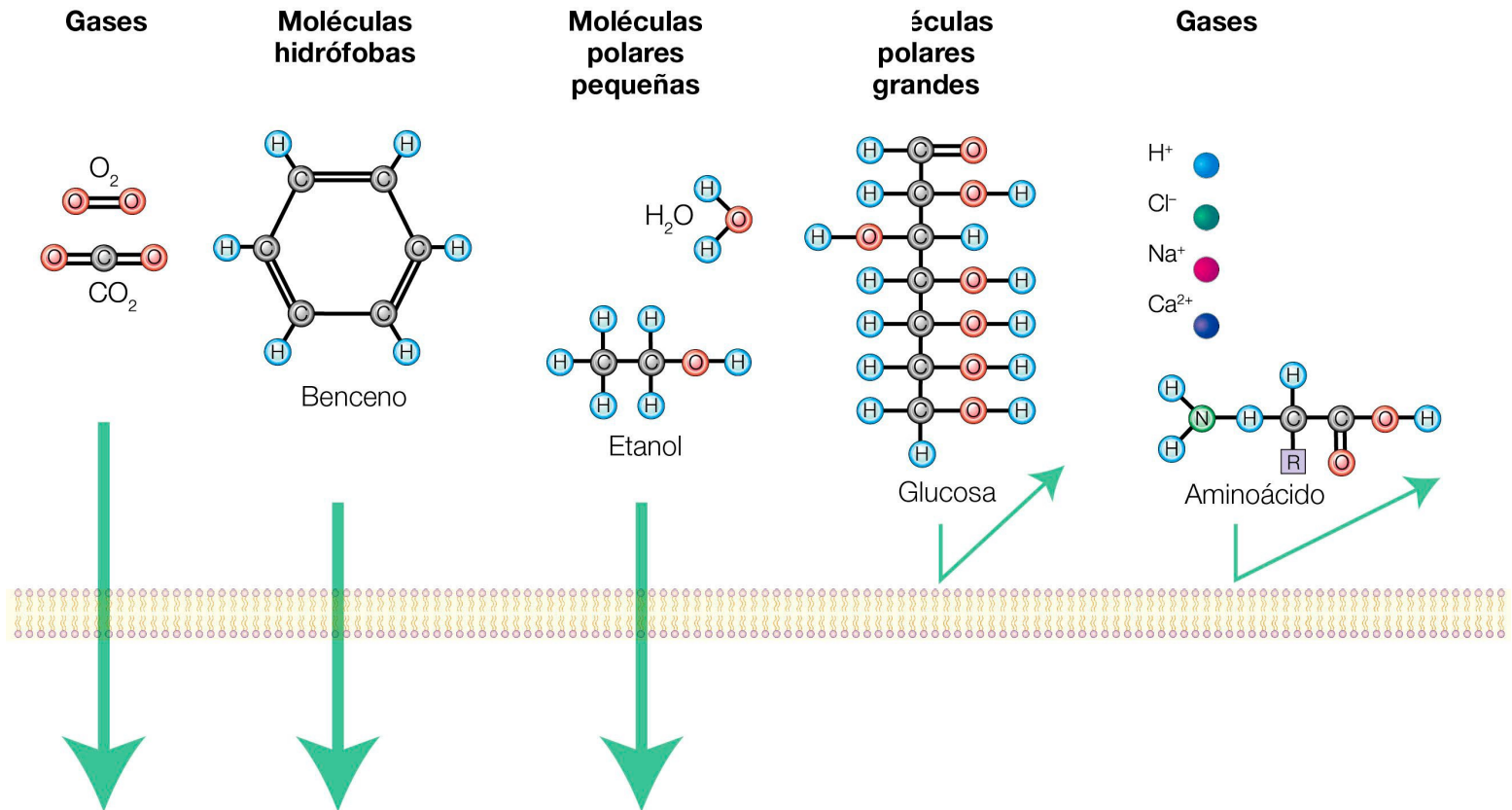
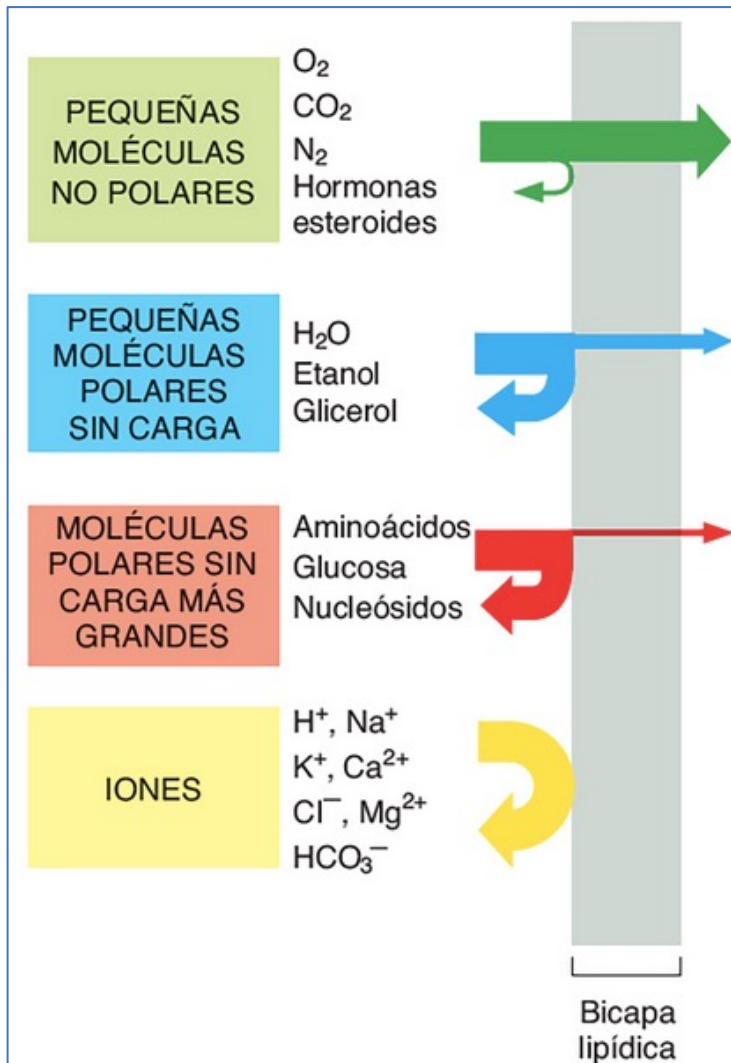
Macrotransporte vs. microtransporte



PERMEABILIDAD SELECTIVA

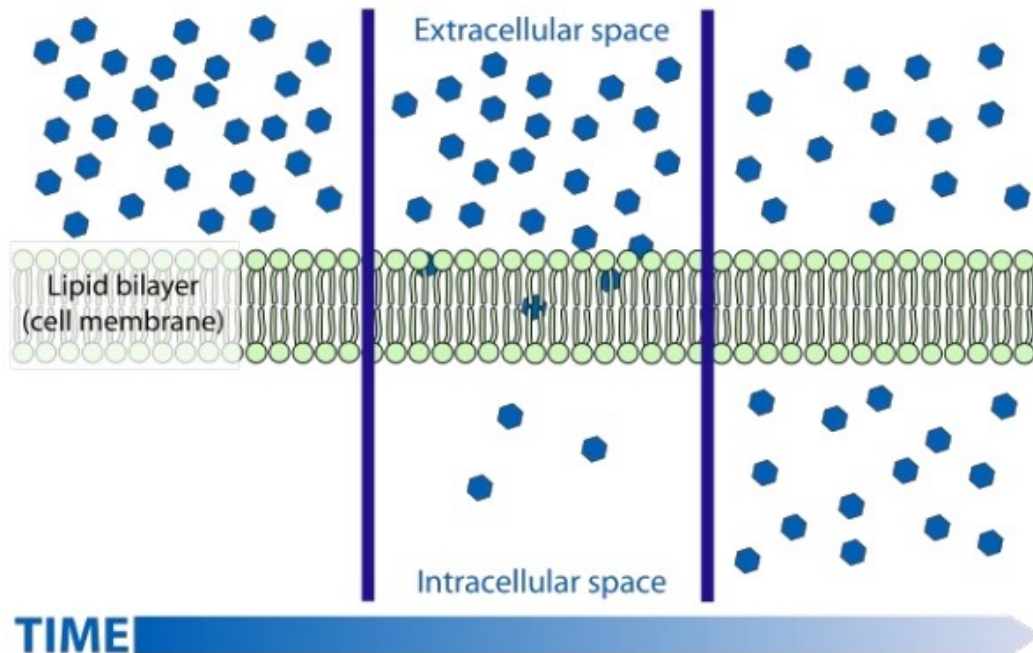
Microtransporte

La posibilidad de paso de las moléculas va a depender del tamaño y de la liposolubilidad.



Microtransporte: difusión simple

- A favor de gradiente
- No consume energía
- Moléculas hidrofóbicas y polares pequeñas sin carga
- Transporte bidireccional
- Método equilibrado



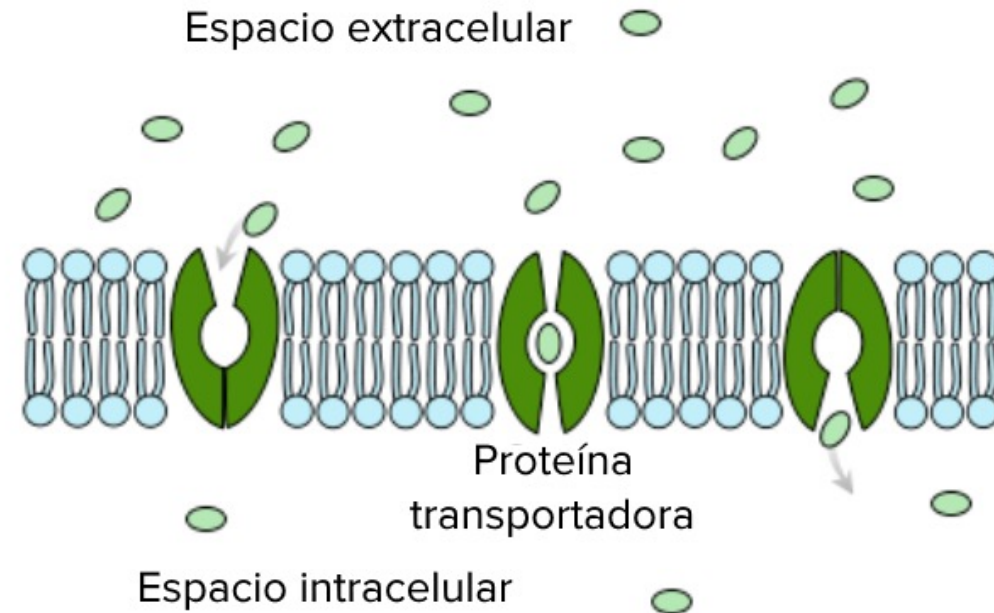
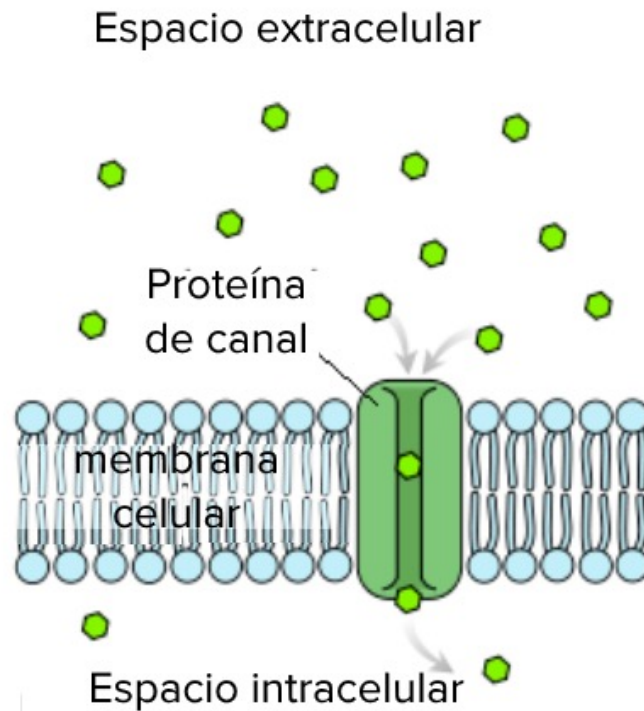
VELOCIDAD DEL TRANSPORTE: Ley de Fick

- Forma de la molécula: coeficiente de difusión (**D**)
- Hidrofobicidad de la molécula: coeficiente de partición (**K**)
- Grosor de la membrana (**ΔX**)
- Gradiente de concentración (**$C_2 - C_1$**)
- Carga

Microtransporte: difusión facilitada

Carga, tamaño, estructura, concentración...

Proteínas específicas: proteínas transportadoras o canales

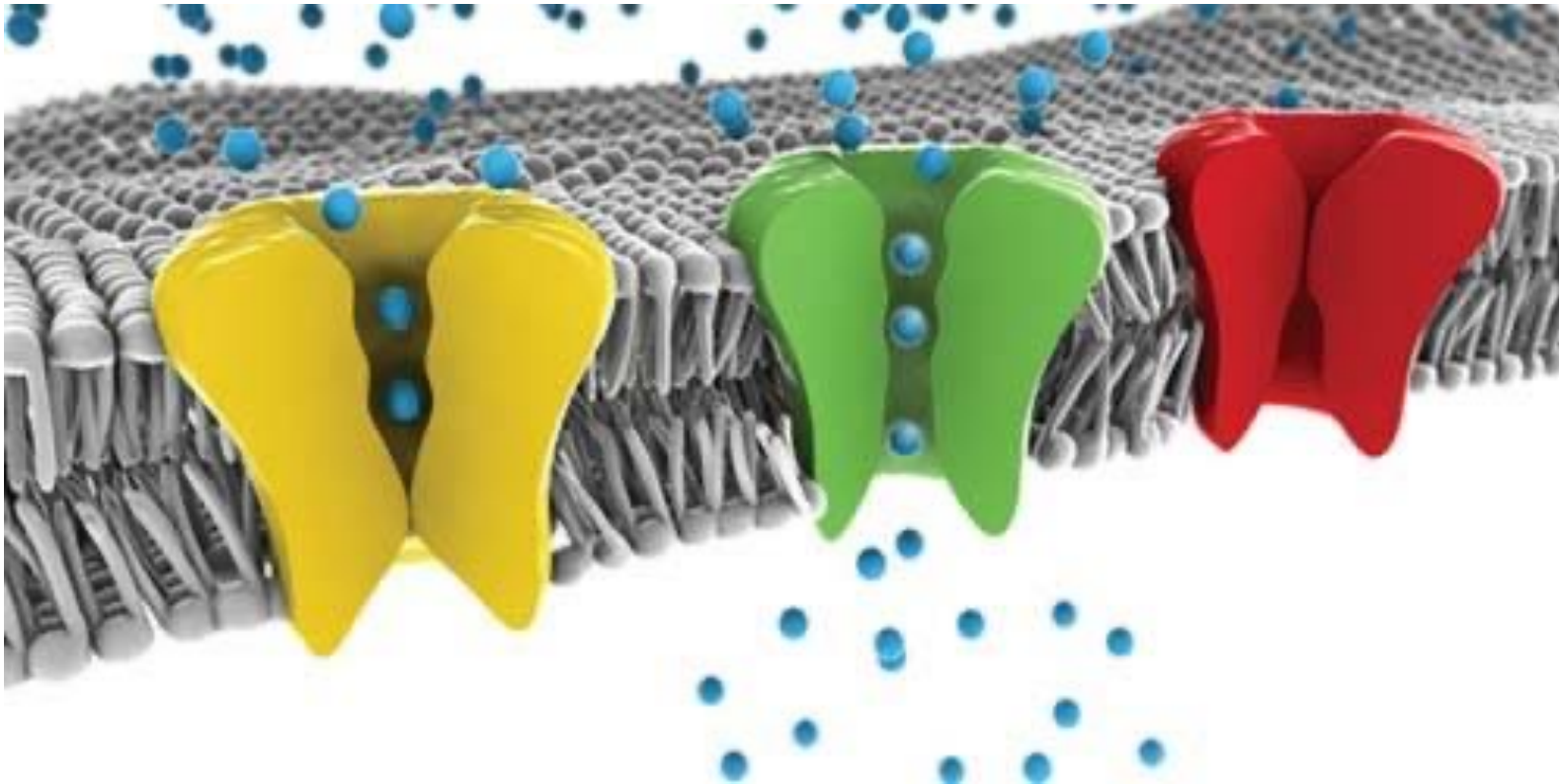


Cambio conformacional

Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana

LOS CANALES DE MEMBRANA permiten el paso de moléculas de pequeño tamaño y carga adecuada

Su apertura suele estar regulada: no se atraviesan de forma indiscriminada



1. **CANALES IÓNICOS**

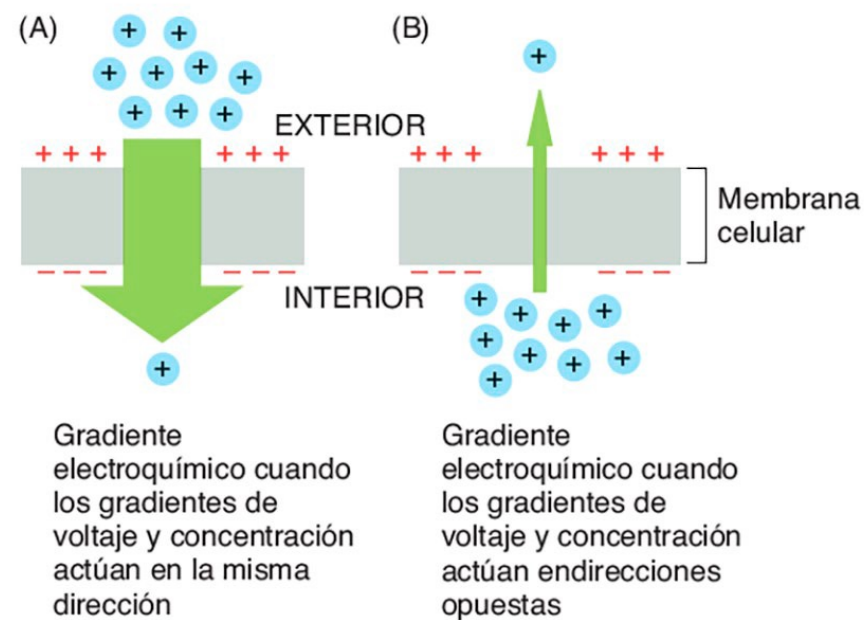
2. **ACUOPORINAS**

3. **PORINAS**

Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana

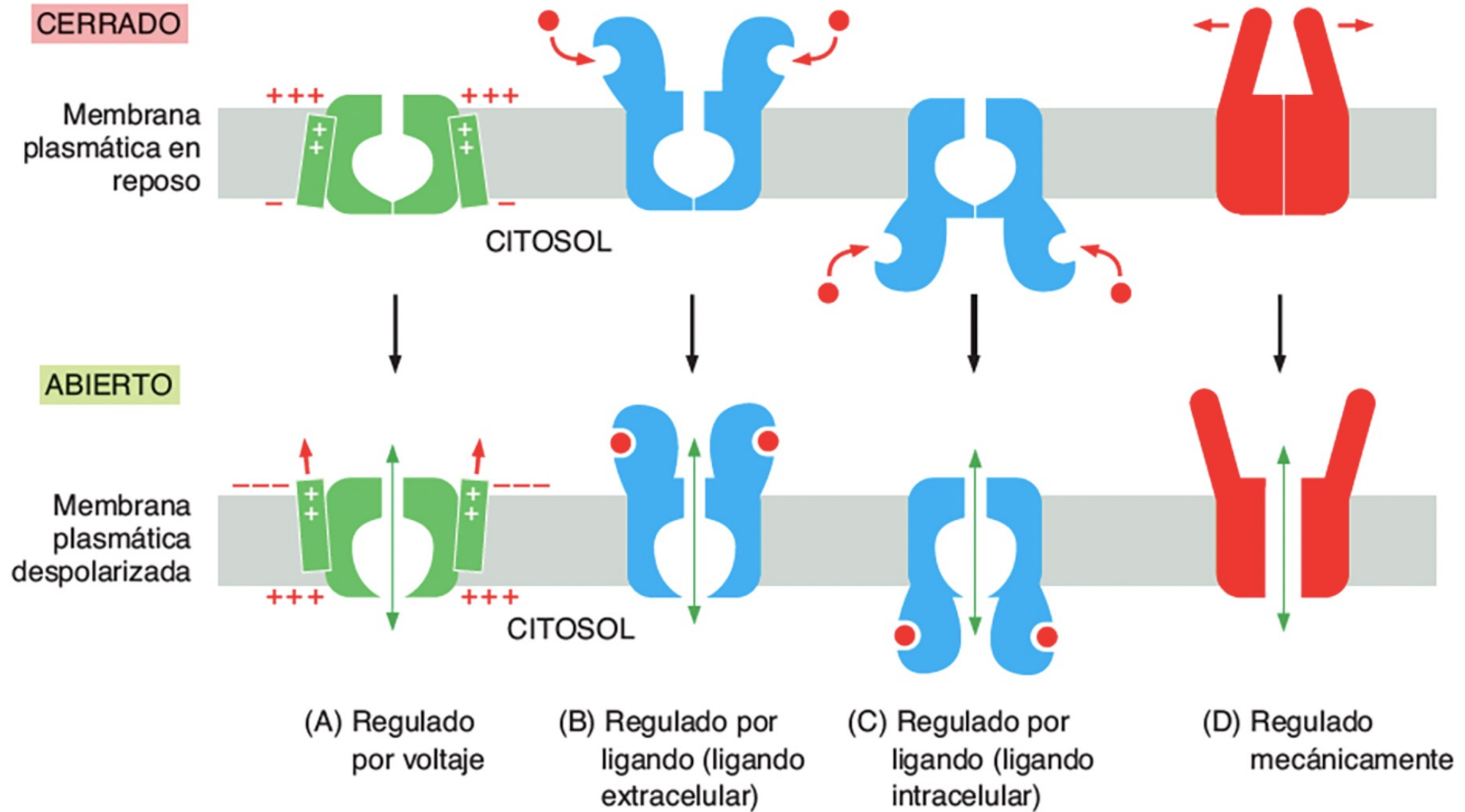
Los **CANALES IÓNICOS** llevan a cabo un transporte rápido de determinados iones

Las diferencias de concentración de iones inorgánicos a través de una membrana celular **generan un potencial de membrana**



CUADRO 12-1 COMPARACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE IONES EN EL INTERIOR Y EL EXTERIOR DE UNA CÉLULA DE MAMÍFERO TÍPICA		
Ion	Concentración intracelular (mM)	Concentración extracelular (mM)
Cationes		
Na ⁺	5-15	145
K ⁺	140	5
Mg ²⁺	0,5*	1-2
Ca ²⁺	10 ⁻⁴ *	1-2
H ⁺	7 × 10 ⁻⁵ (10 ^{-7,2} M o pH 7,2)	4 × 10 ⁻⁵ (10 ^{-7,4} M o pH 7,4)
Aniones**		
Cl ⁻	5-15	110

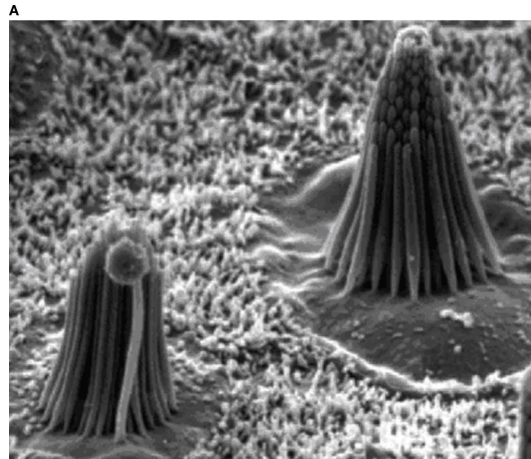
Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana



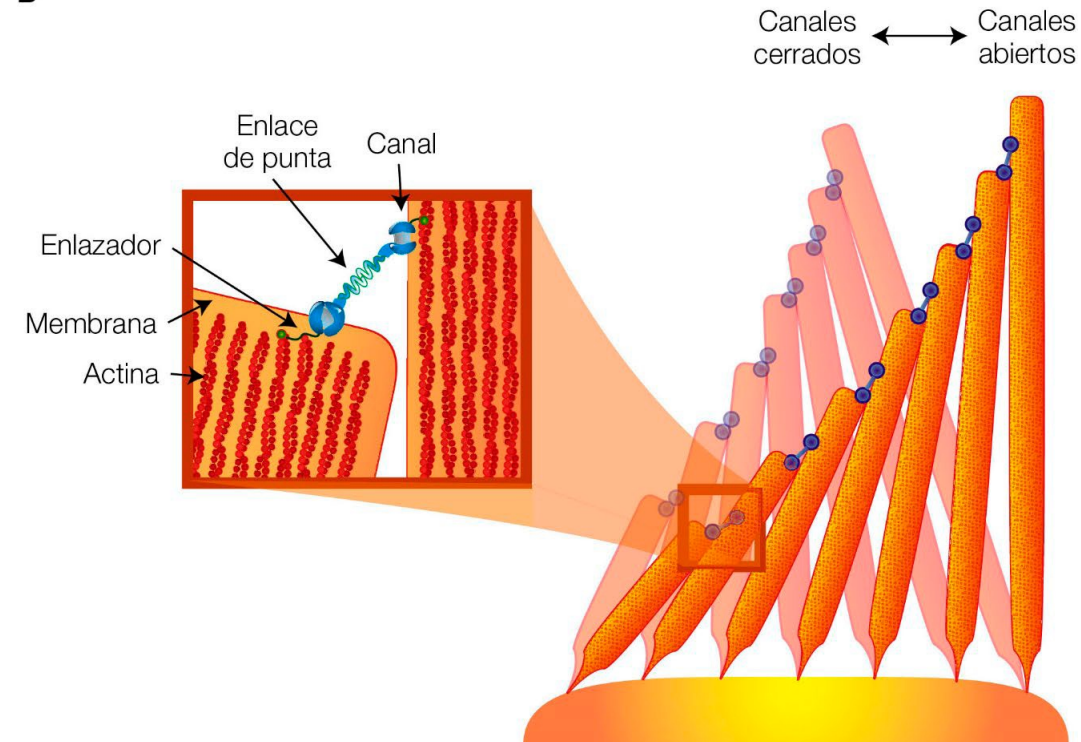
Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana

Los **CANALES IÓNICOS** llevan a cabo un transporte rápido de determinados iones

- **Canales MECANOSENSIBLES**
- Canales QUIMIOSENSIBLES
- Canales DEPENDIENTES DE VOLTAJE
- Canales de las UNIONES DE TIPO GAP



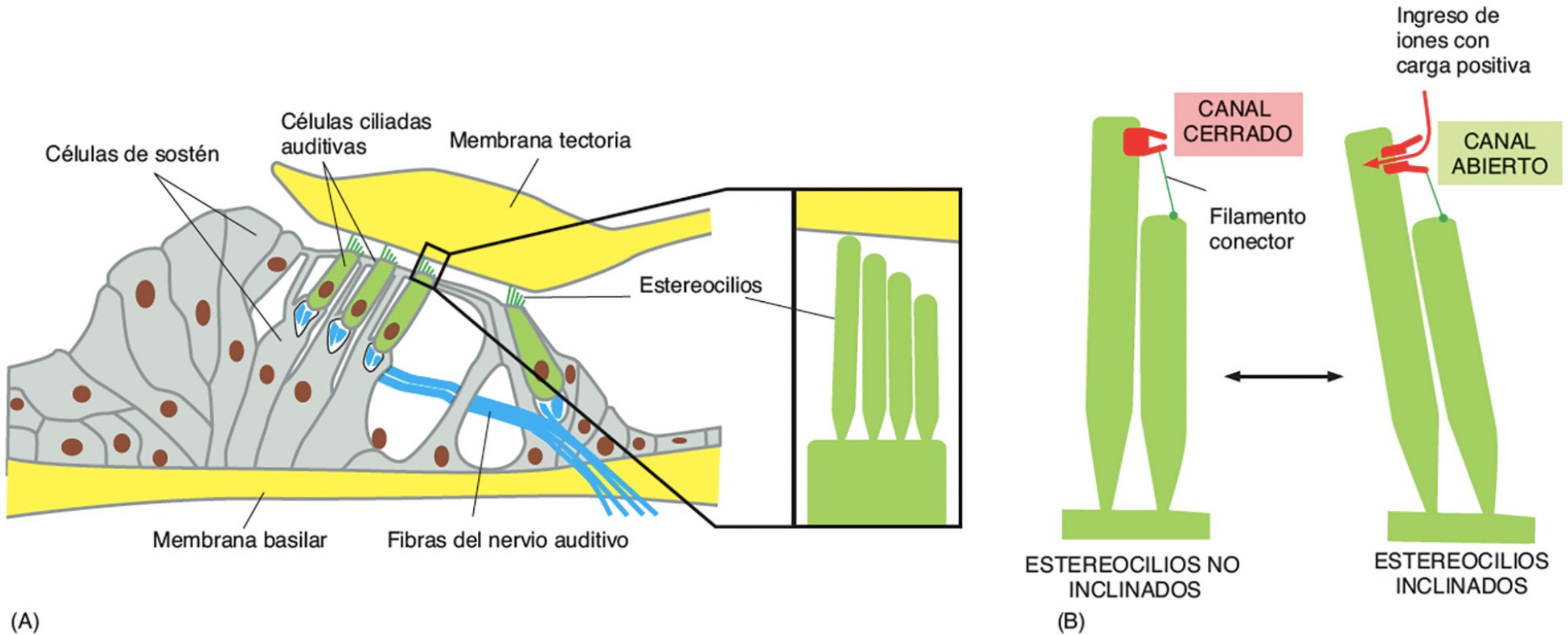
B



Células ciliadas del oído

Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana

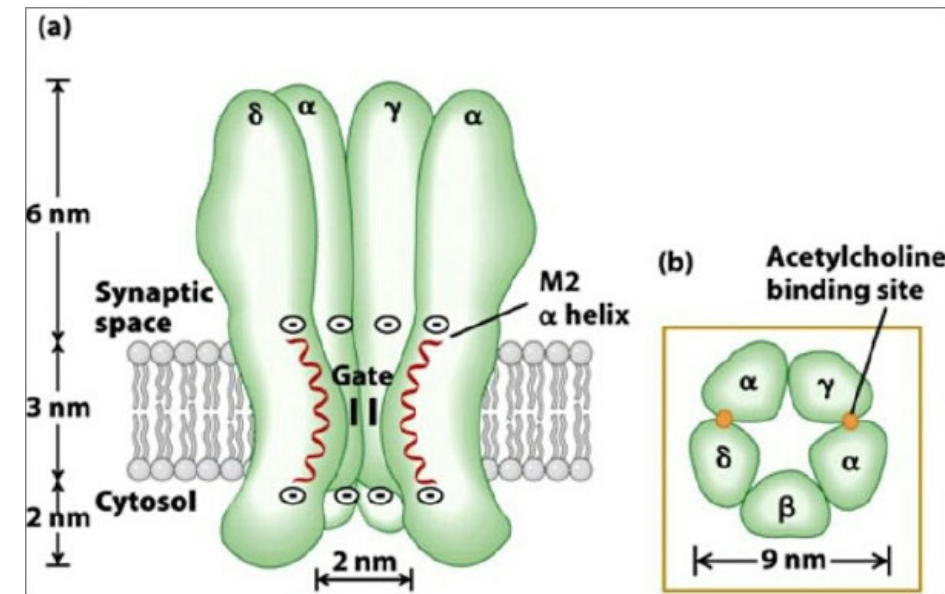
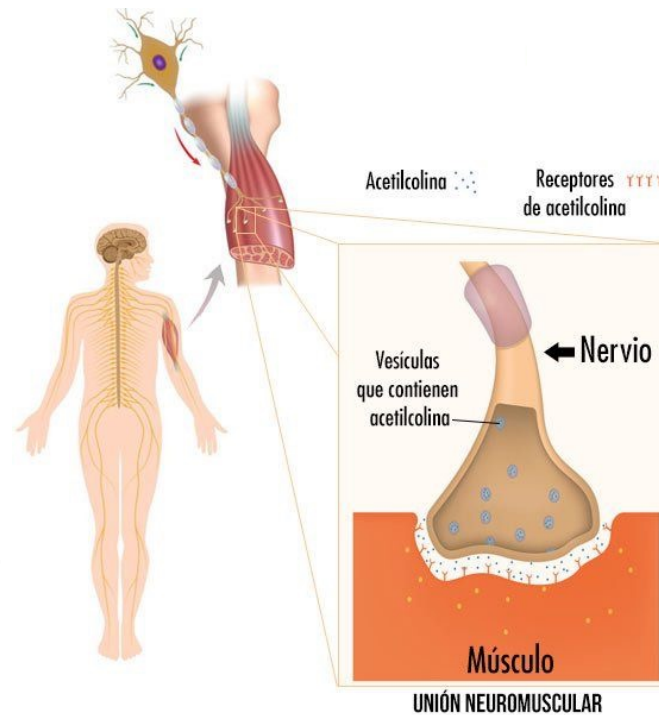
Los **CANALES IÓNICOS** llevan a cabo un transporte rápido de determinados iones



Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana

Los **CANALES IÓNICOS** llevan a cabo un transporte rápido de determinados iones

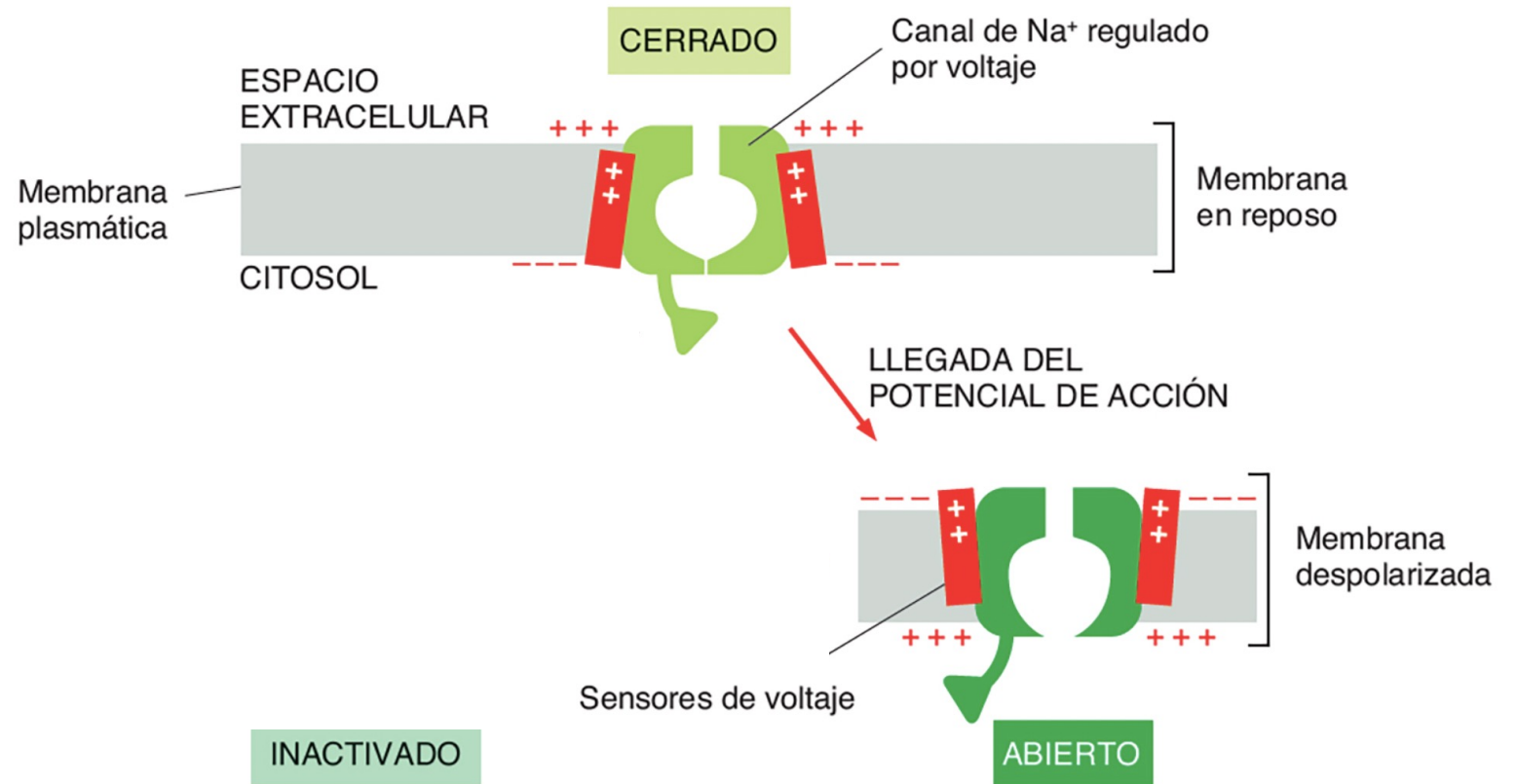
- Canales MECANOSENSIBLES
- **Canales QUIMIOSENSIBLES**
- Canales DEPENDIENTES DE VOLTAJE
- Canales de las UNIONES DE TIPO GAP



Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana

Los **CANALES IÓNICOS** llevan a cabo un transporte rápido de determinados iones

- Canales MECANOSENSIBLES
- Canales QUIMIOSENSIBLES
- **Canales DEPENDIENTES DE VOLTAJE**
- Canales de las UNIONES DE TIPO GAP

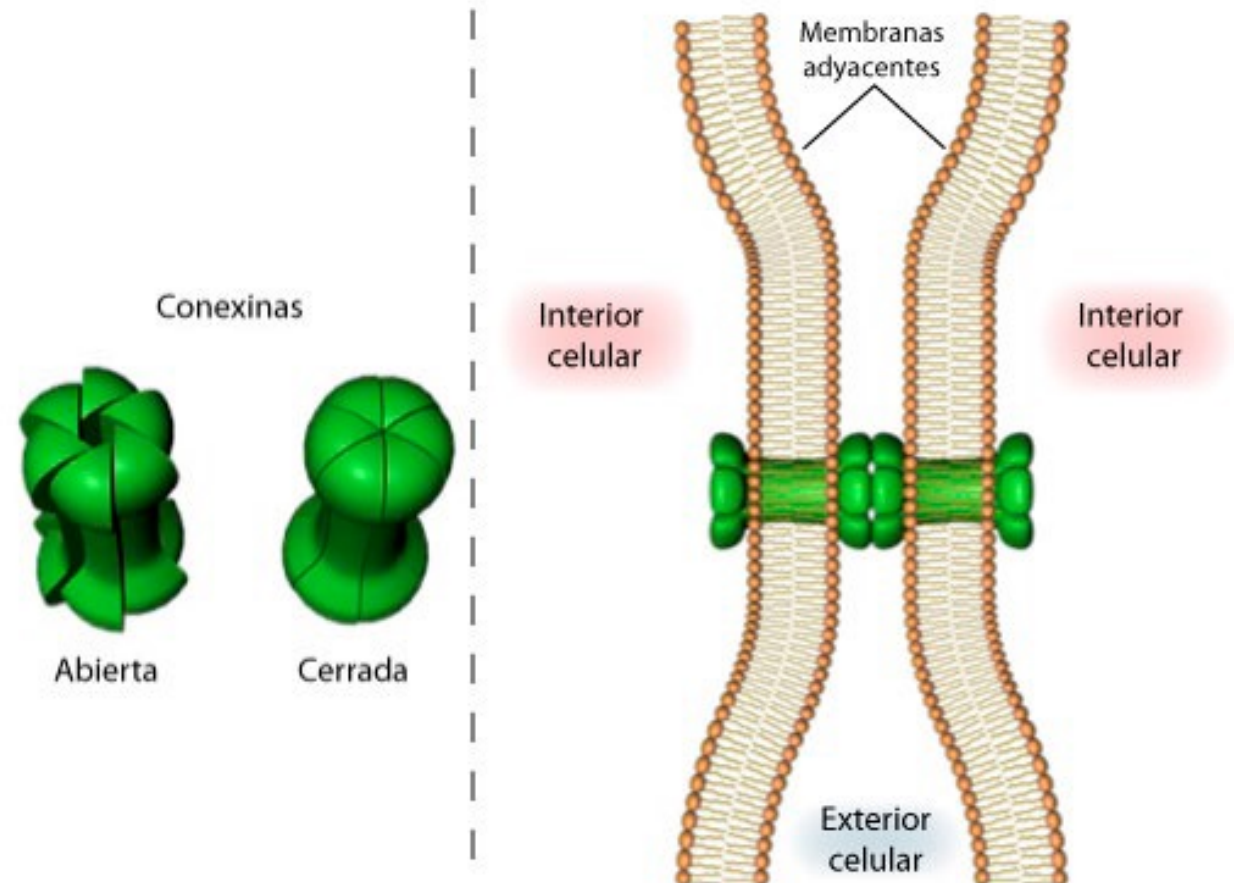


Cruciales en la generación del potencial de membrana

Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana

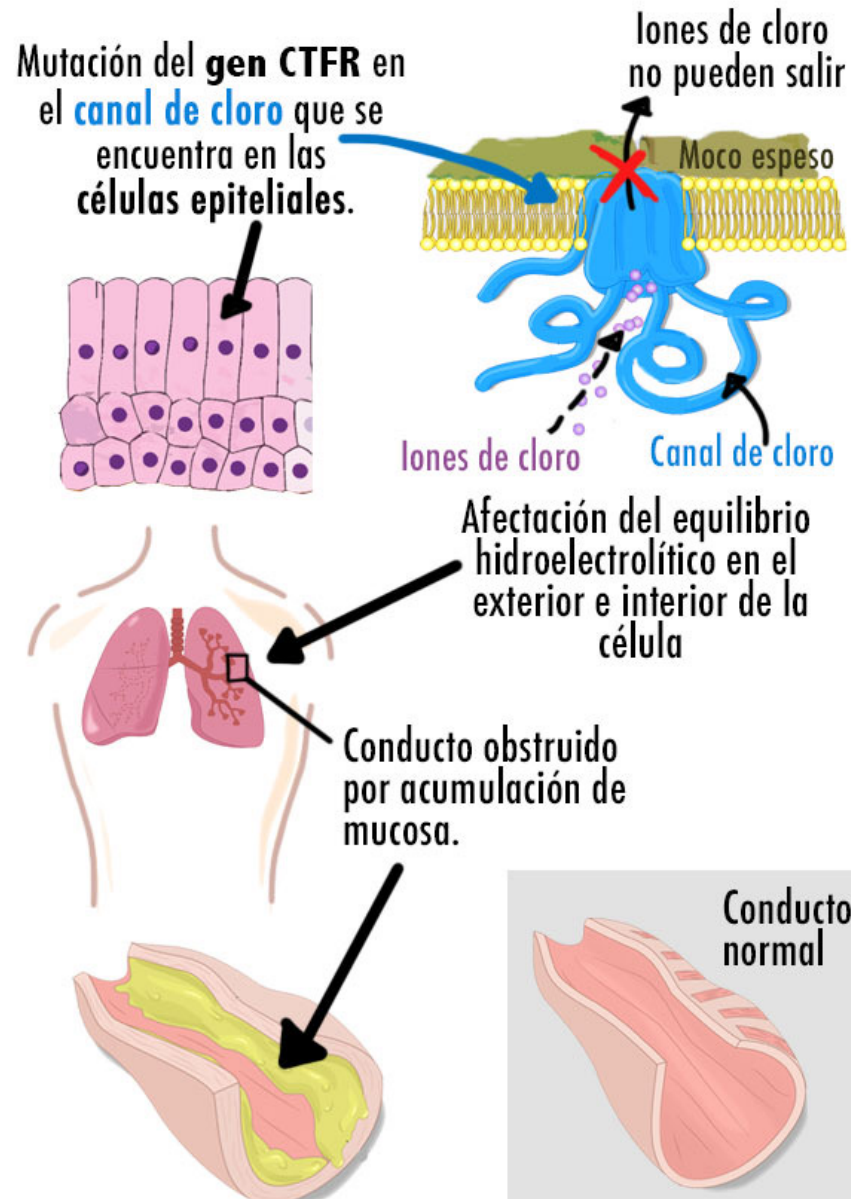
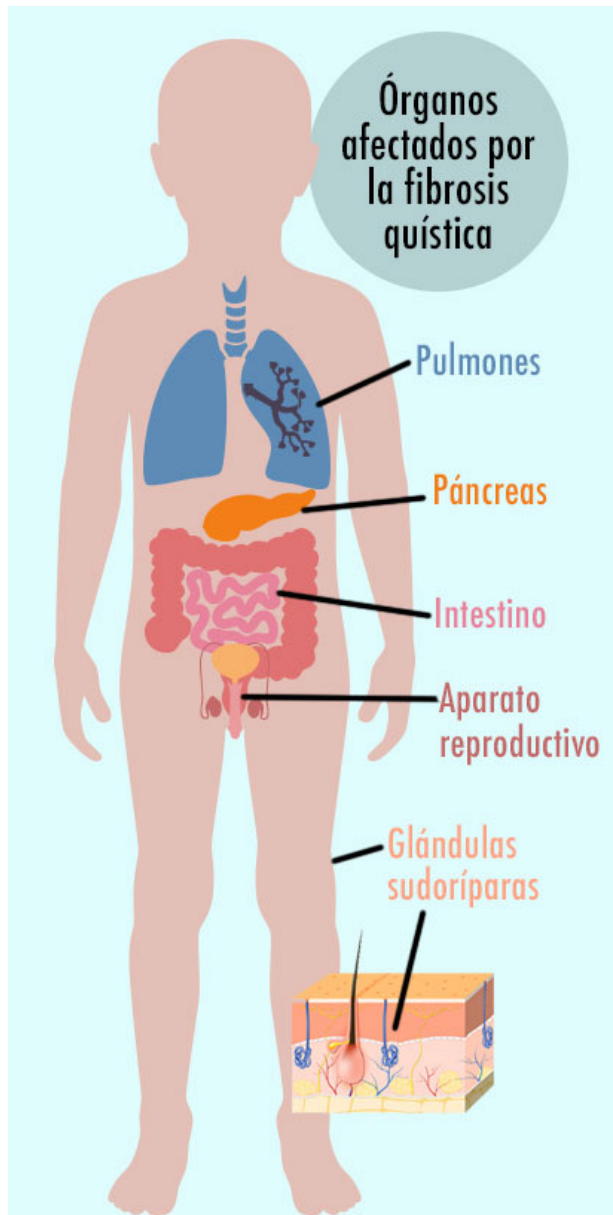
Los **CANALES IÓNICOS** llevan a cabo un transporte rápido de determinados iones

- Canales MECANOSENSIBLES
- Canales QUIMIOSENSIBLES
- Canales DEPENDIENTES DE VOLTAJE
- Canales de las **UNIONES DE TIPO GAP**

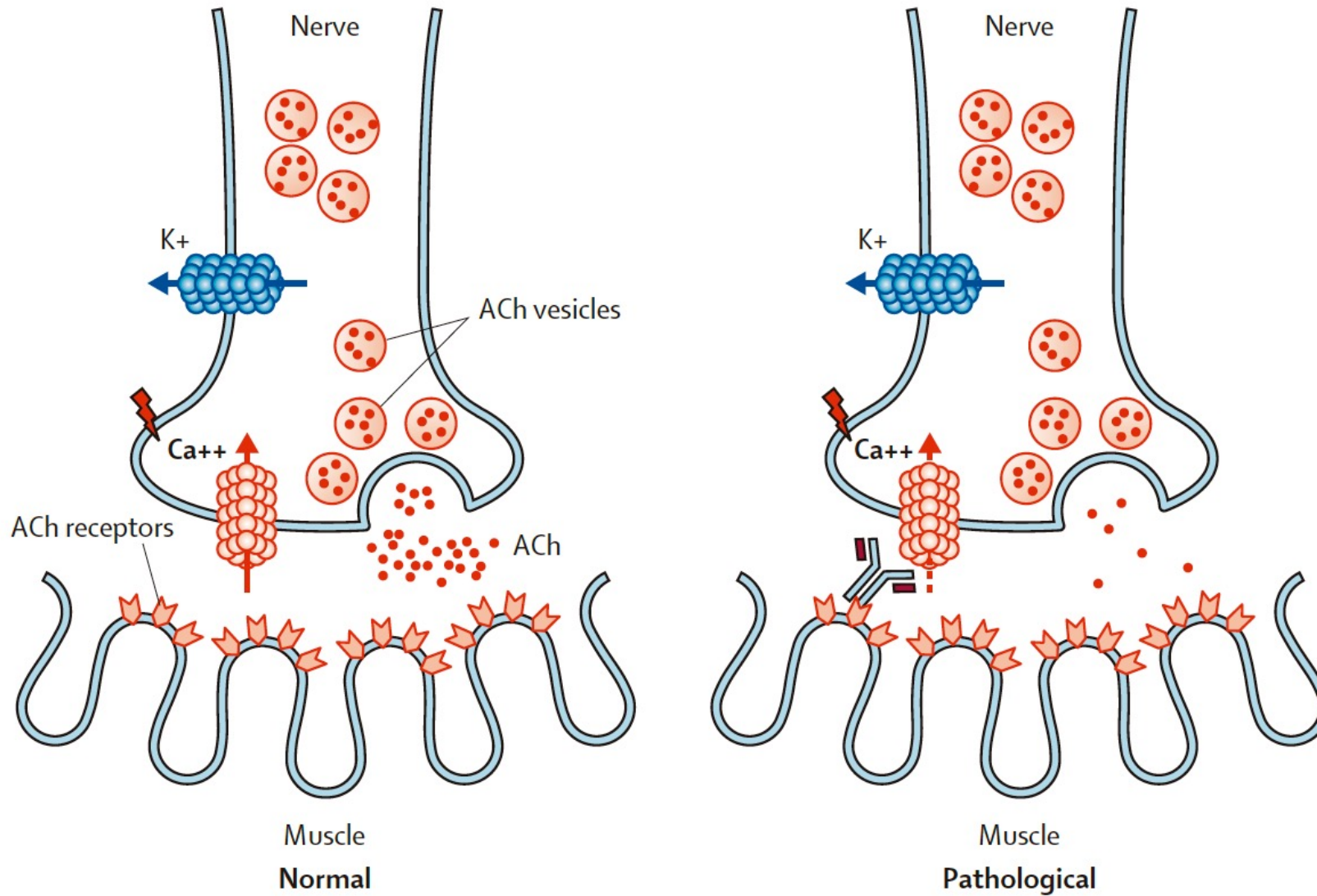


Importantes en la sinapsis eléctrica

Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana



Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana

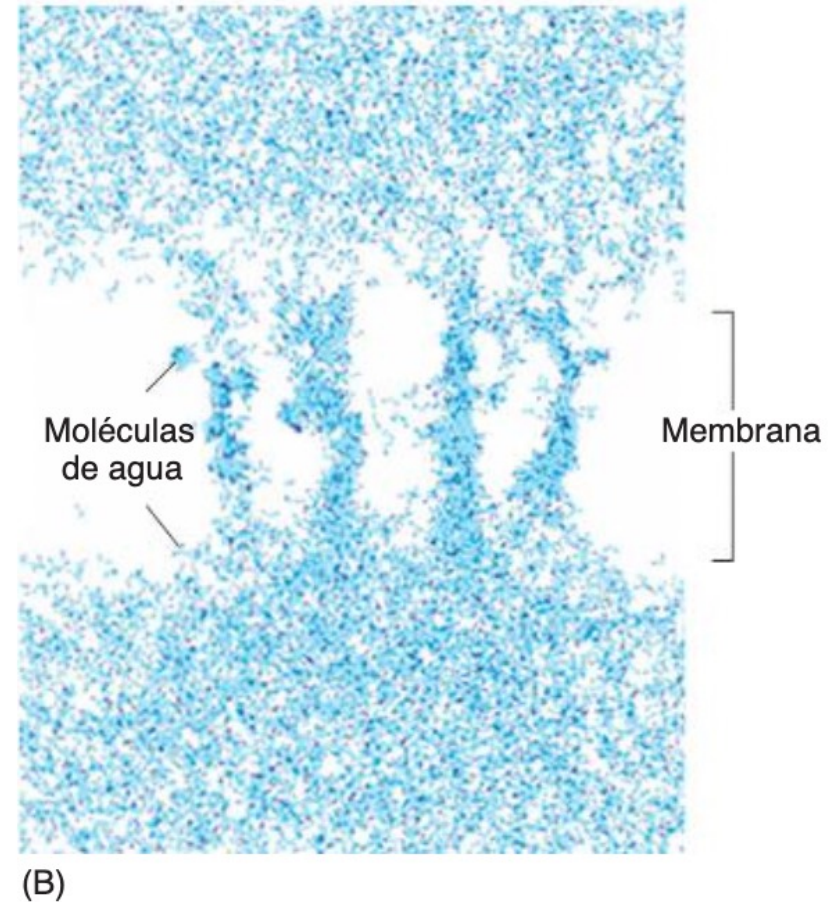
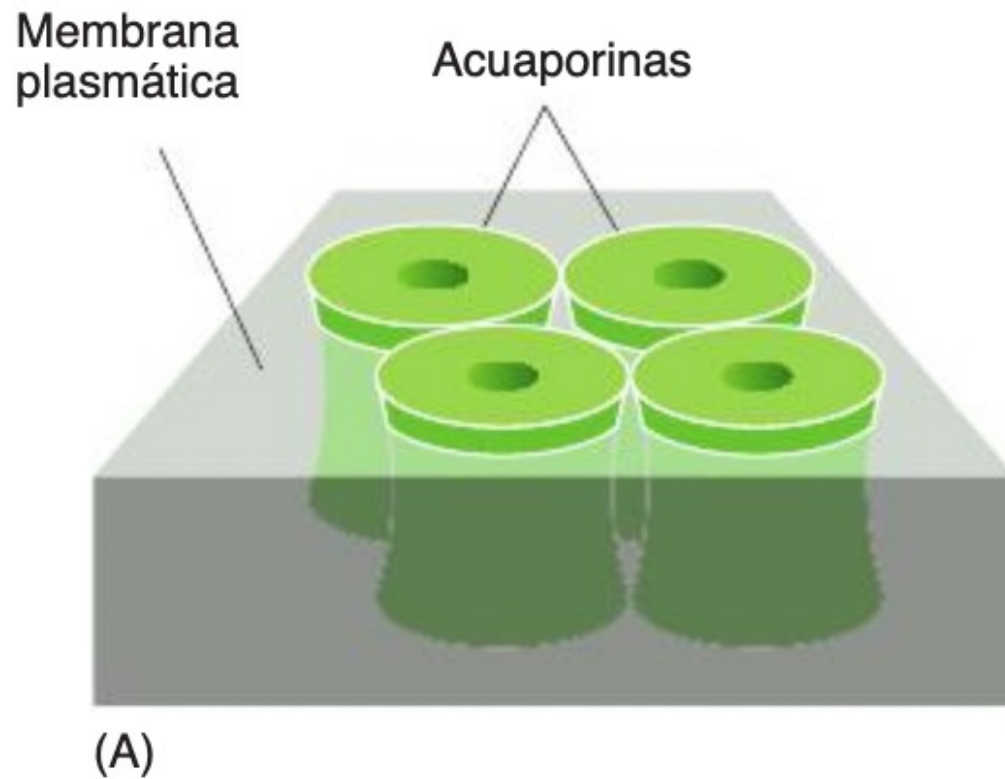


Síndrome miasténico de Lambert-Eaton

Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana

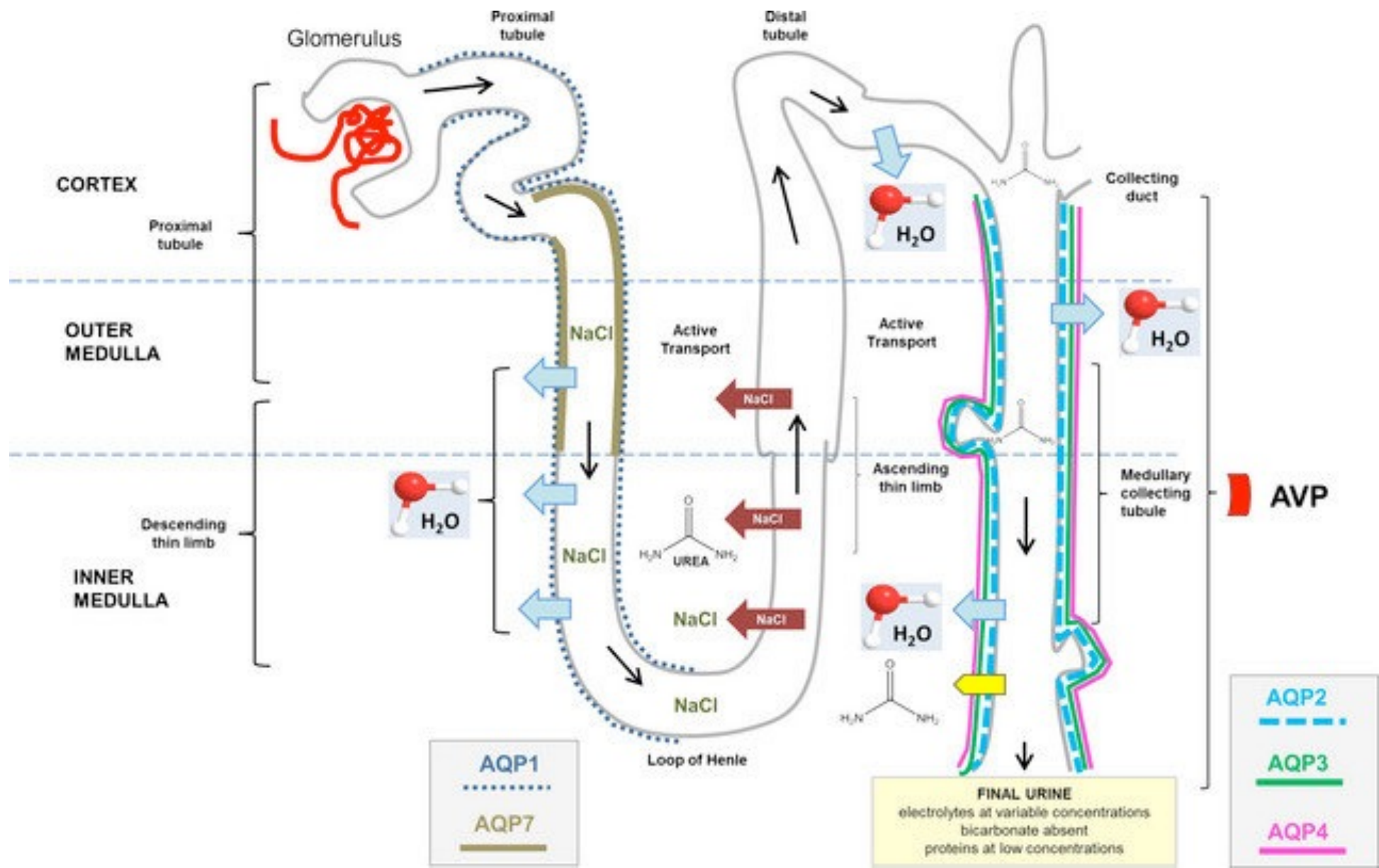
1. CANALES IÓNICOS
2. ACUOPORINAS
3. PORINAS

Las moléculas de agua difunden con más rapidez a través de canales de **ACUOPORINA**



El movimiento del agua se rige por el gradiente osmótico

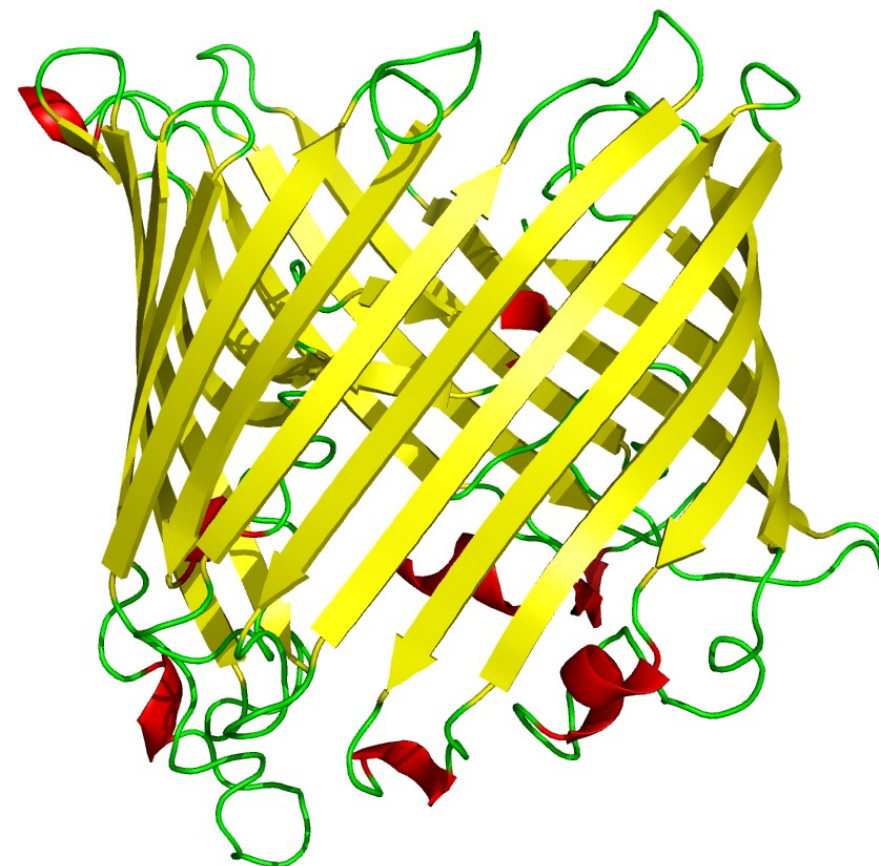
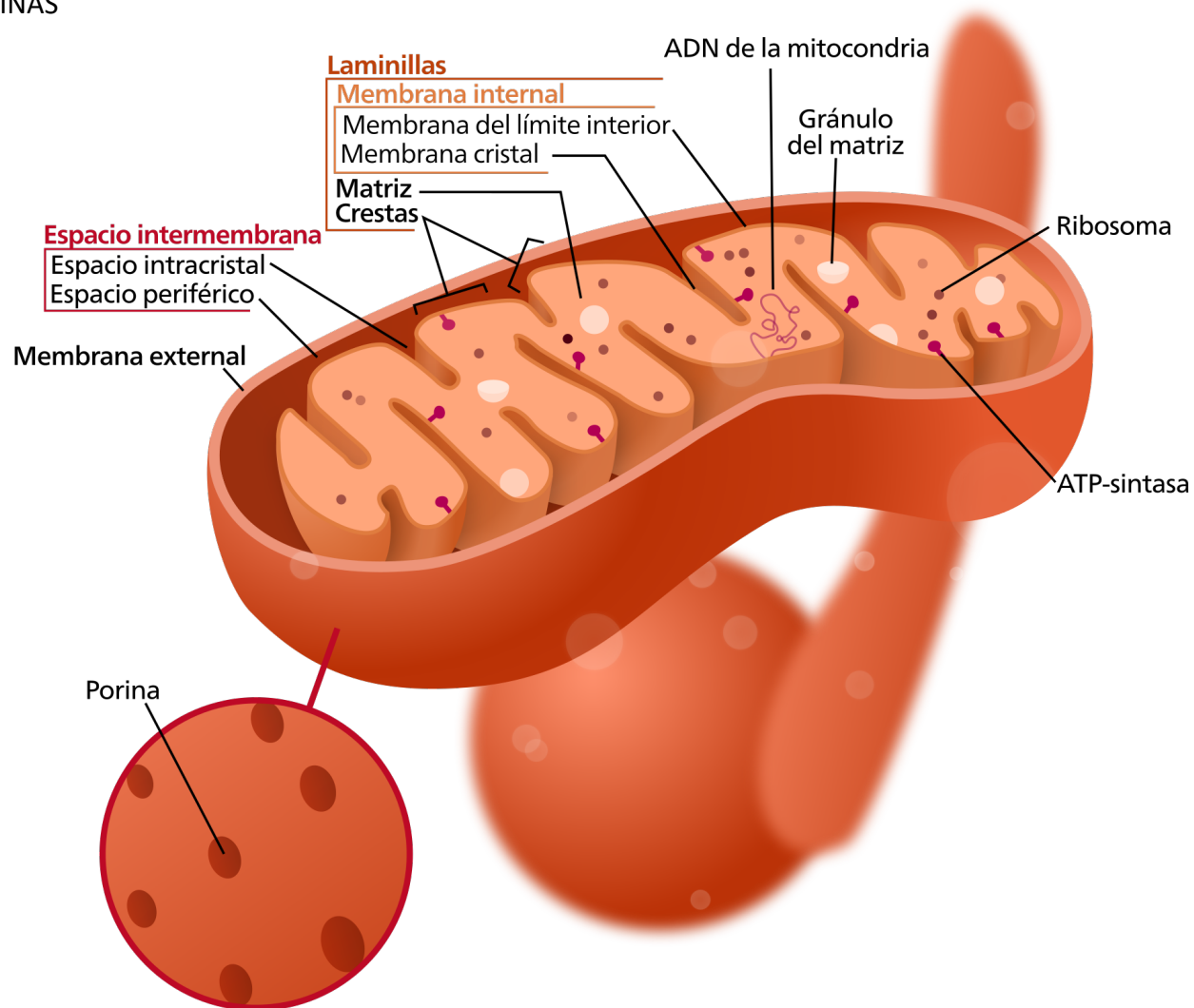
Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana



Microtransporte: difusión facilitada por canales de membrana

1. CANALES IÓNICOS
2. ACUOPORINAS
3. PORINAS

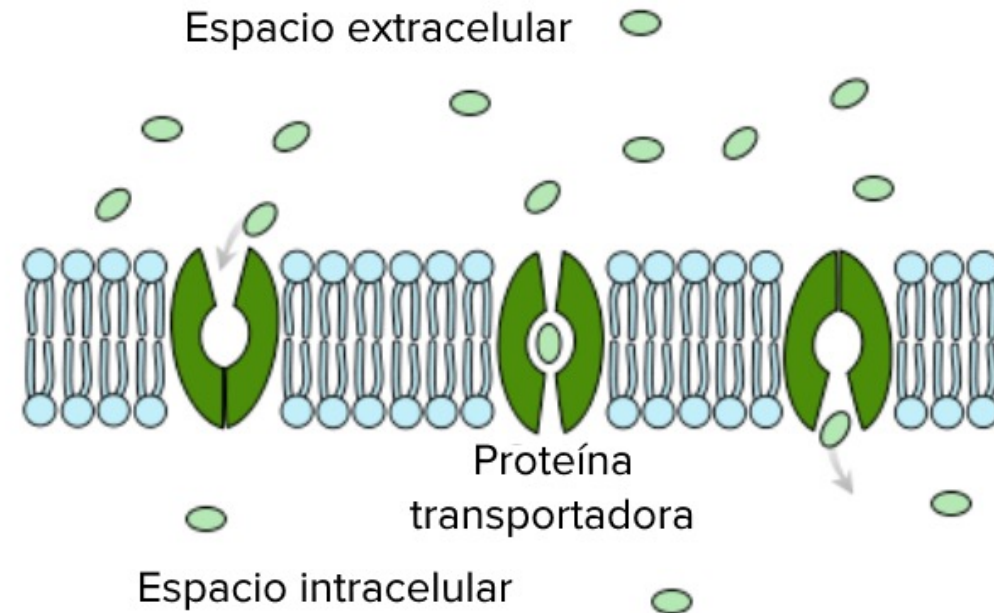
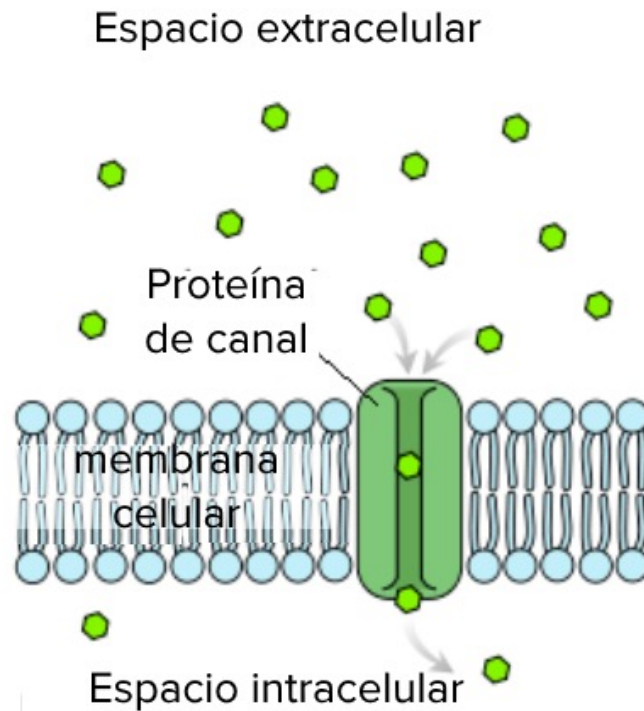
Las **PORINAS** se encuentran en la membrana externa de las mitocondrias



Microtransporte: difusión facilitada

Carga, tamaño, estructura, concentración...

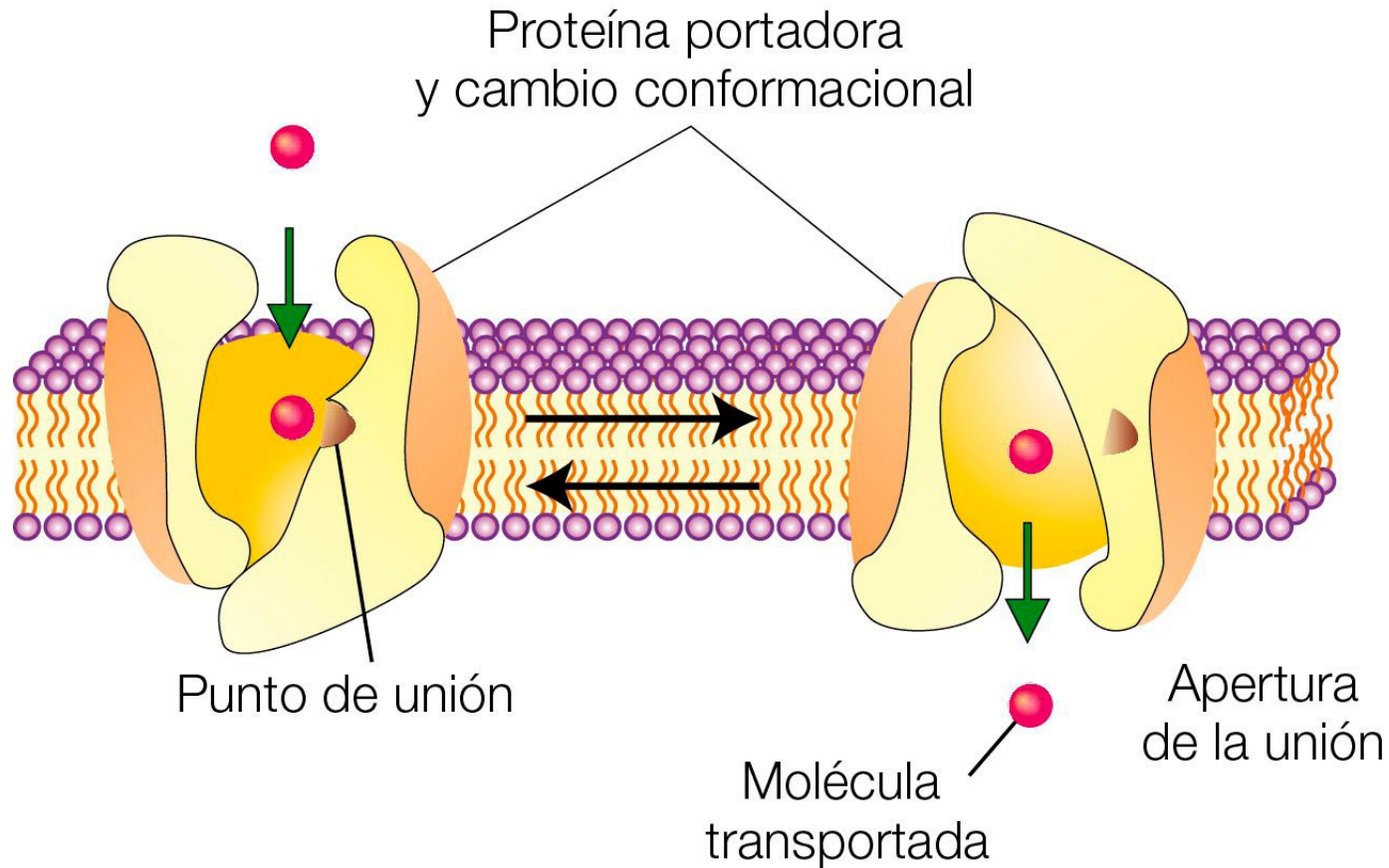
Proteínas específicas: proteínas transportadoras o canales



Cambio conformacional

Microtransporte: difusión facilitada por proteínas transportadoras

Muchas sustancias hidrófilas requieren ser transportadas por **proteínas transportadoras o PERMEASAS**

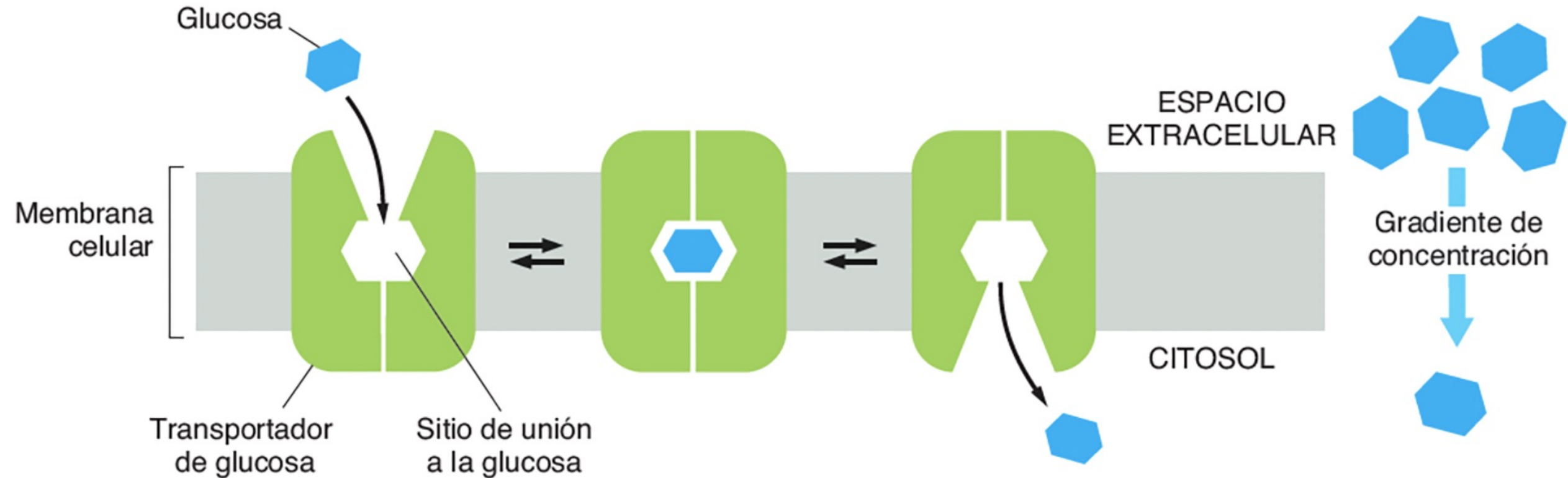


- Especificidad de sustrato: **punto de unión**
- Saturación
- Inhibición competitiva

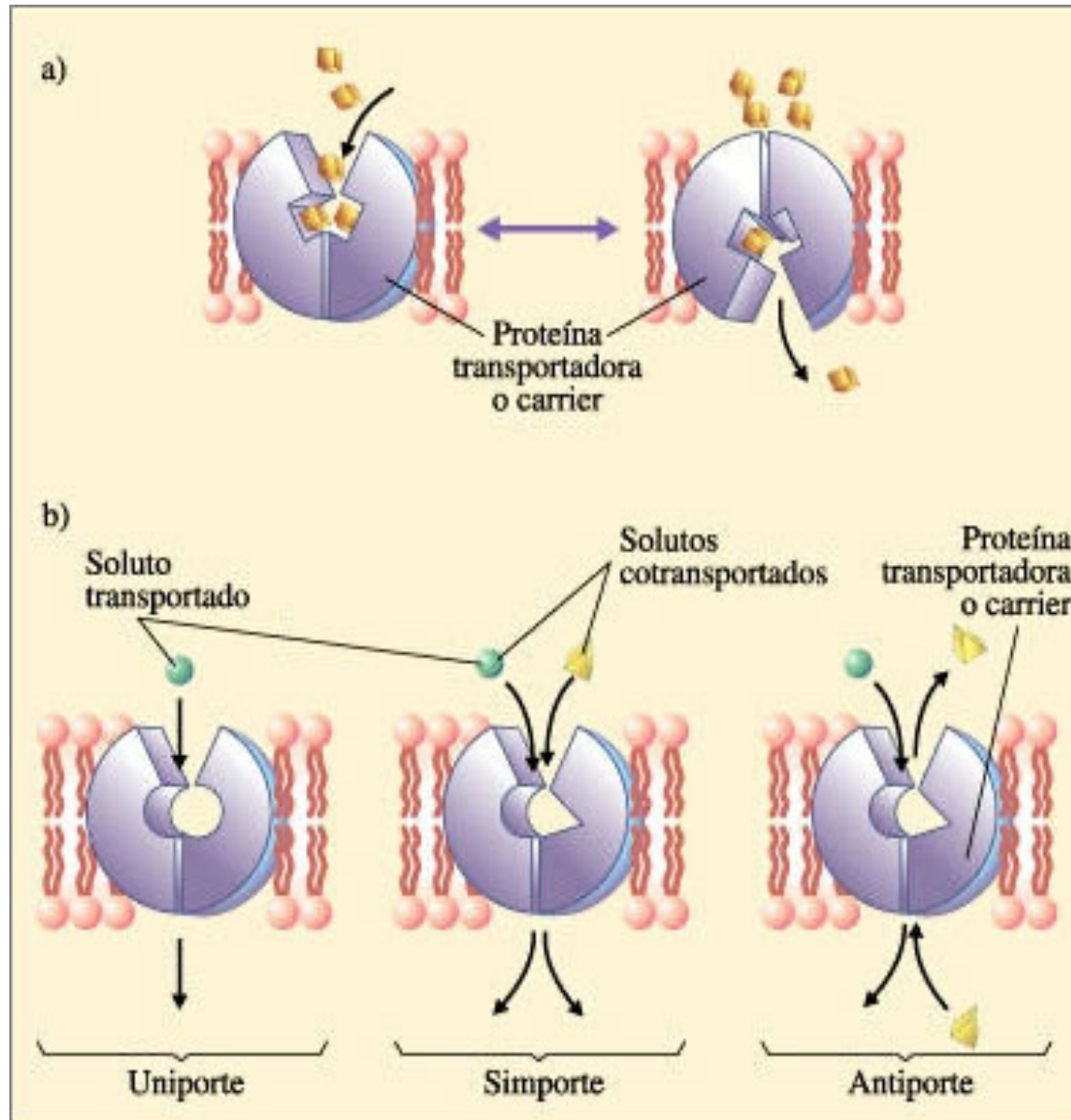
Se unen al soluto de manera específica y sufren cambios conformacionales

Microtransporte: difusión facilitada por proteínas transportadoras

Mueven un soluto a favor de su gradiente

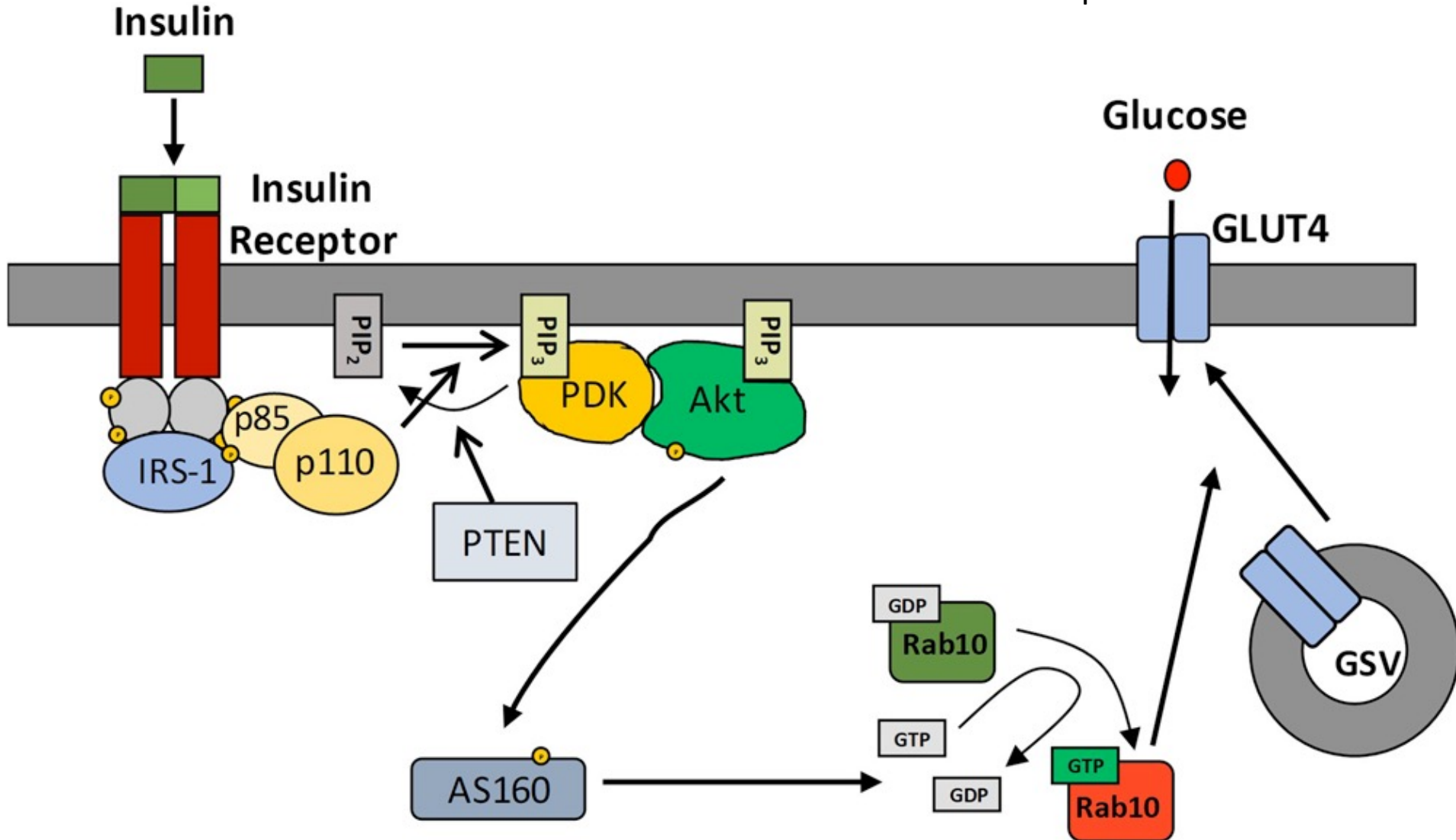


Microtransporte: difusión facilitada por proteínas transportadoras



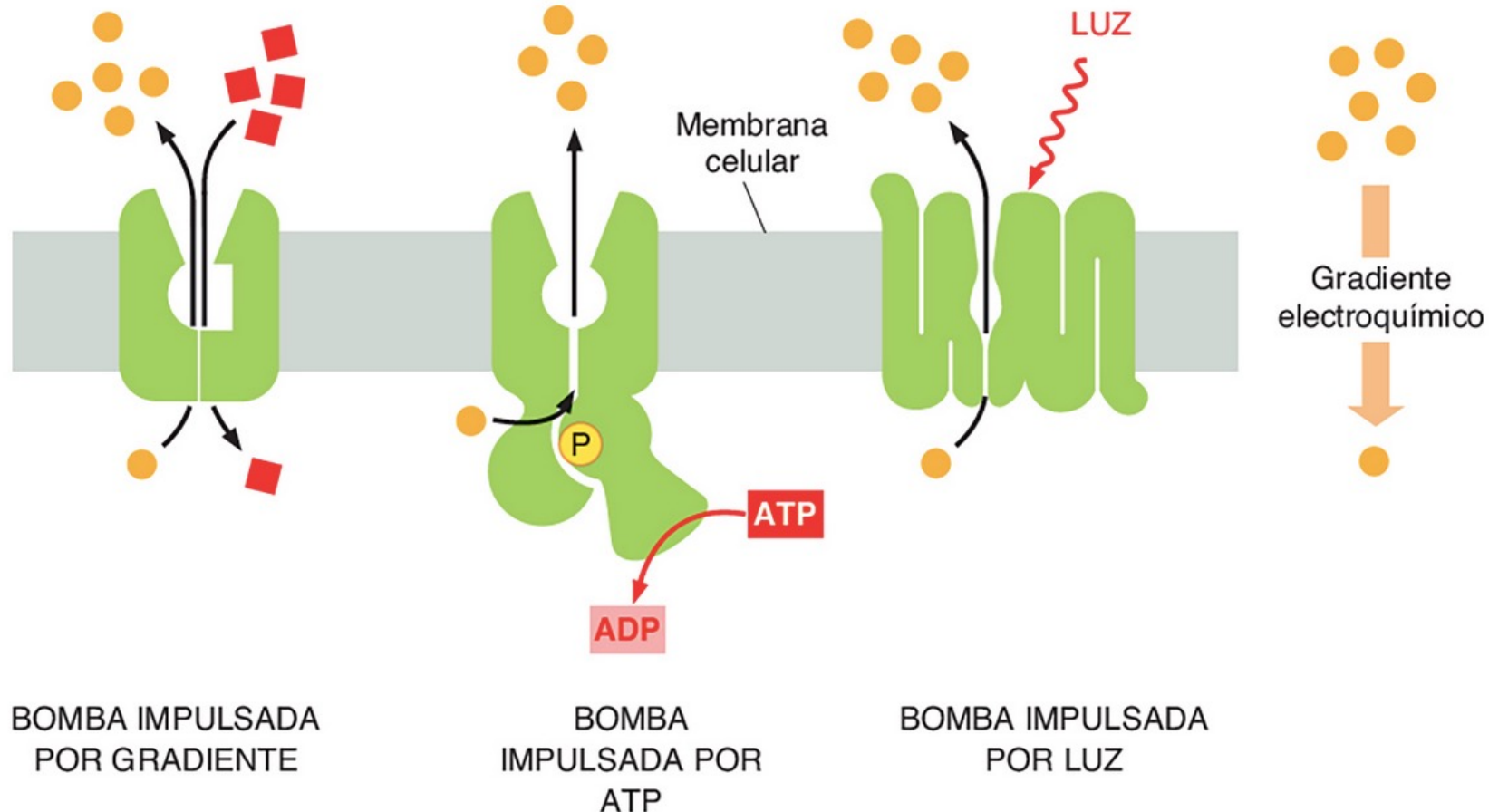
Microtransporte: difusión facilitada por proteínas transportadoras

La disfunción de GLUT4 se asocia a diabetes mellitus tipo 2



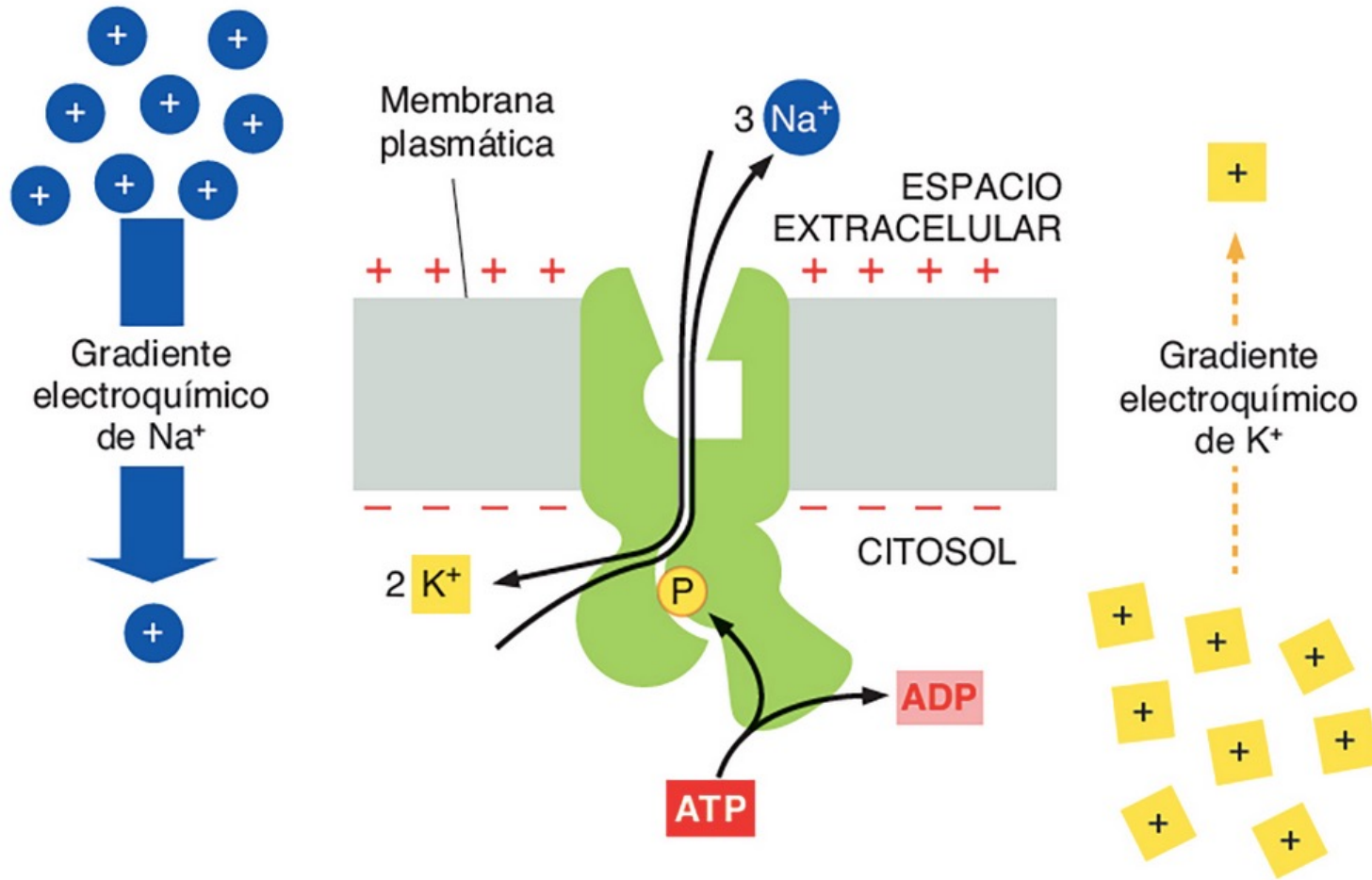
Microtransporte: transporte activo

Transporte activo de un soluto contra de su gradiente electroquímico y es un transporte unidireccional



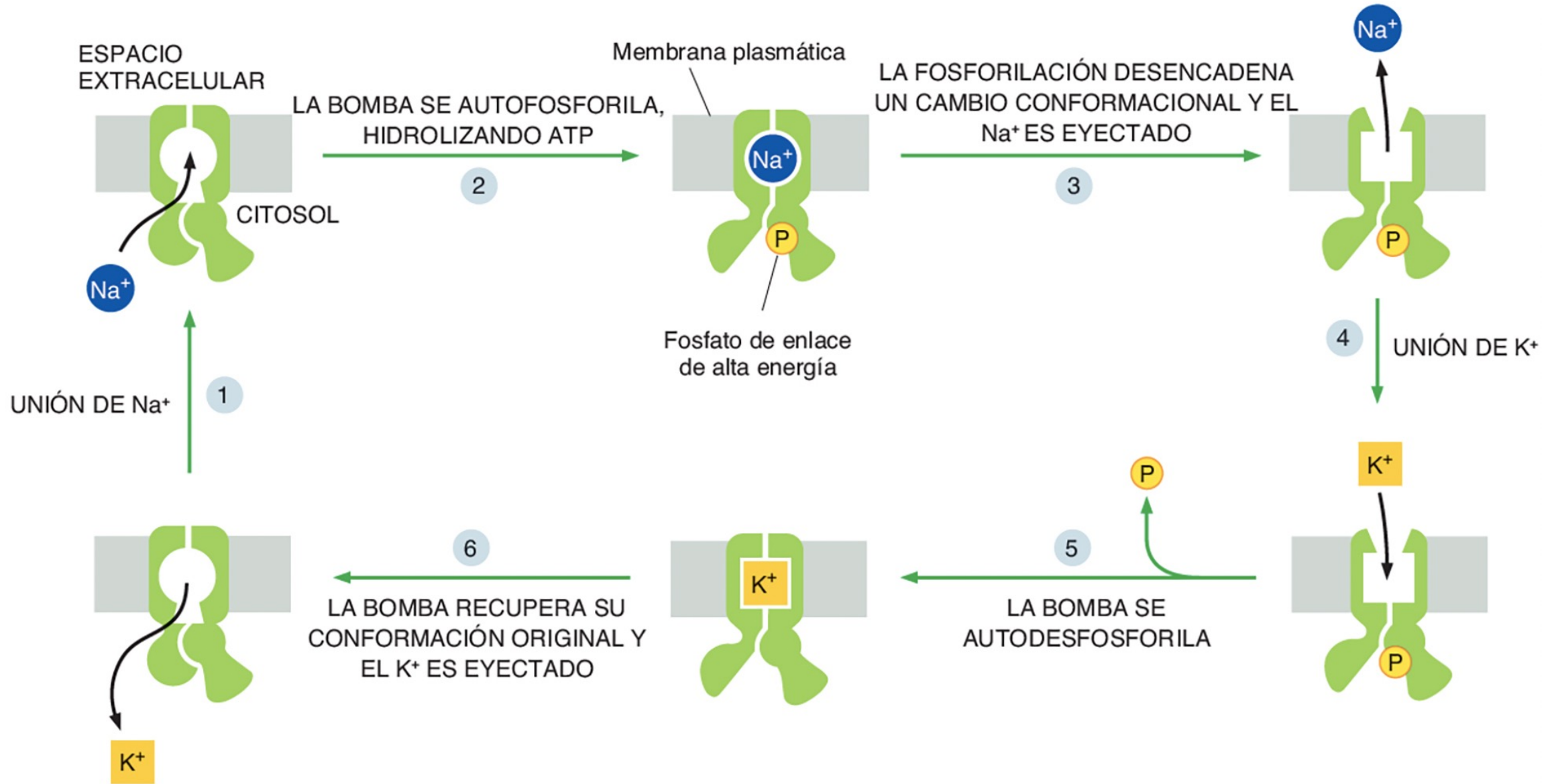
El transporte activo se puede clasificar en DIRECTO (hidrólisis de ATP) o INDIRECTO

Microtransporte: transporte activo directo

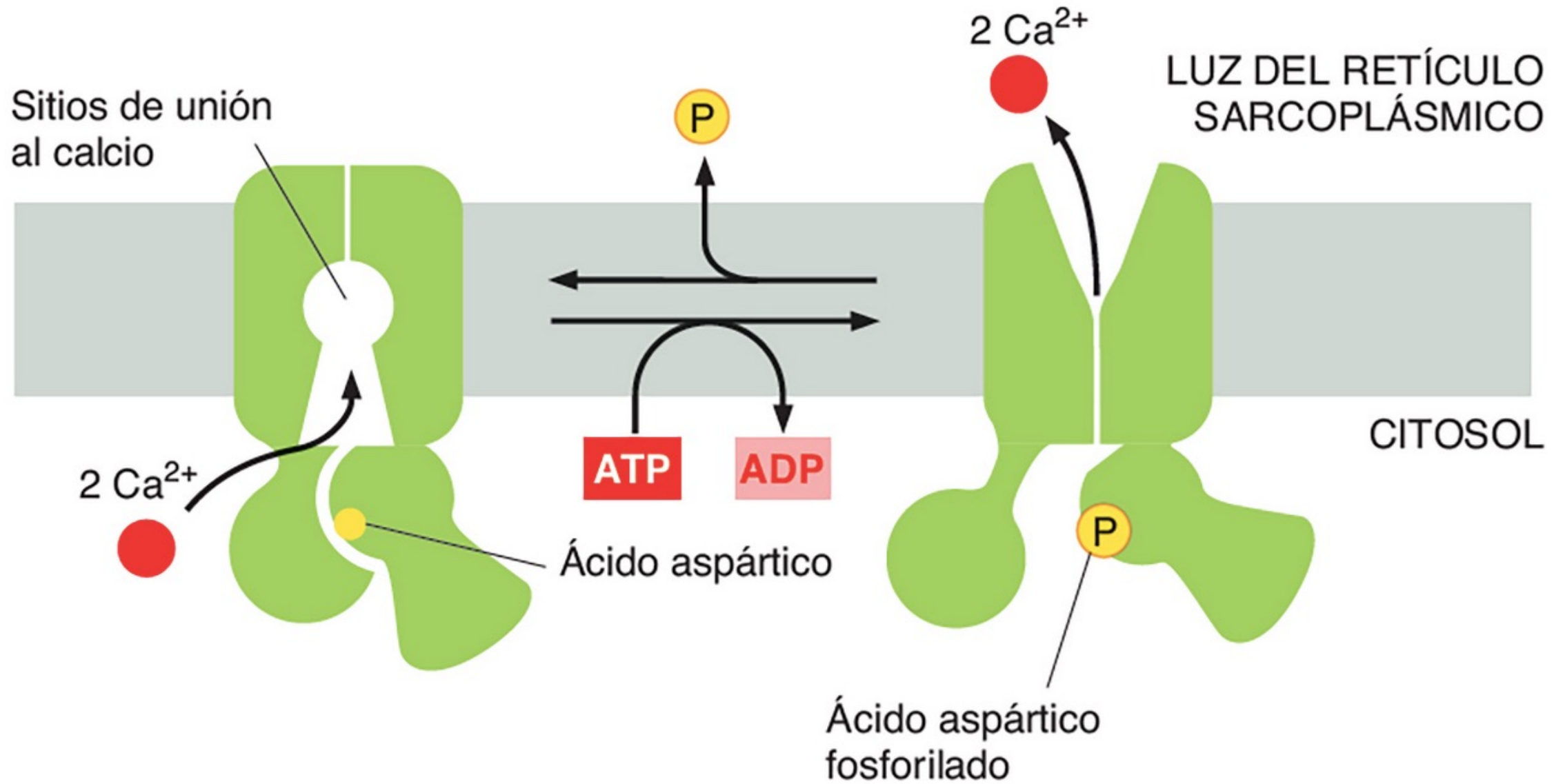


- Mantener el equilibrio osmótico.
- Establecer el potencial de membrana.
- Realizar co-transporte de nutrientes.

Microtransporte: transporte activo directo

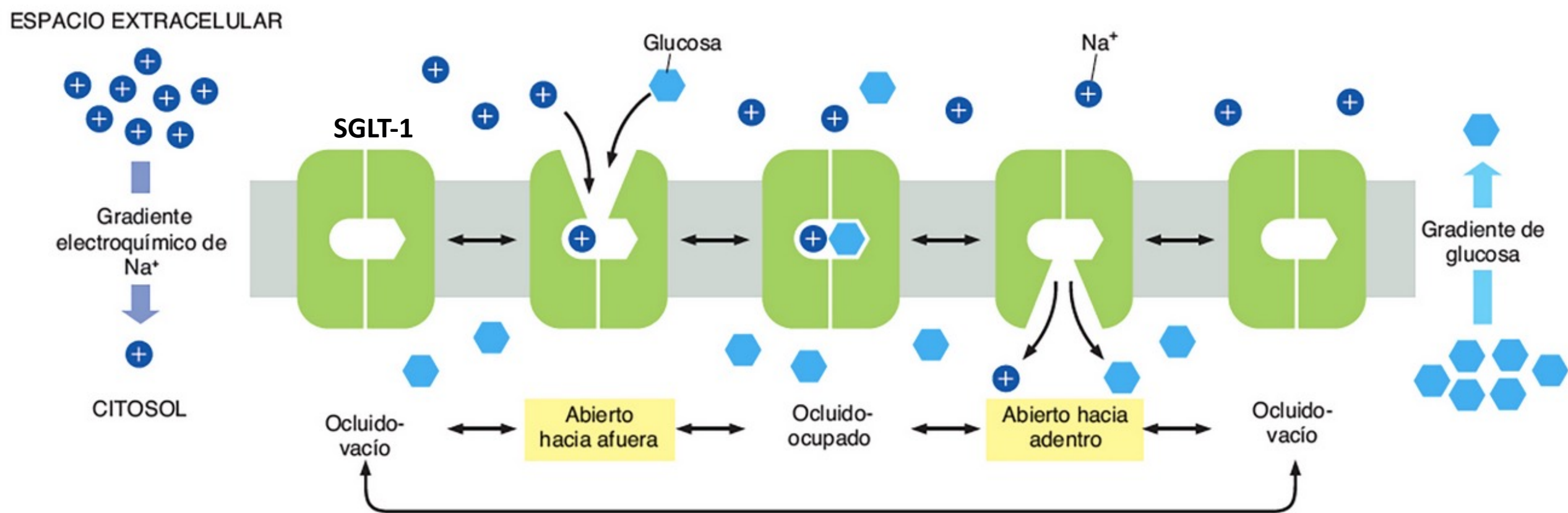


Microtransporte: transporte activo directo



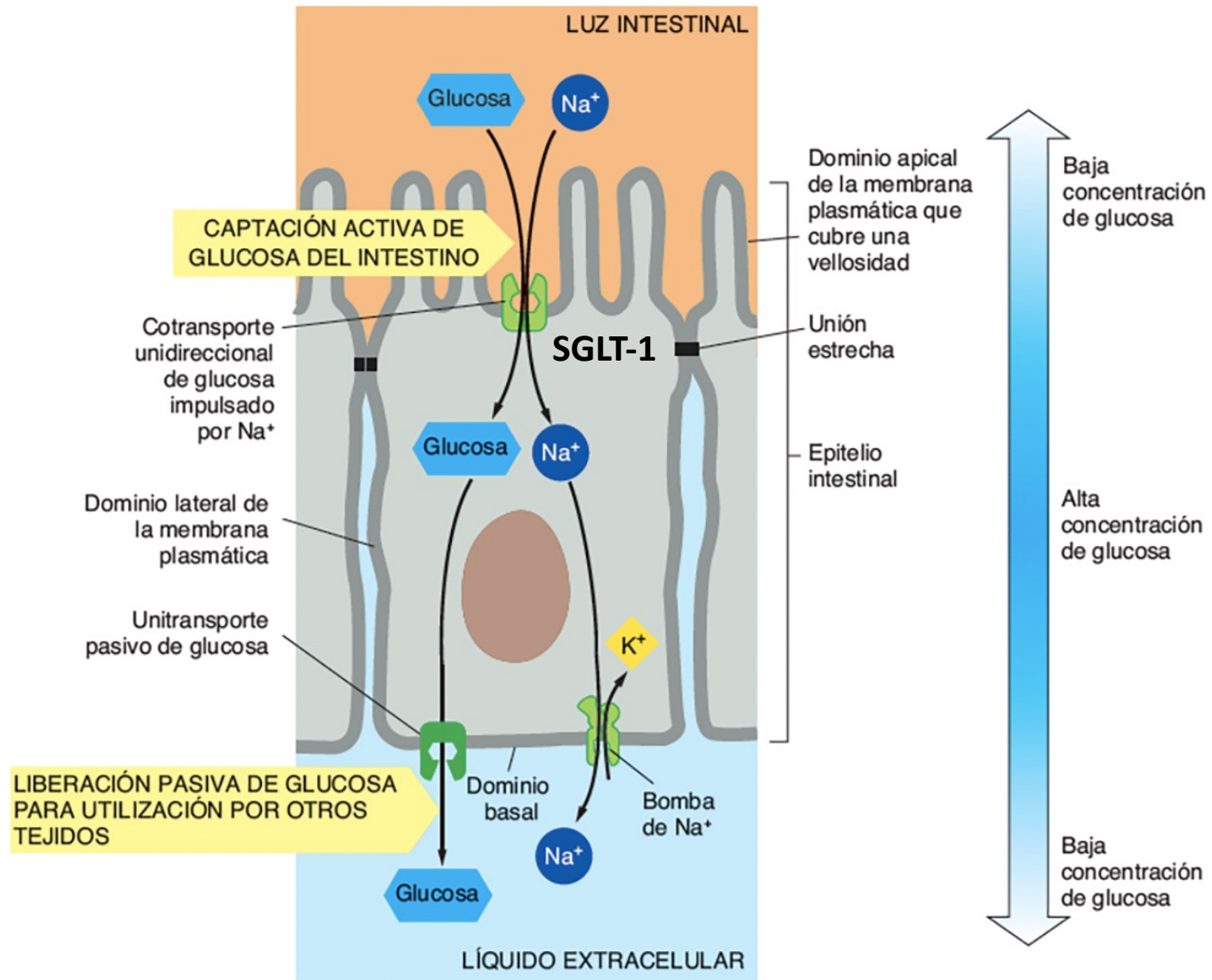
Microtransporte: transporte activo indirecto

Traslada el sustrato de un medio a otro aprovechando la **ENERGIA liberada al equilibrarse un gradiente electroquímico**



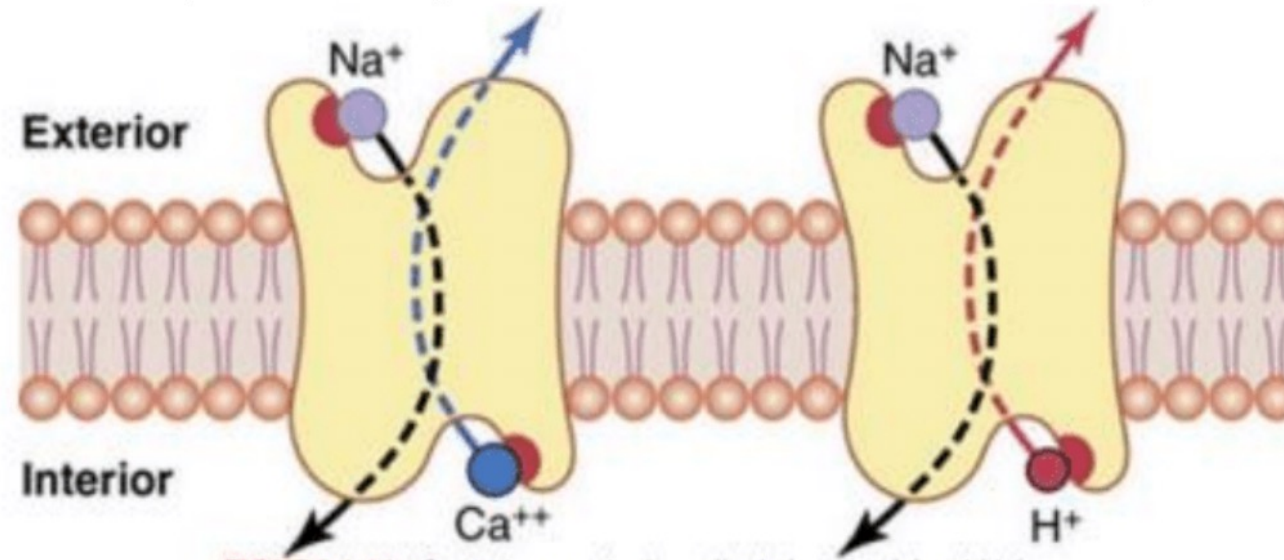
En el cotransporte, ambos sustratos se desplazan en el mismo sentido

Microtransporte: transporte activo indirecto



Microtransporte: transporte activo indirecto

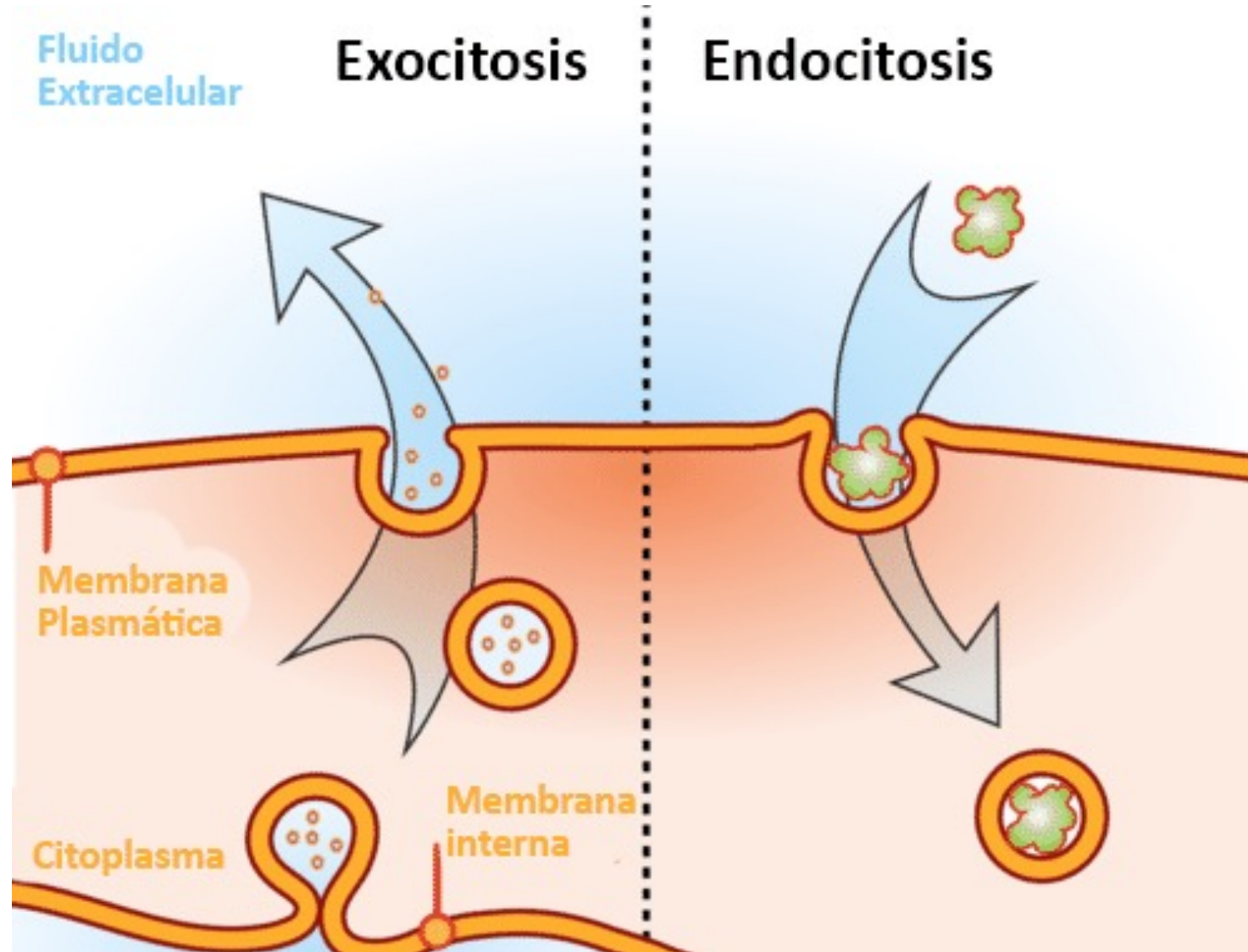
En el **contratransporte**, el transporte de la molécula va en un sentido mientras que el ion que promueve el transporte sigue el opuesto



En el corazón, en el
músculo liso y estriado
y en el riñón

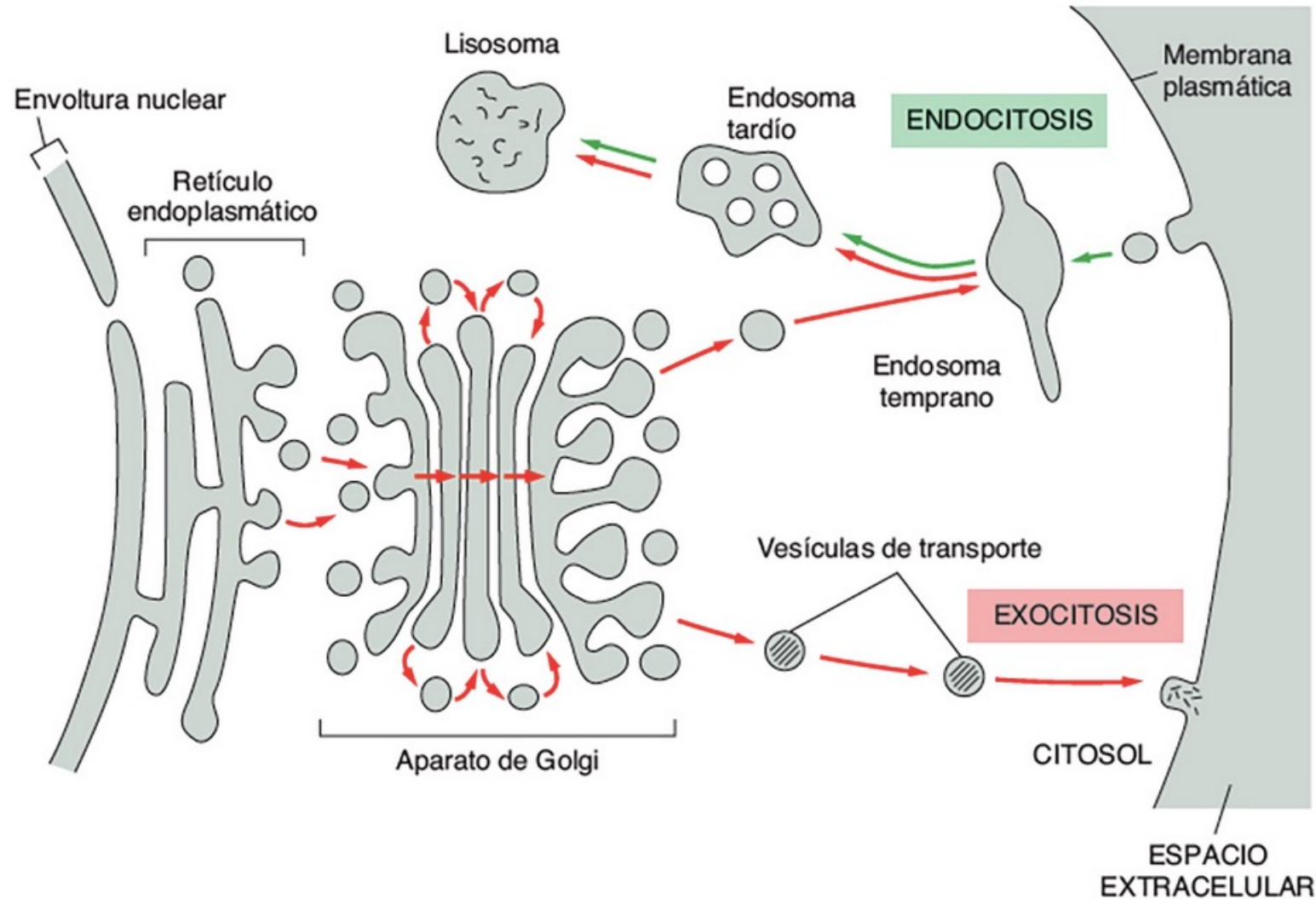
En todas las células
para regular el pH

Macrotransporte: endocitosis y exocitosis



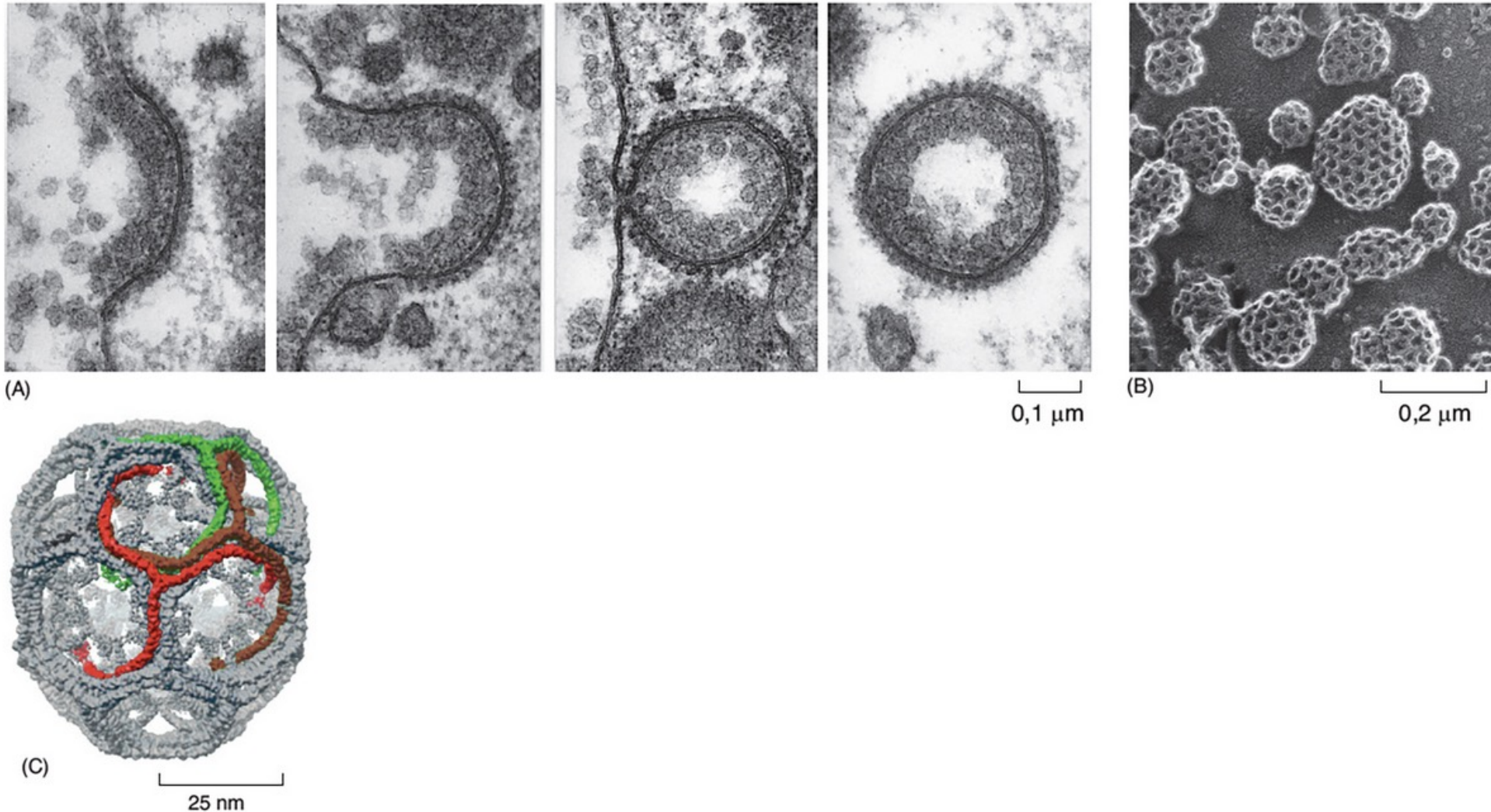
Macrotransporte: endocitosis y exocitosis

Las vesículas de transporte llevan proteínas solubles y fragmentos de membrana entre los compartimentos



Macrotransporte: es impulsado por el ensamblado de una cubierta proteica

Ayudar a modelar la membrana para formar la vesícula secretora y captura moléculas para el transporte: **CLATRINA**

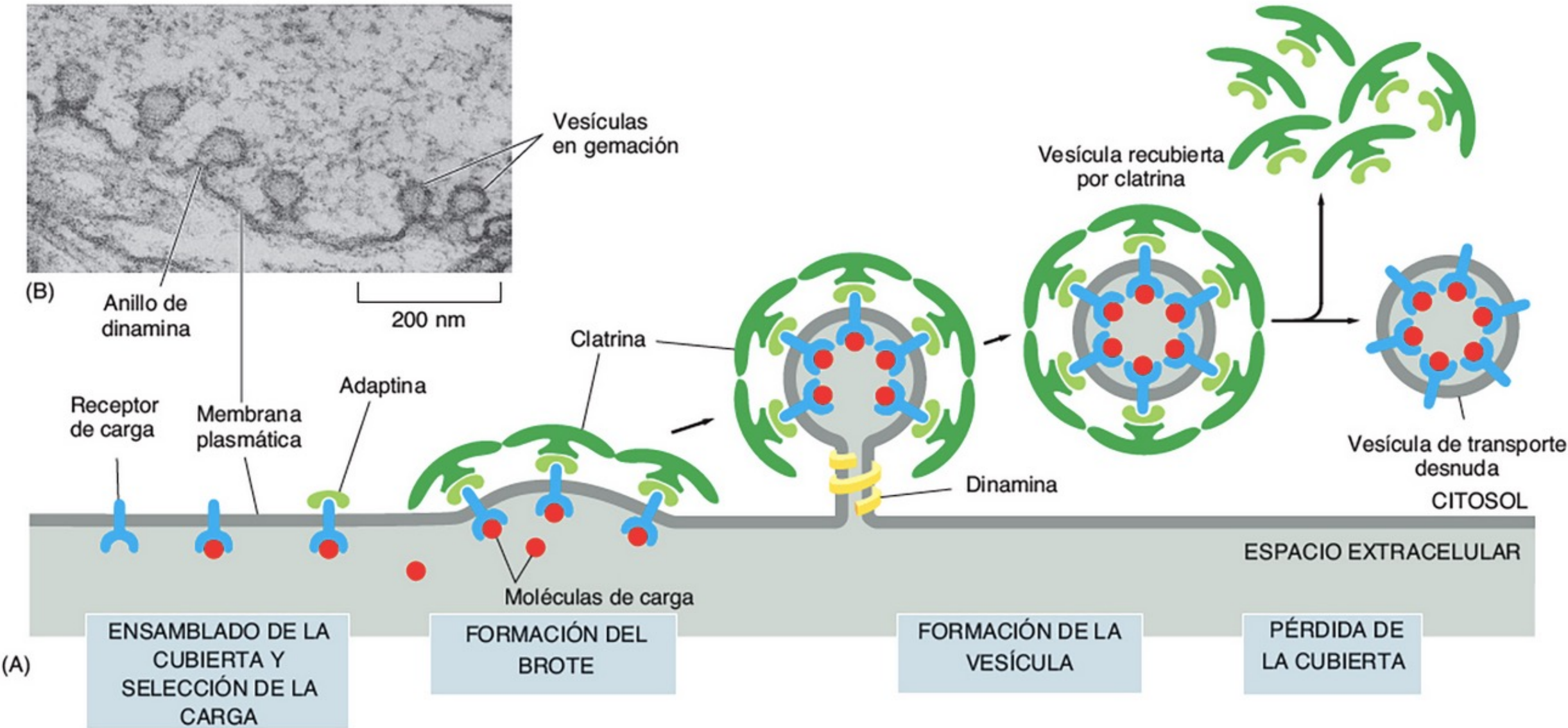


Macrotransporte: es impulsado por el ensamblado de una cubierta proteica

CUADRO 15-4 ALGUNOS TIPOS DE VESÍCULAS RECUBIERTAS

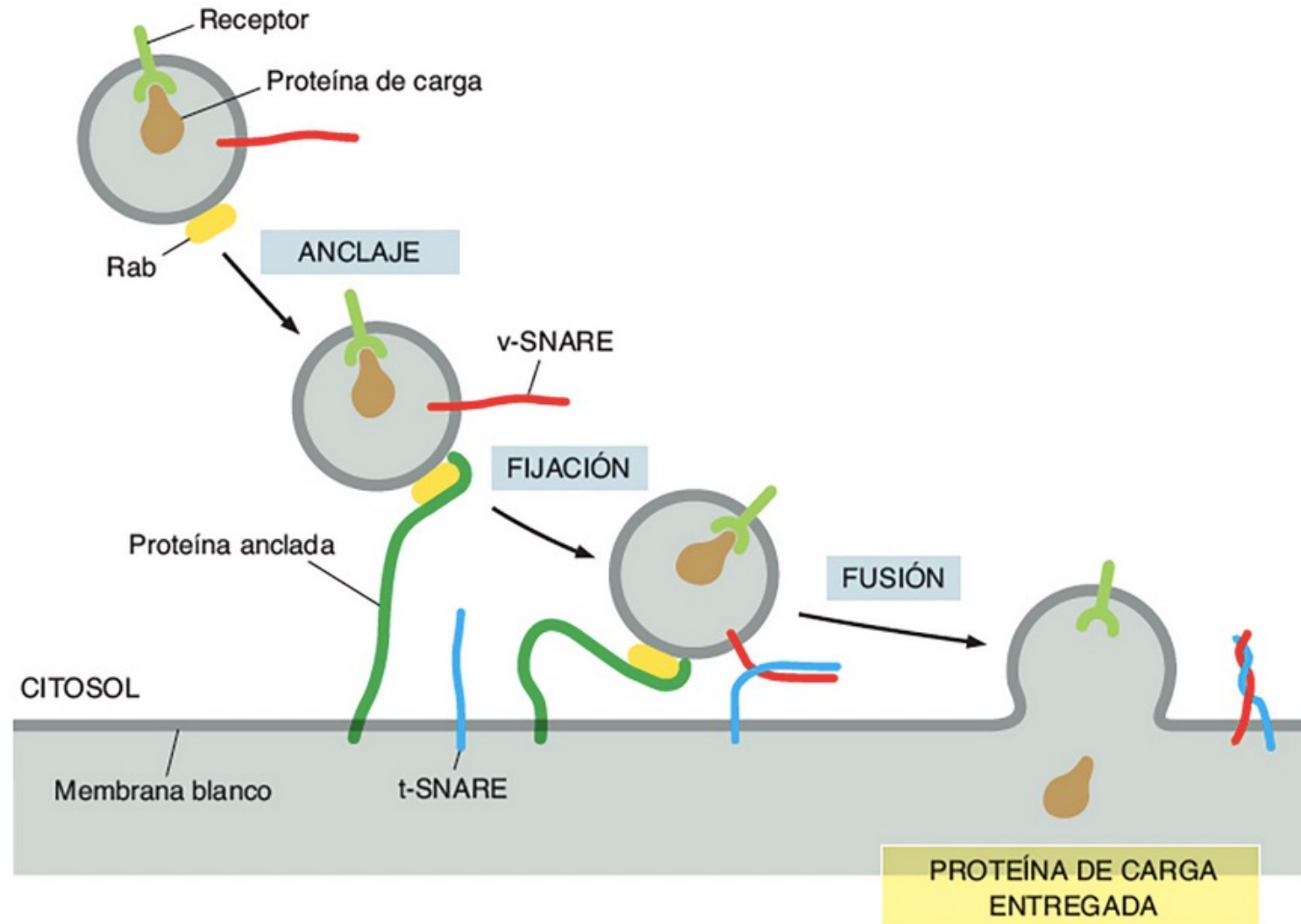
Tipo de vesícula recubierta	Proteínas de la cubierta	Origen	Destino
Recubierta por clatrina	Clatrina + adaptina 1	Aparato de Golgi	Lisosoma (a través de los endosomas)
Recubierta por clatrina	Clatrina + adaptina 2	Membrana plasmática	Endosomas
Recubierta por COPII	Proteínas COPII	RE	Cisterna de Golgi
Recubierta por COPI	Proteínas COPI	Cisterna de Golgi	RE

Macrotransporte: es impulsado por el ensamblado de una cubierta proteica



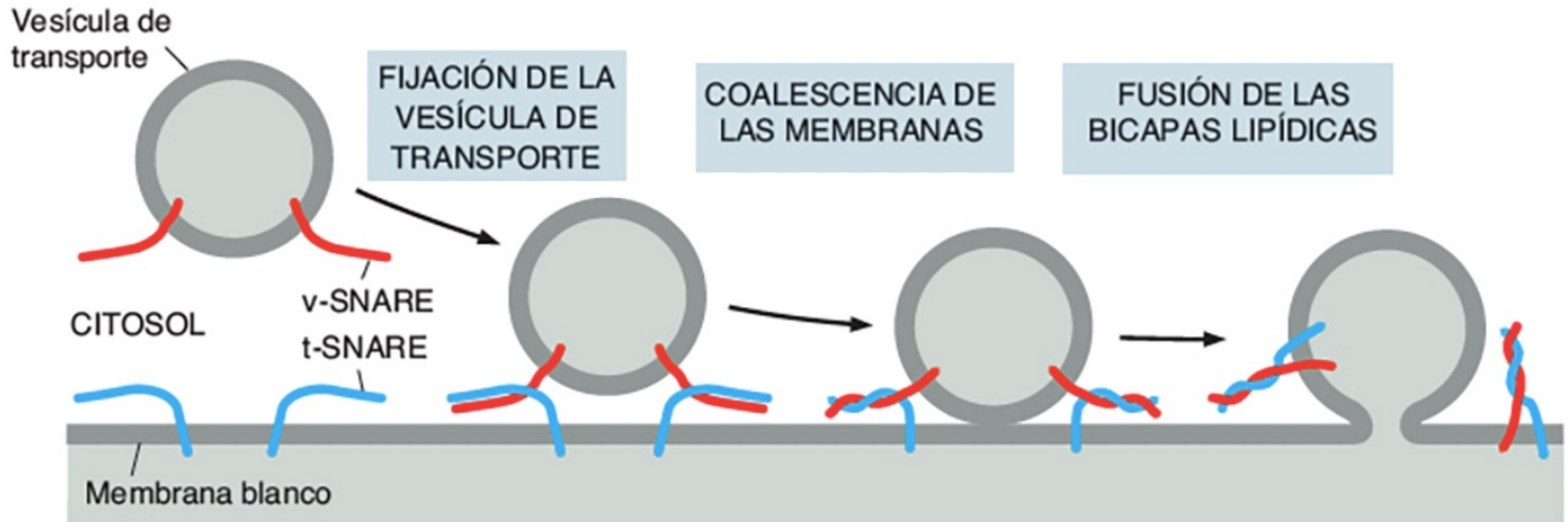
Macrotransporte: la fijación de vesículas depende de ataduras y SNAREs

Las proteínas **Rab** (GTPasa monomérica) y **SNARE** ayudan a dirigir las vesículas de transporte a sus membranas diana



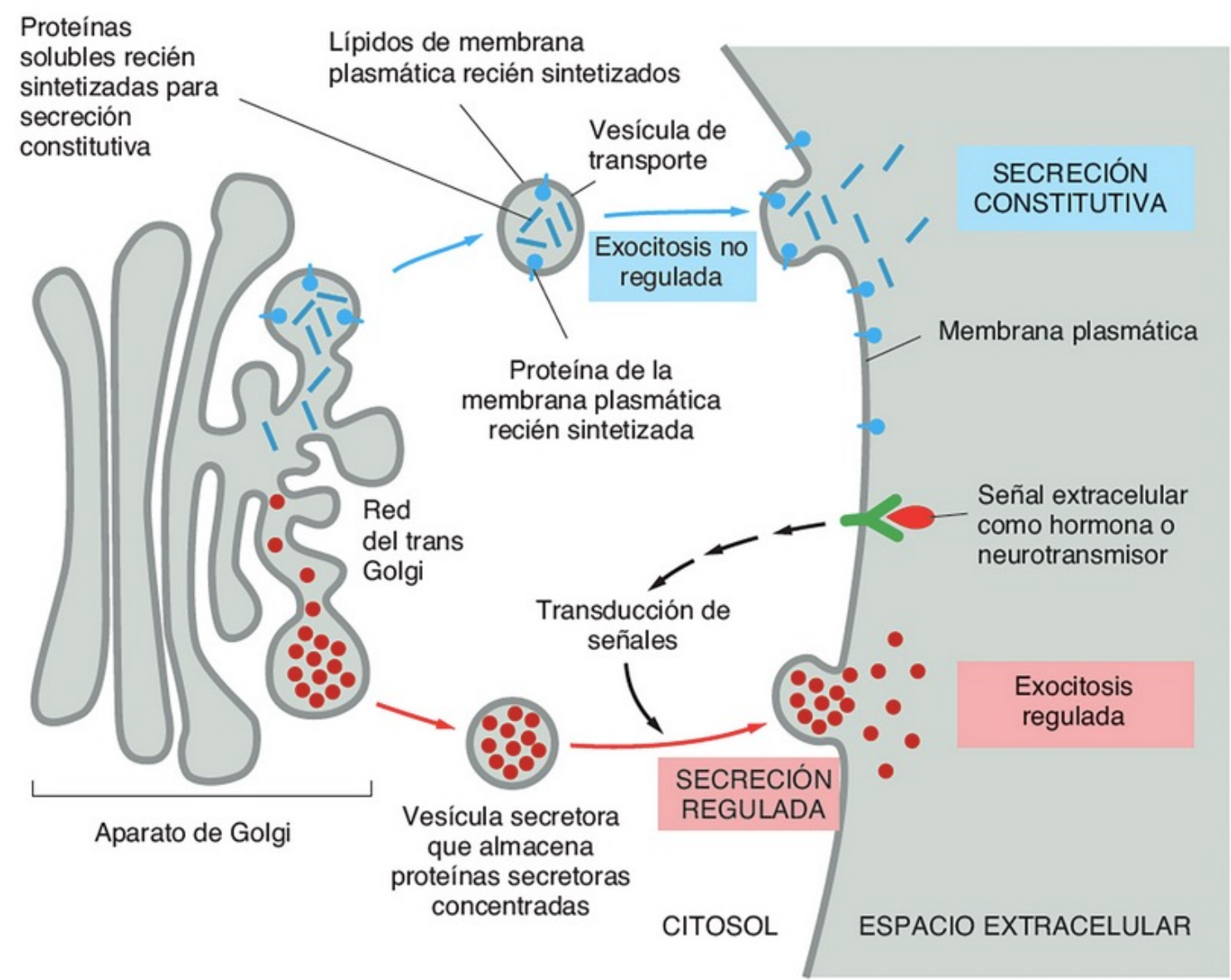
Macrotransporte: la fijación de vesículas depende de ataduras y SNAREs

Las proteínas **Rab** (GTPasa monomérica) y **SNARE** ayudan a dirigir las vesículas de transporte a sus membranas diana

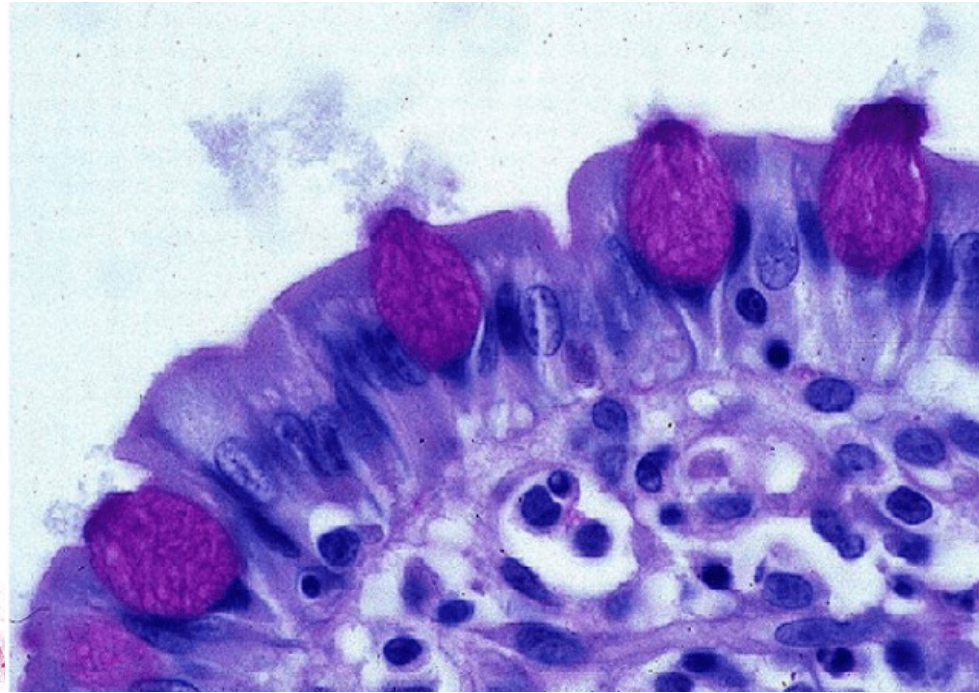
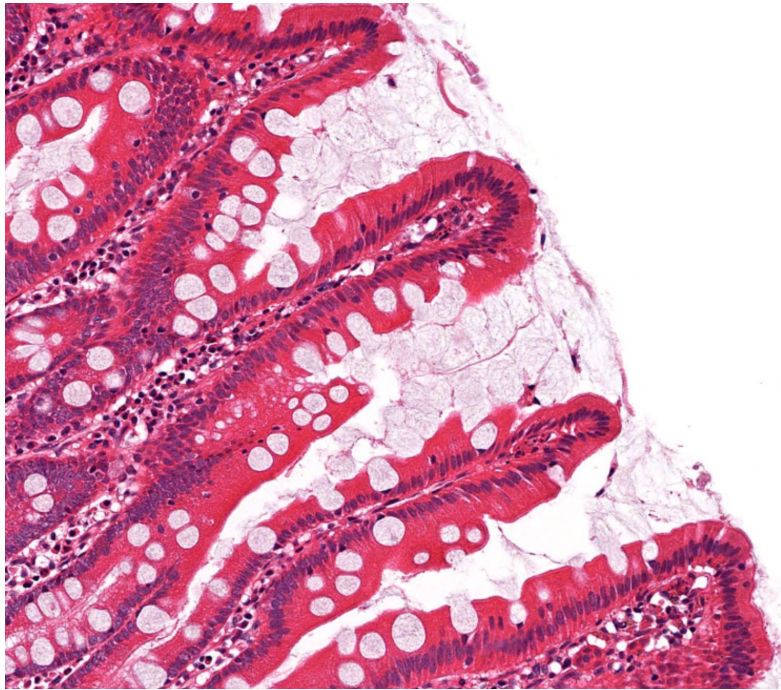


Los lípidos fluyen juntos para formar una bicapa continua

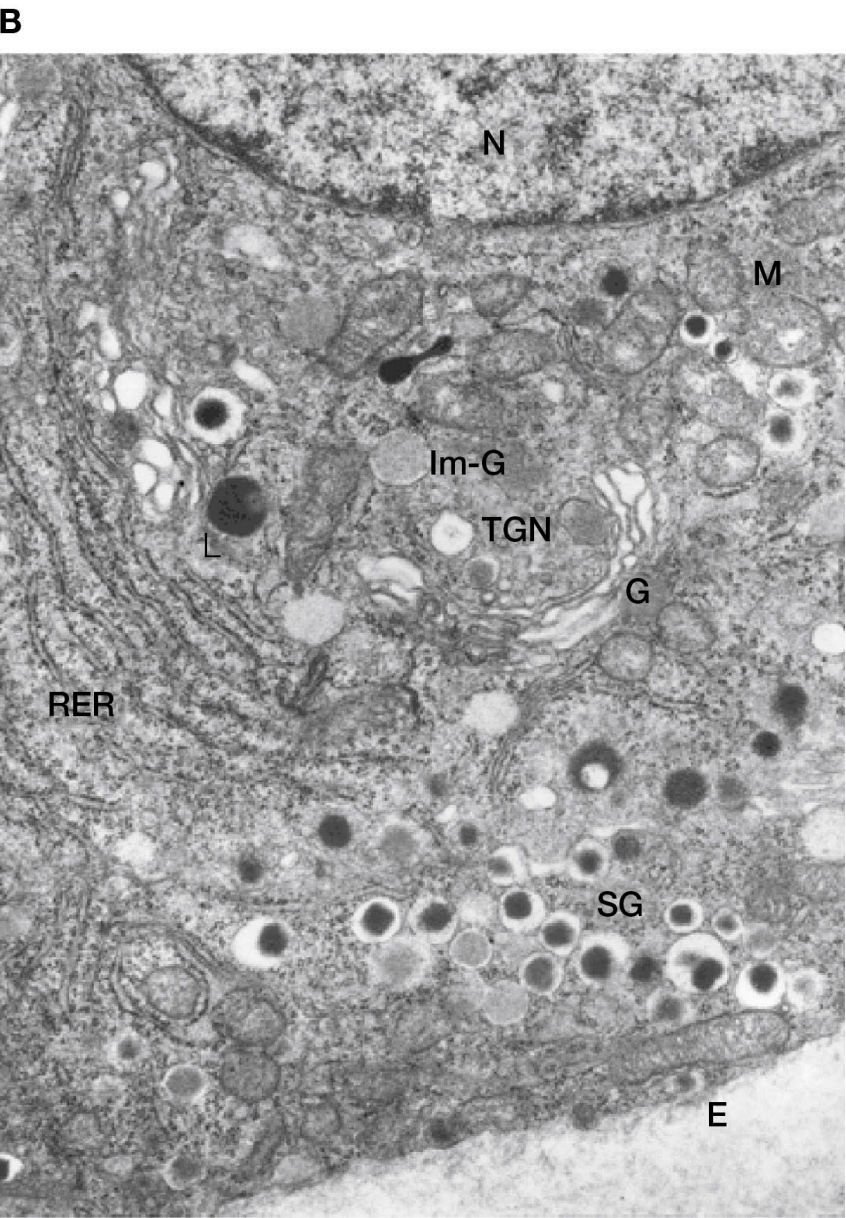
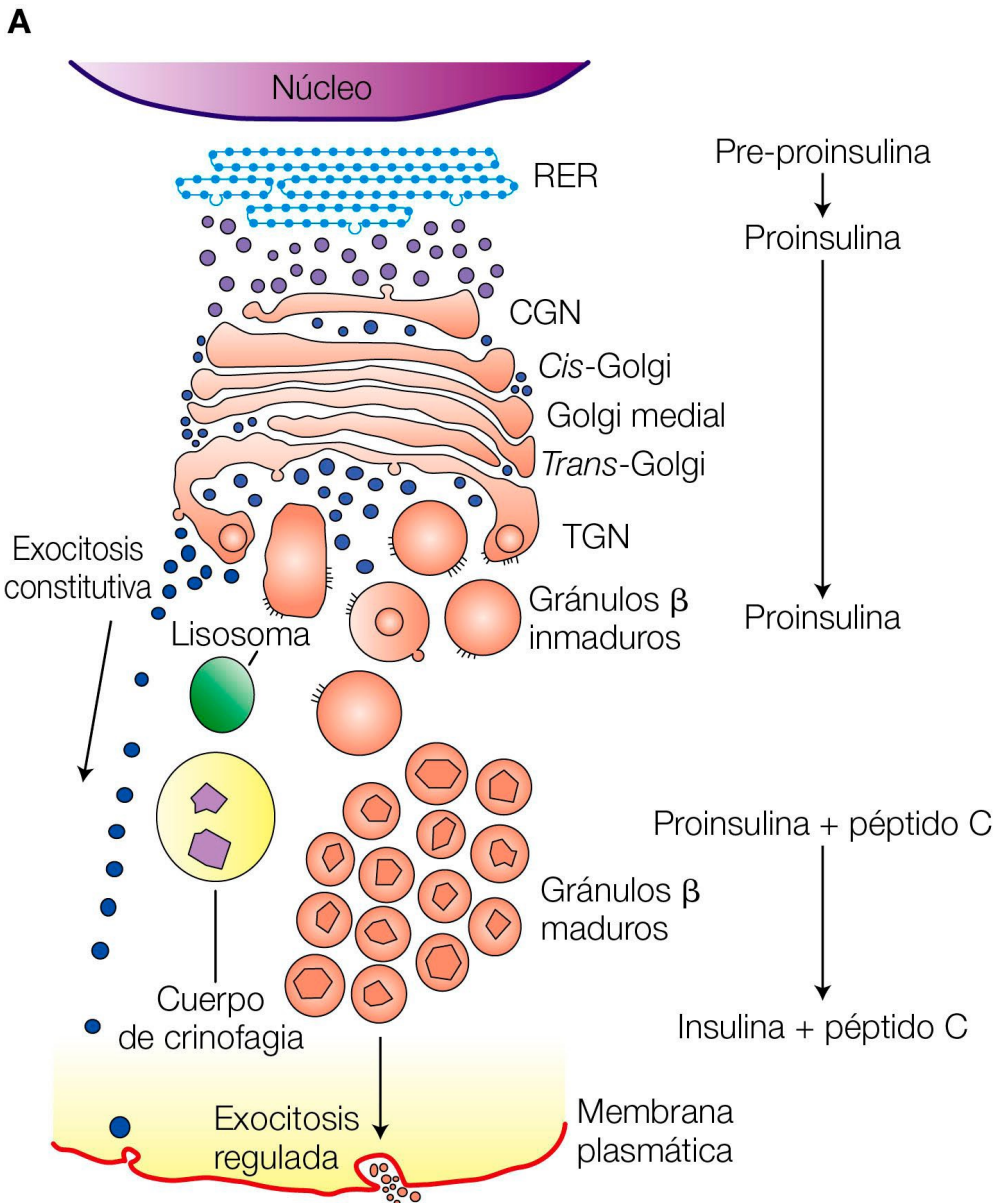
Macrotransporte: exocitosis



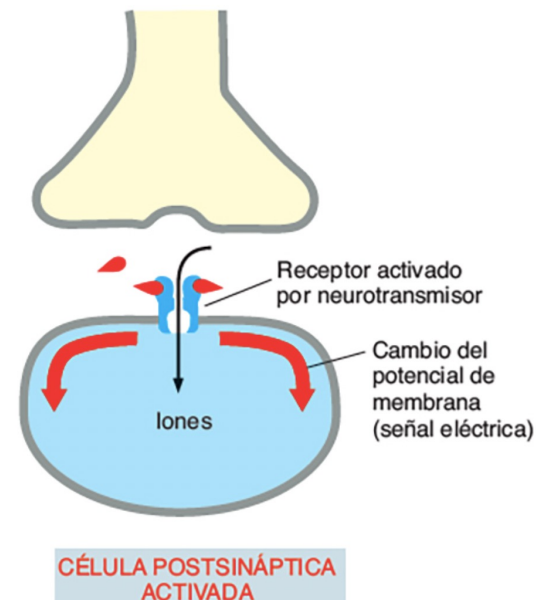
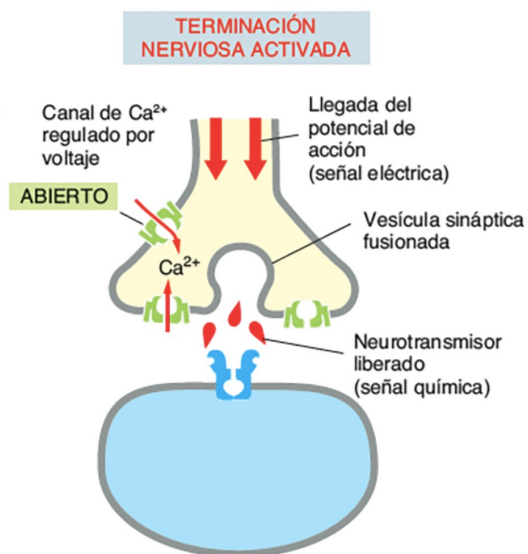
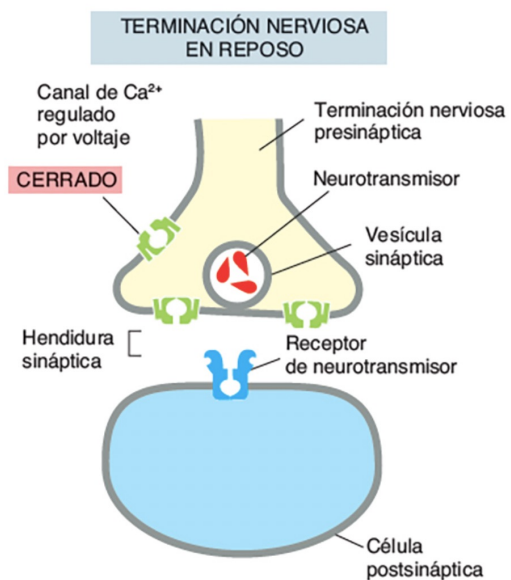
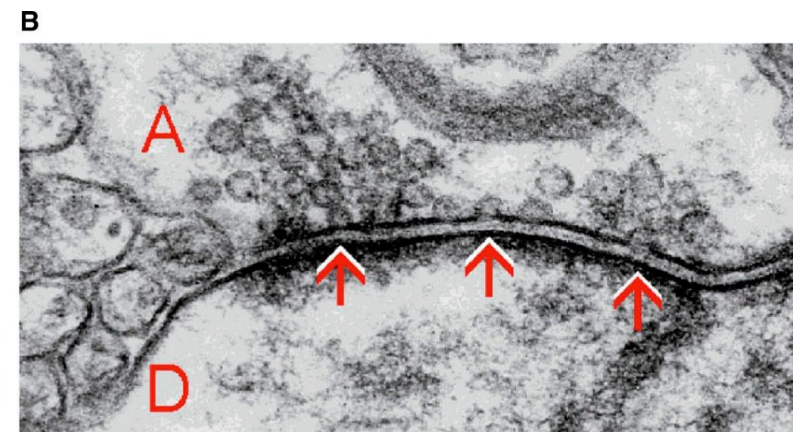
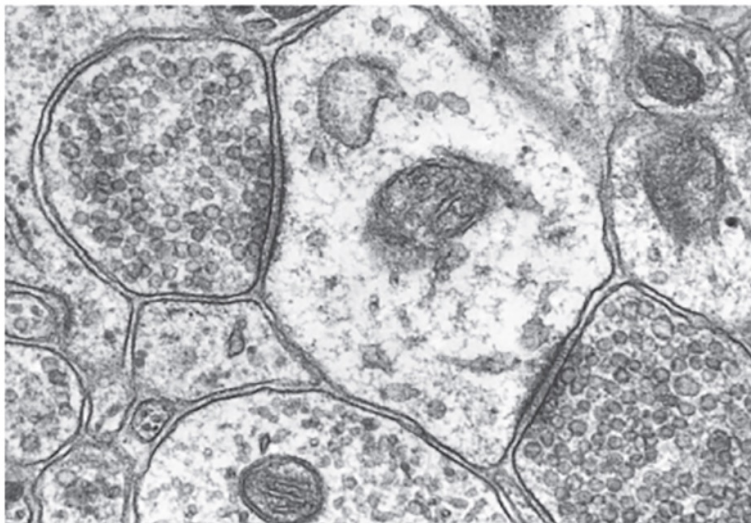
Secreción de células caliciformes



Exocitosis regulada de insulina

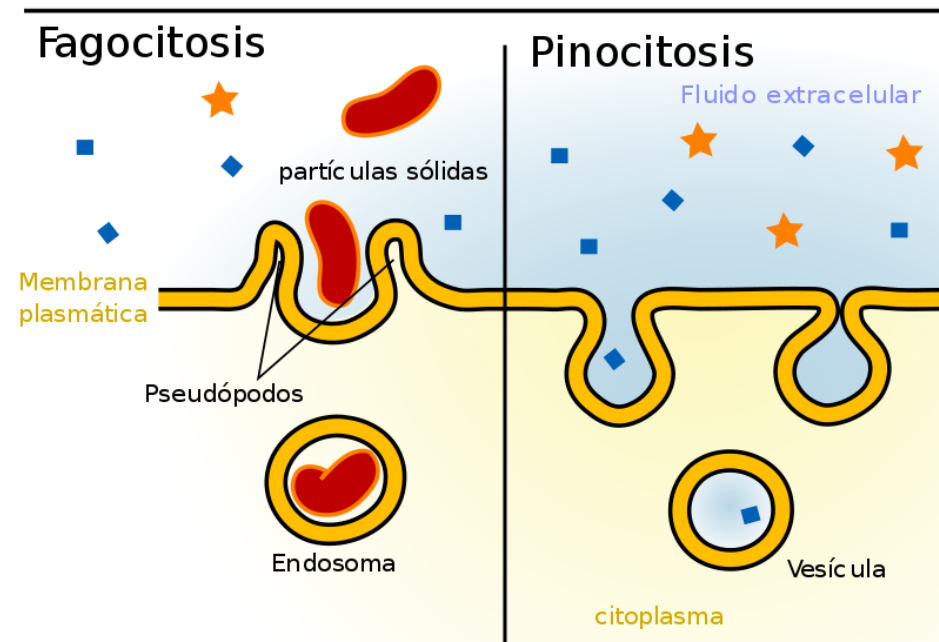


Exocitosis regulada por neurotransmisores y potenciales de acción



Macrotransporte: endocitosis

- Las células eucariontes captan continuamente líquido, junto con moléculas grandes y pequeñas
- Otras células también pueden internalizar partículas grandes e, incluso, otras células
- Se forman **vesículas endocíticas intracelulares** para ser incluidos en los **endosomas**
- **PINOCITOSIS** (“bebida celular”) vs. **FAGOCITOSIS** (“comida celular”)

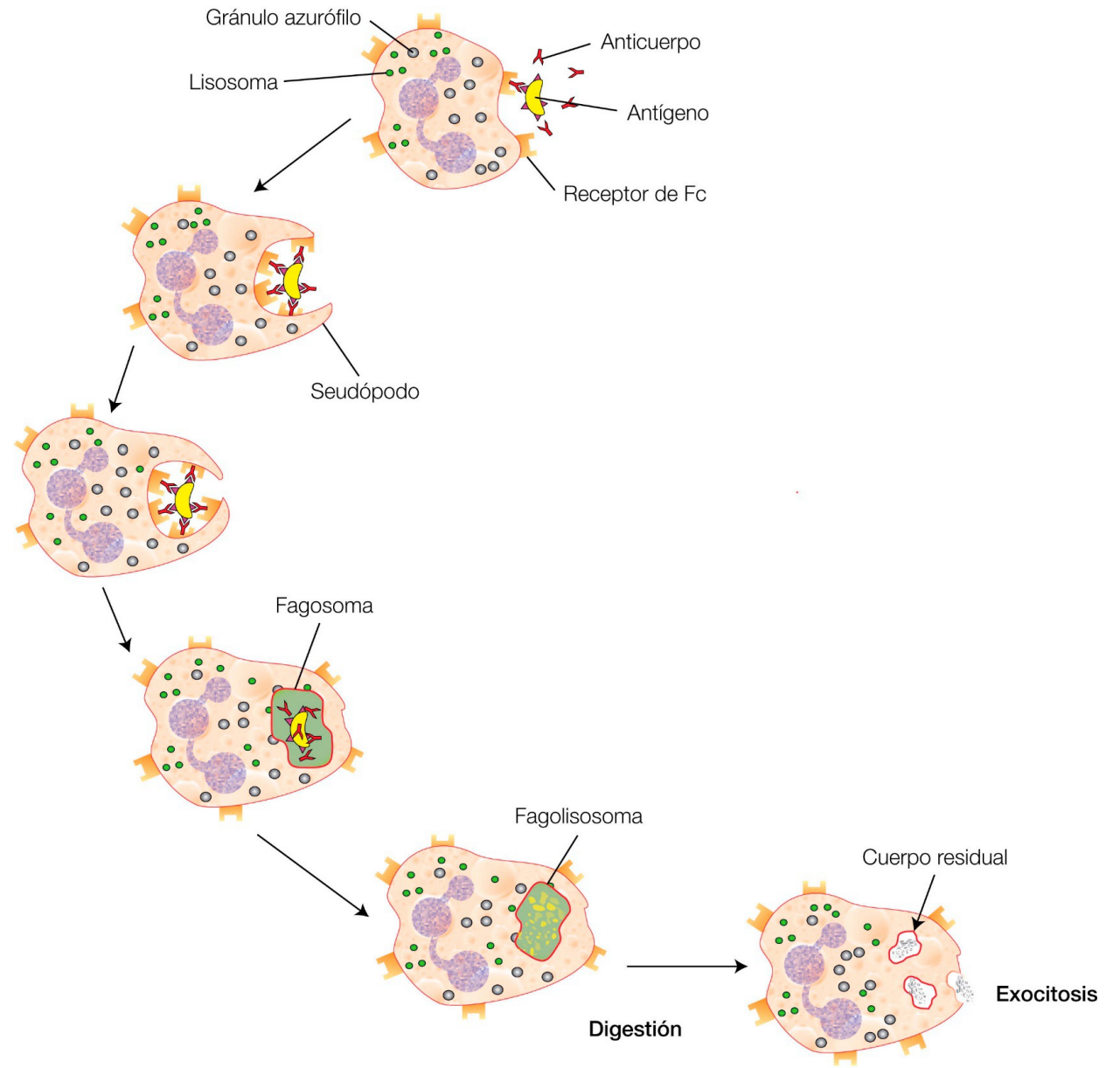


> 250nm diámetro
Fagosomas

< 250nm diámetro

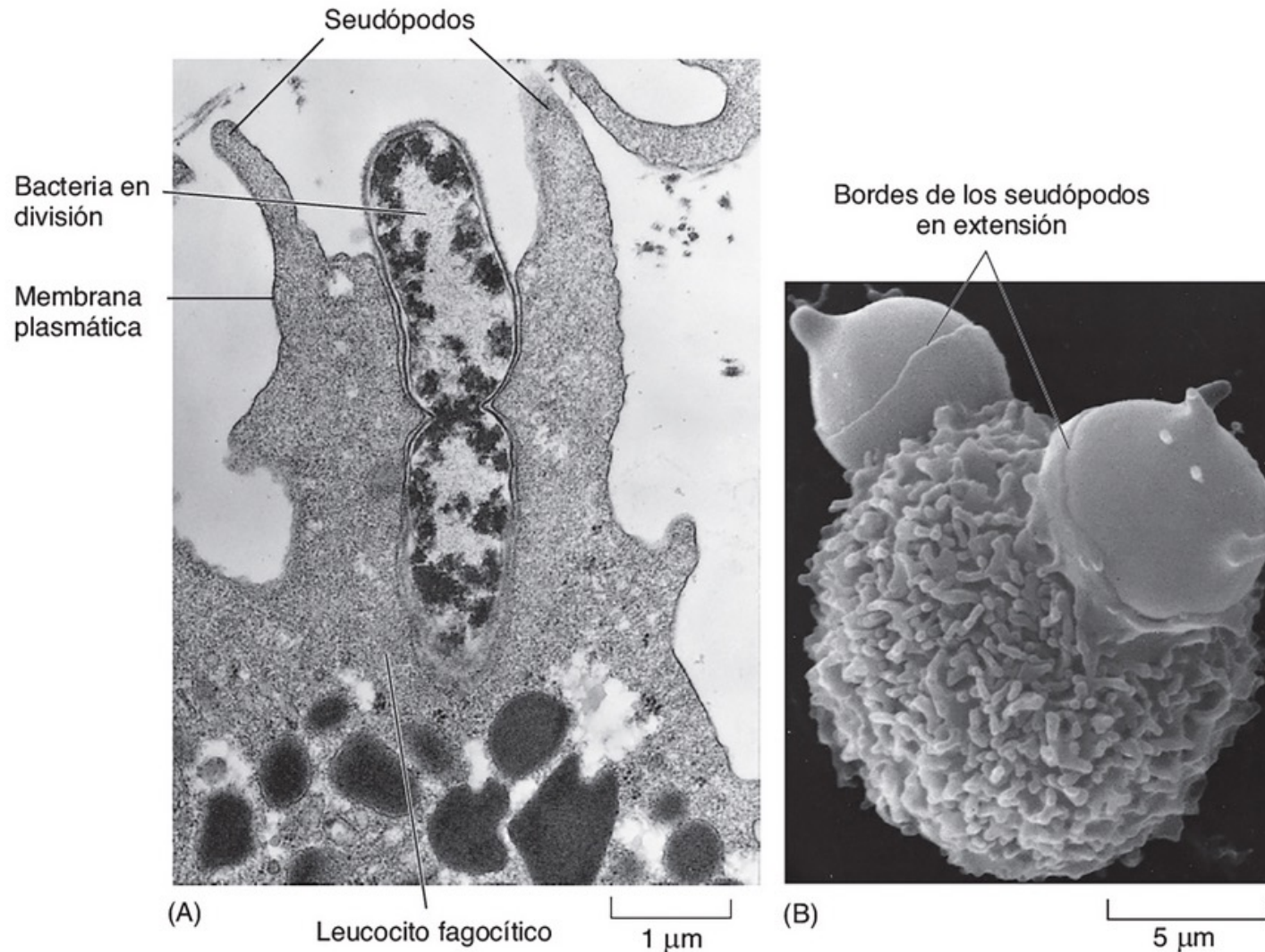
Endocitosis: fagocitosis

- Células especializadas (macrófagos, neutrófilos...)
- Las partículas son reconocidas por receptores de membrana plasmática
- Las células emiten extensiones de la membrana plasmática o pseudópodos que engloban a la partícula en una gran vesícula o fagosoma
- El fagosoma se fusiona con lisosomas (fagolisosoma): digestión del contenido.



Endocitosis: fagocitosis

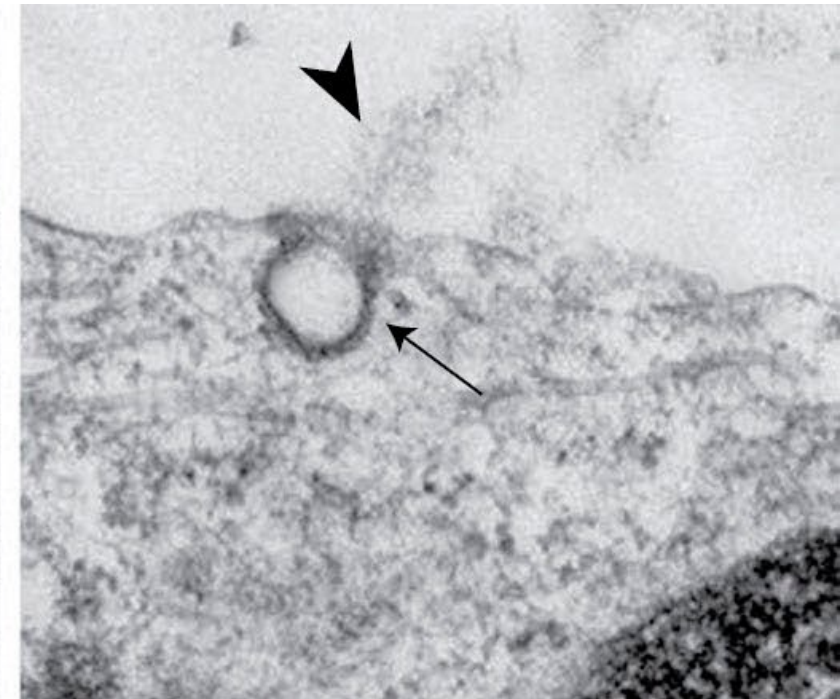
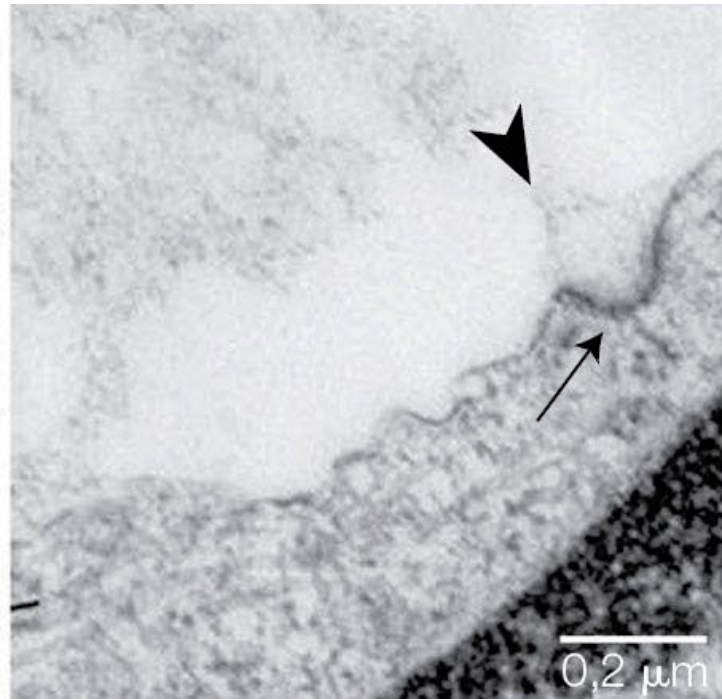
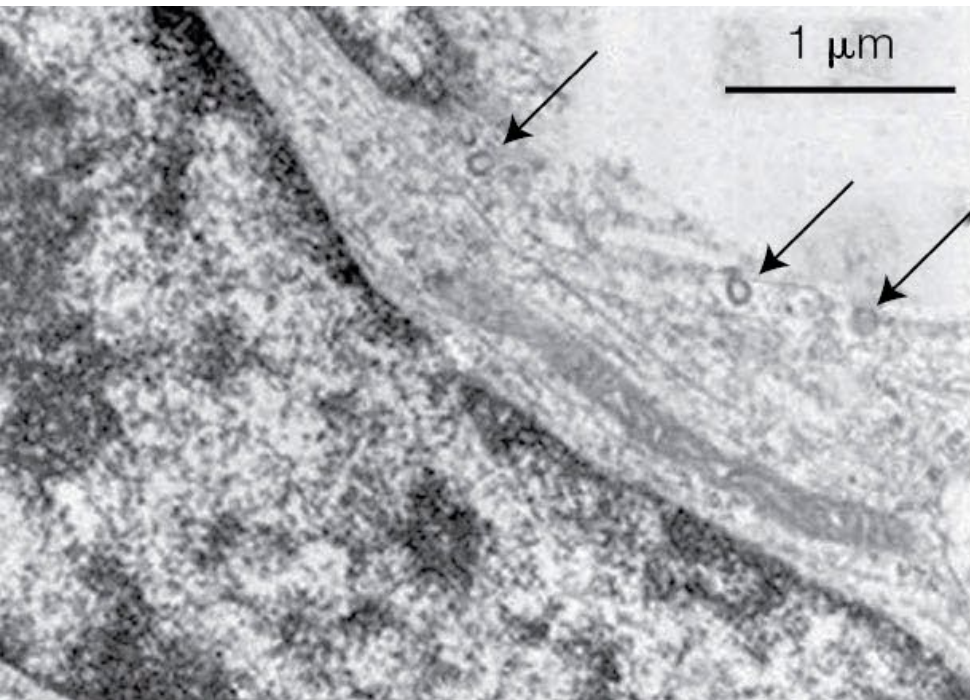
Las células fagocíticas especializadas pueden ingerir otras células



Endocitosis: Pinocitosis

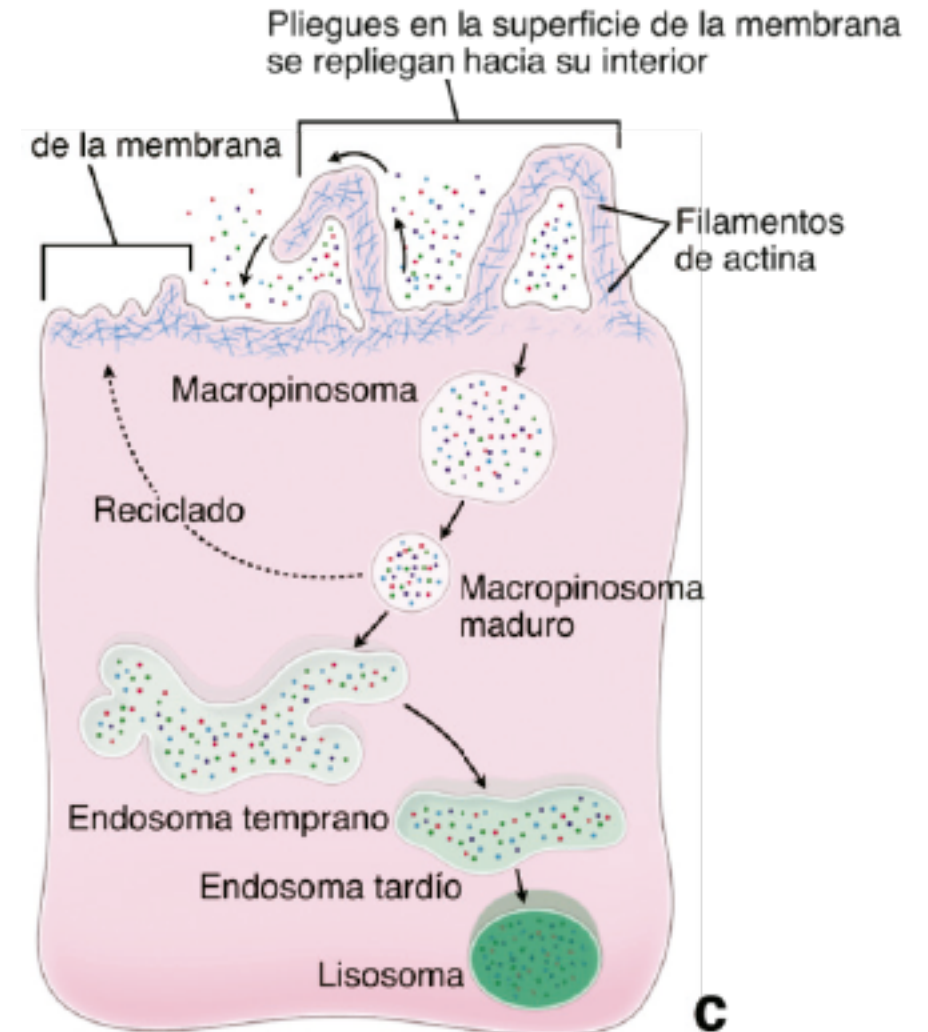
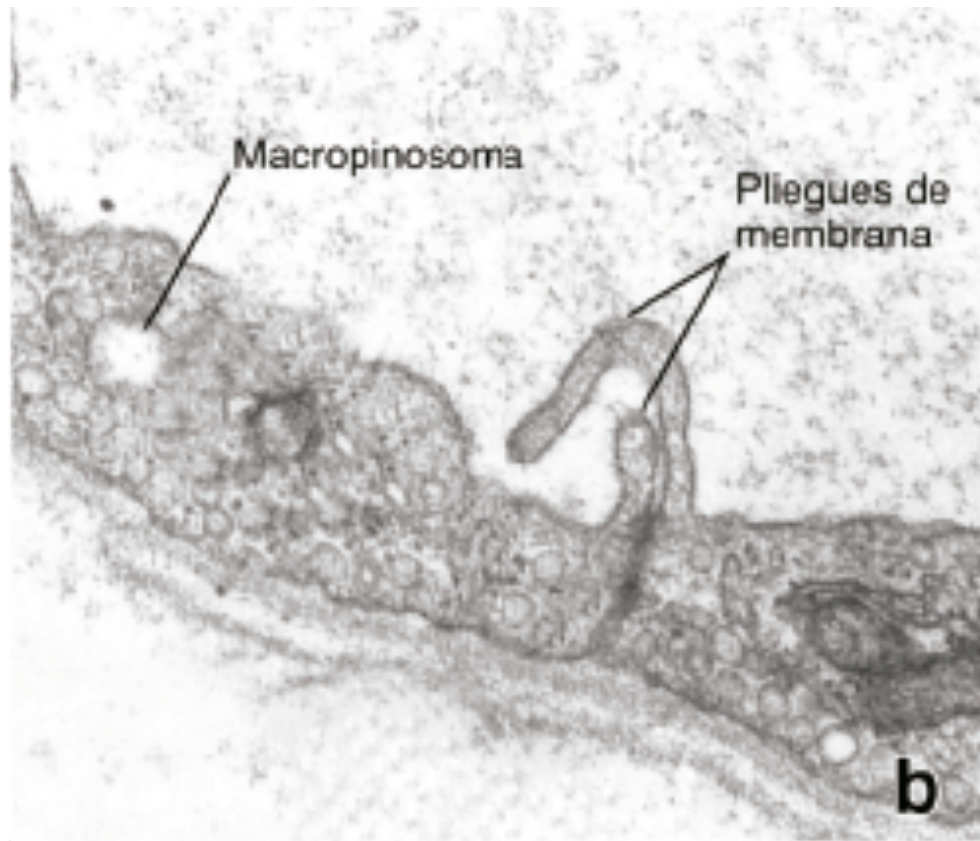
Puede ser:

- Mediada por **clatrina**: endocitosis mediada por receptor
- Mediada por **caveolinas**: caveolas
- **Macropinocitosis**: amplias protusiones citoplasmáticas a modo de lamelipodios



Endocitosis: Pinocitosis

La ingesta masiva e inespecífica de fluido extracelular ocurre a través de los **macropinosomas** que se forman a partir de **pliegues de membrana plasmática**



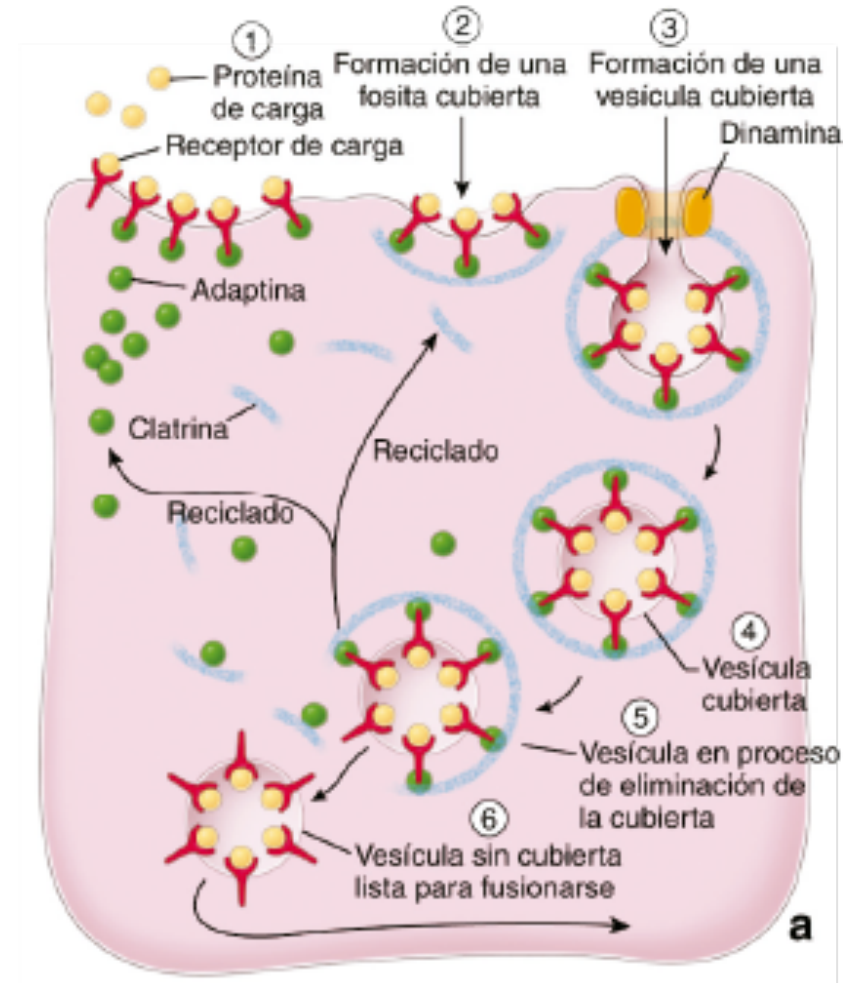
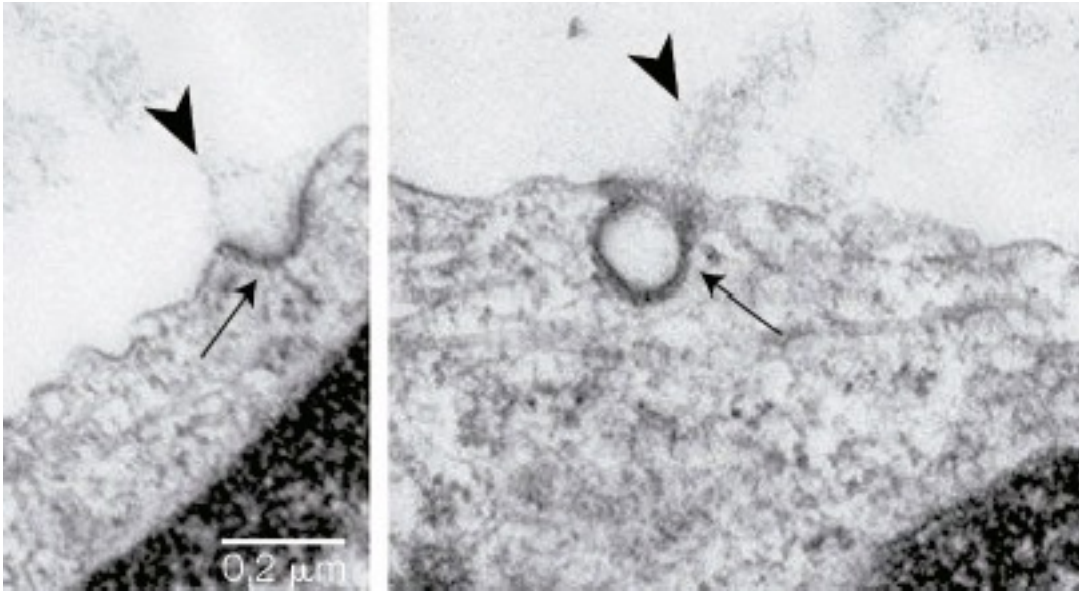
Endocitosis: Pinocitosis

La ingesta masiva e inespecífica de fluido extracelular ocurre a través de los **macropinosomas** que se forman a partir de **pliegues de membrana plasmática: sistema de reciclaje**



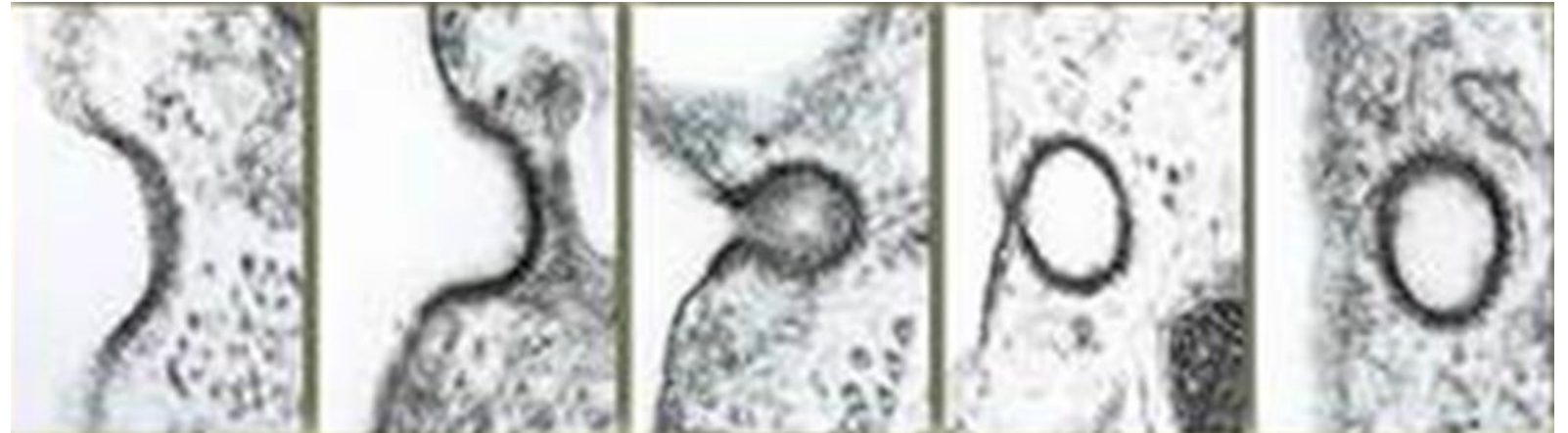
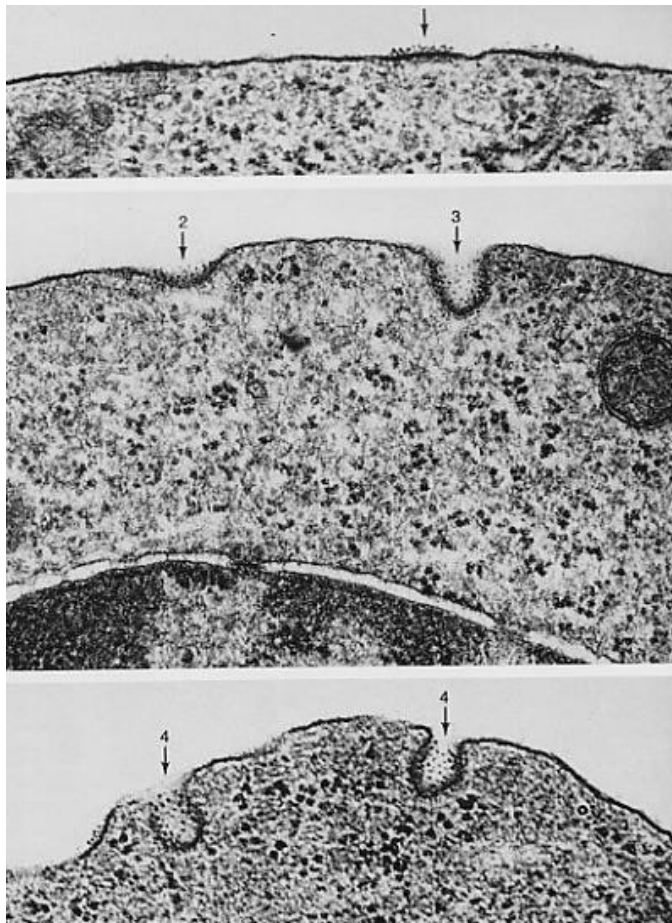
Endocitosis: Pinocitosis

Incorporación de moléculas específicas (hormonas, factores de crecimiento, vitaminas, colesterol...) unidas a **receptores de membrana concentrados en depresiones** revestidas de **clatrina**.



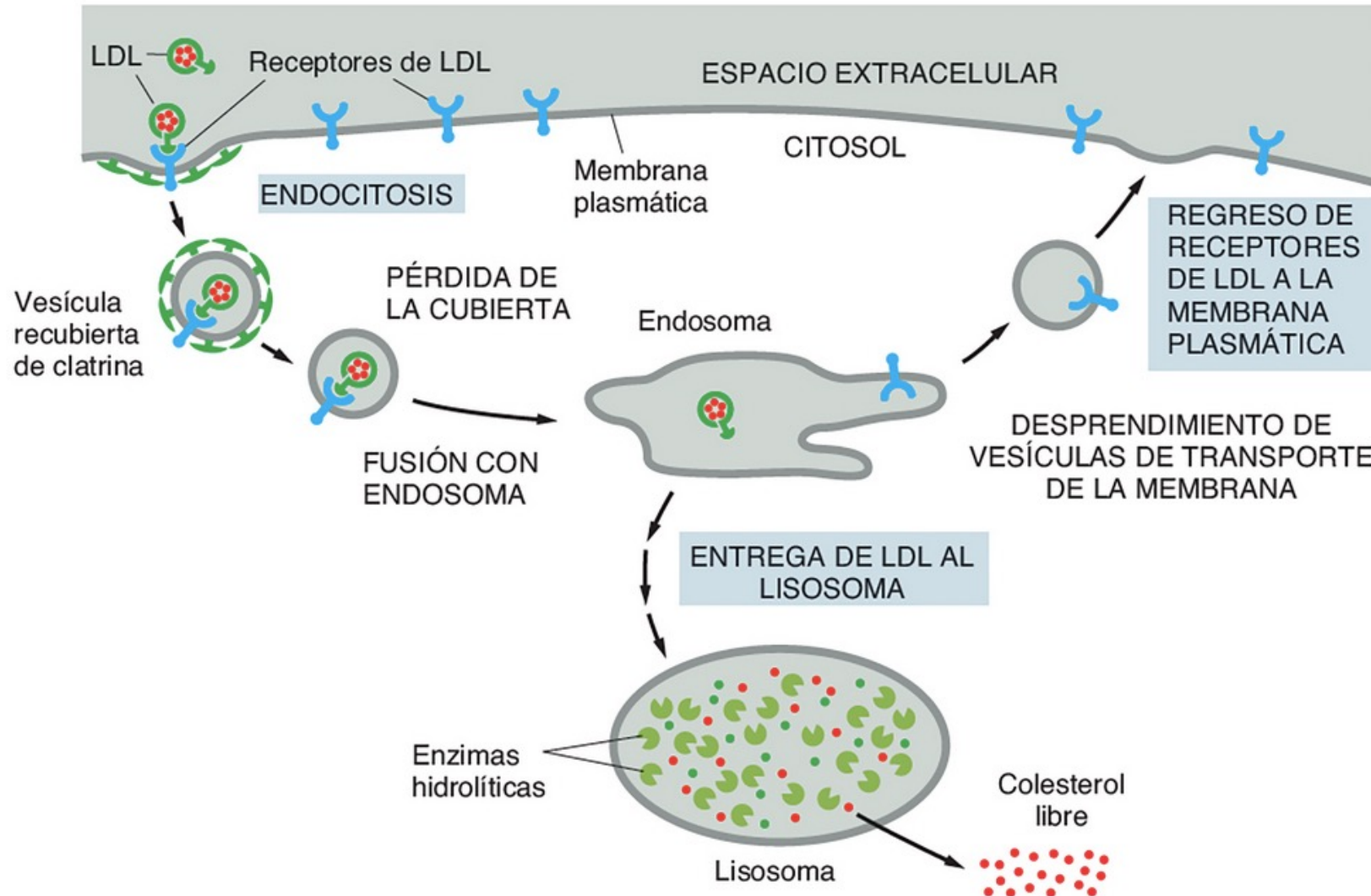
Endocitosis: Pinocitosis

Incorporación de moléculas específicas (hormonas, factores de crecimiento, vitaminas, colesterol...) unidas a **receptores de membrana concentrados en depresiones** revestidas de **clatrina**.



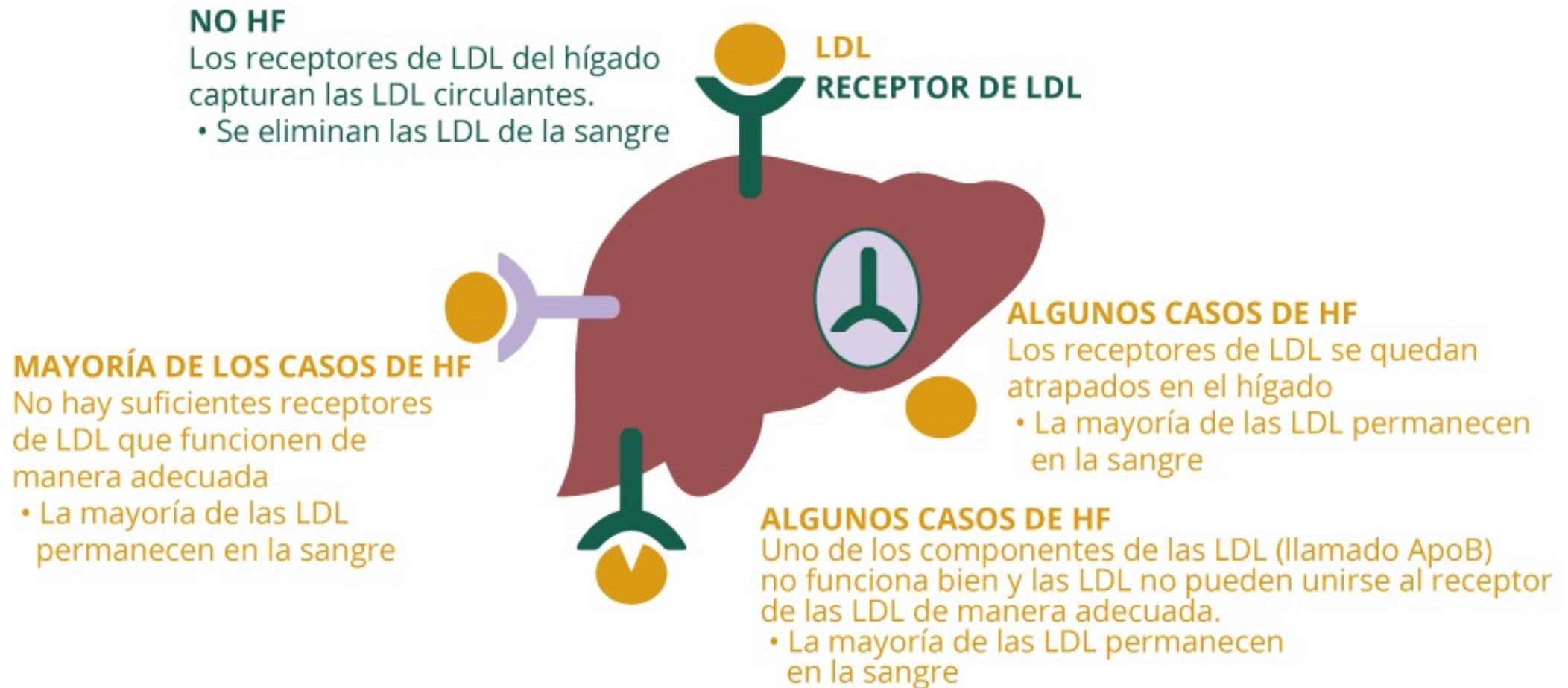
Endocitosis: Pinocitosis

La LDL ingresa en las células a través de endocitosis **mediada por receptores**



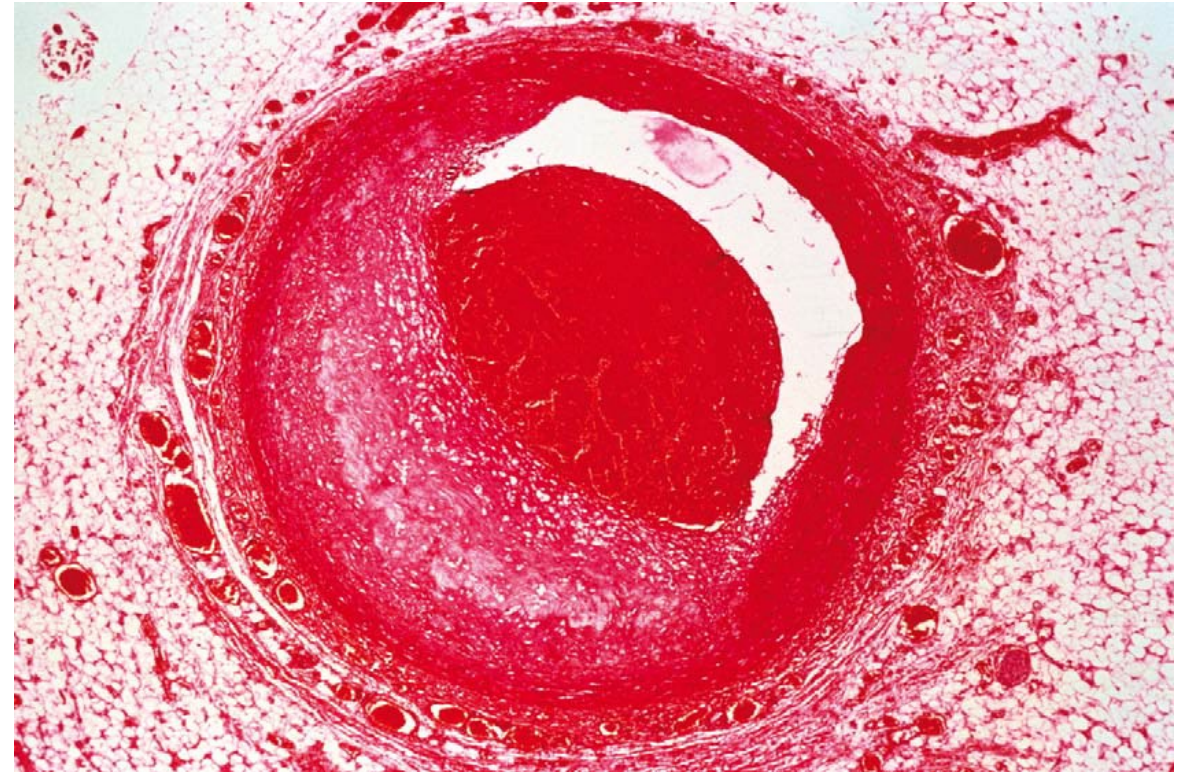
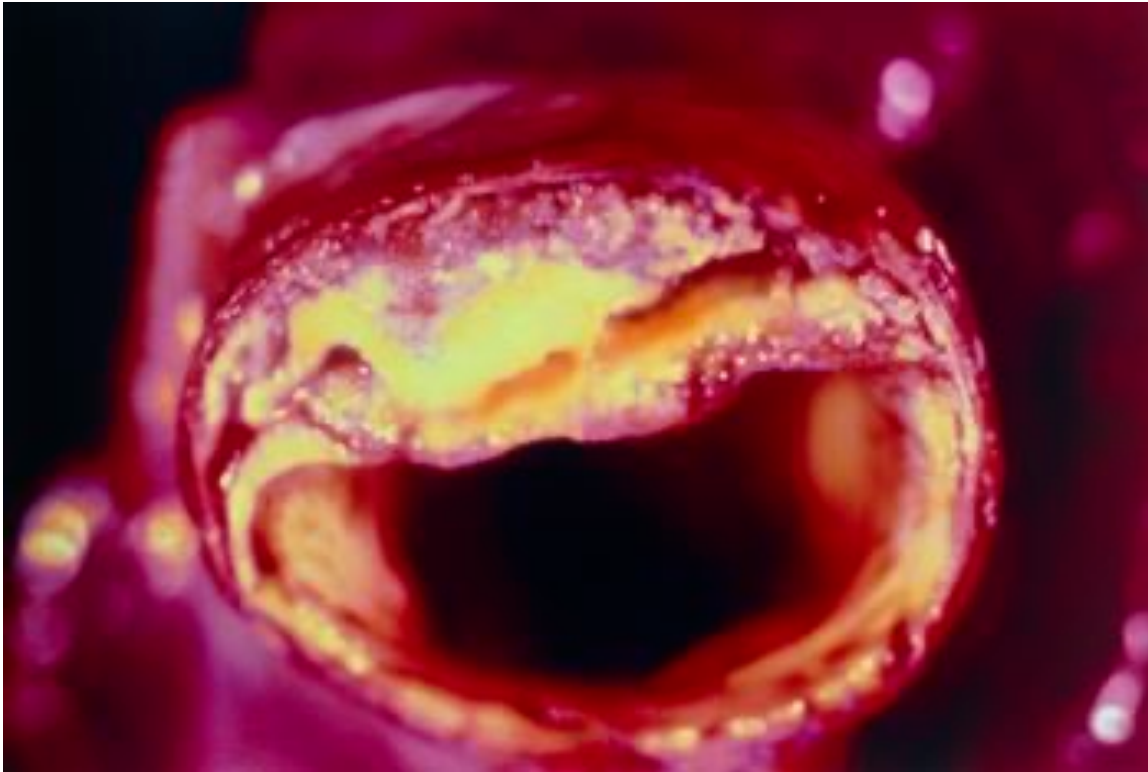
Endocitosis: Pinocitosis

Las mutaciones en el receptor de las LDL se asocian con **hipercolesterolemia familiar**



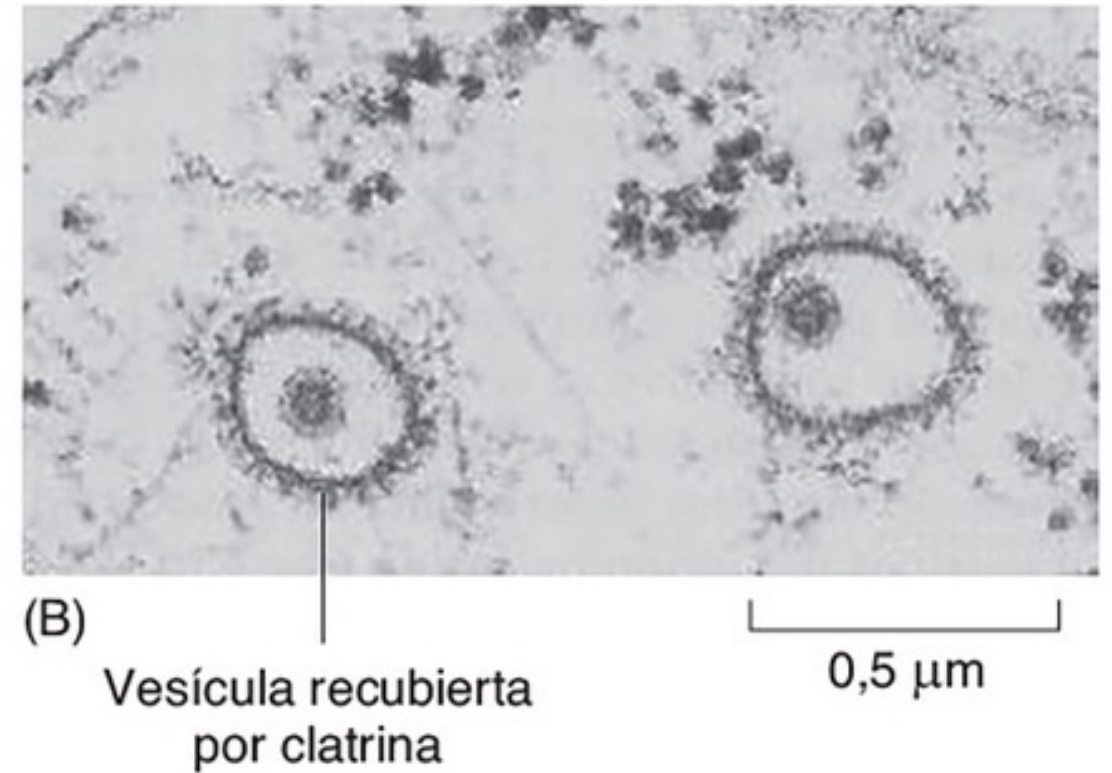
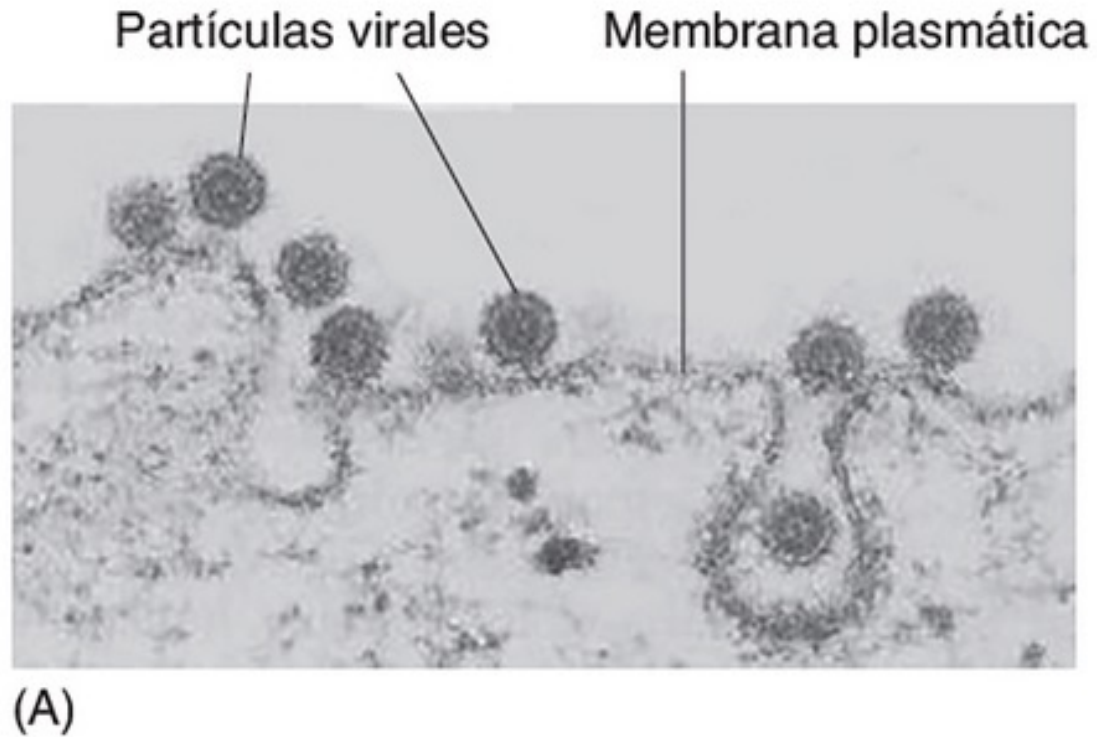
Endocitosis: Pinocitosis

Las mutaciones en el receptor de las LDL se asocian con hipercolesterolemia familiar



Endocitosis: Pinocitosis

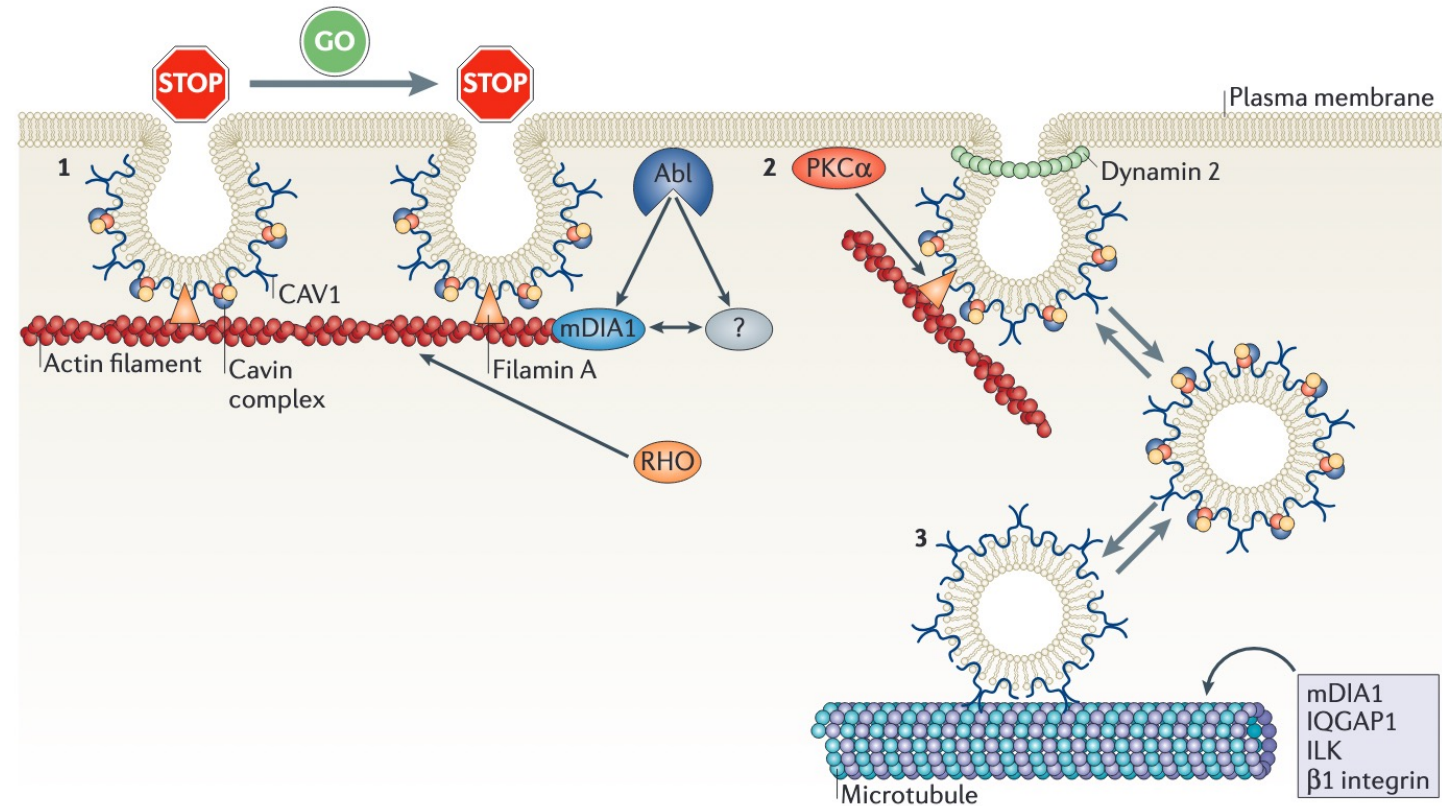
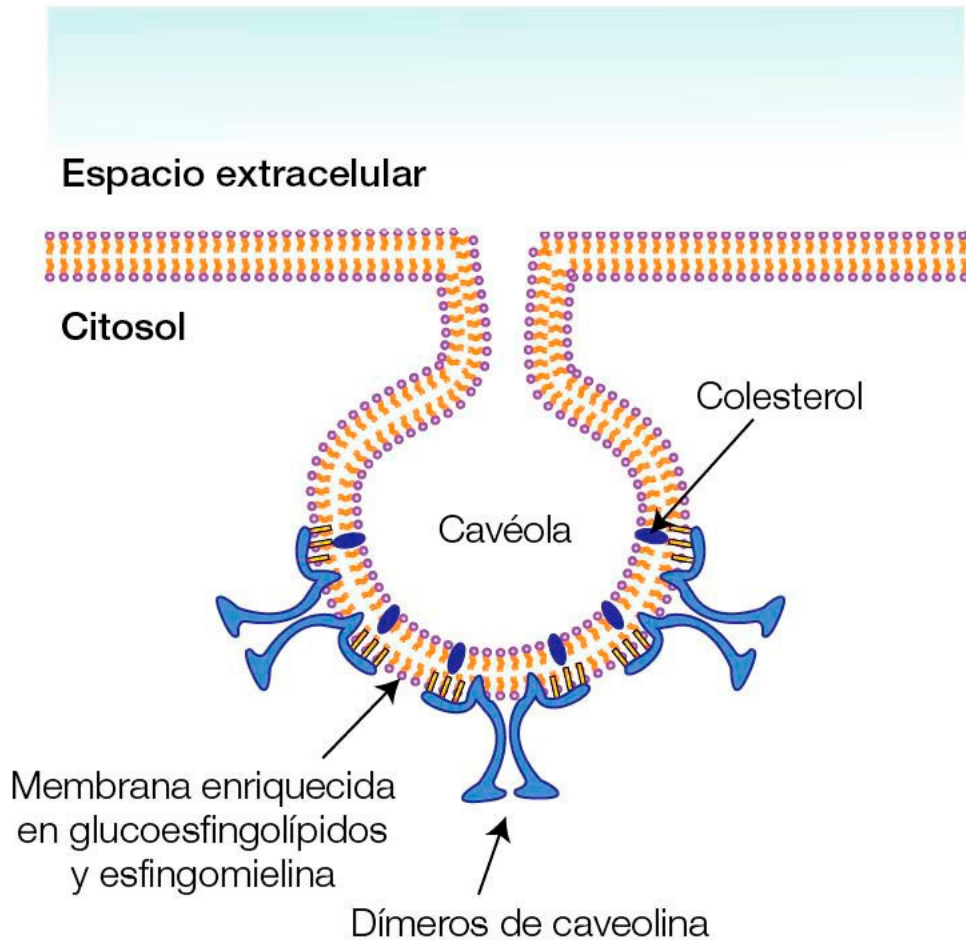
Los virus pueden ingresar en las células a través de endocitosis **mediada por receptores**



Endocitosis: Pinocitosis

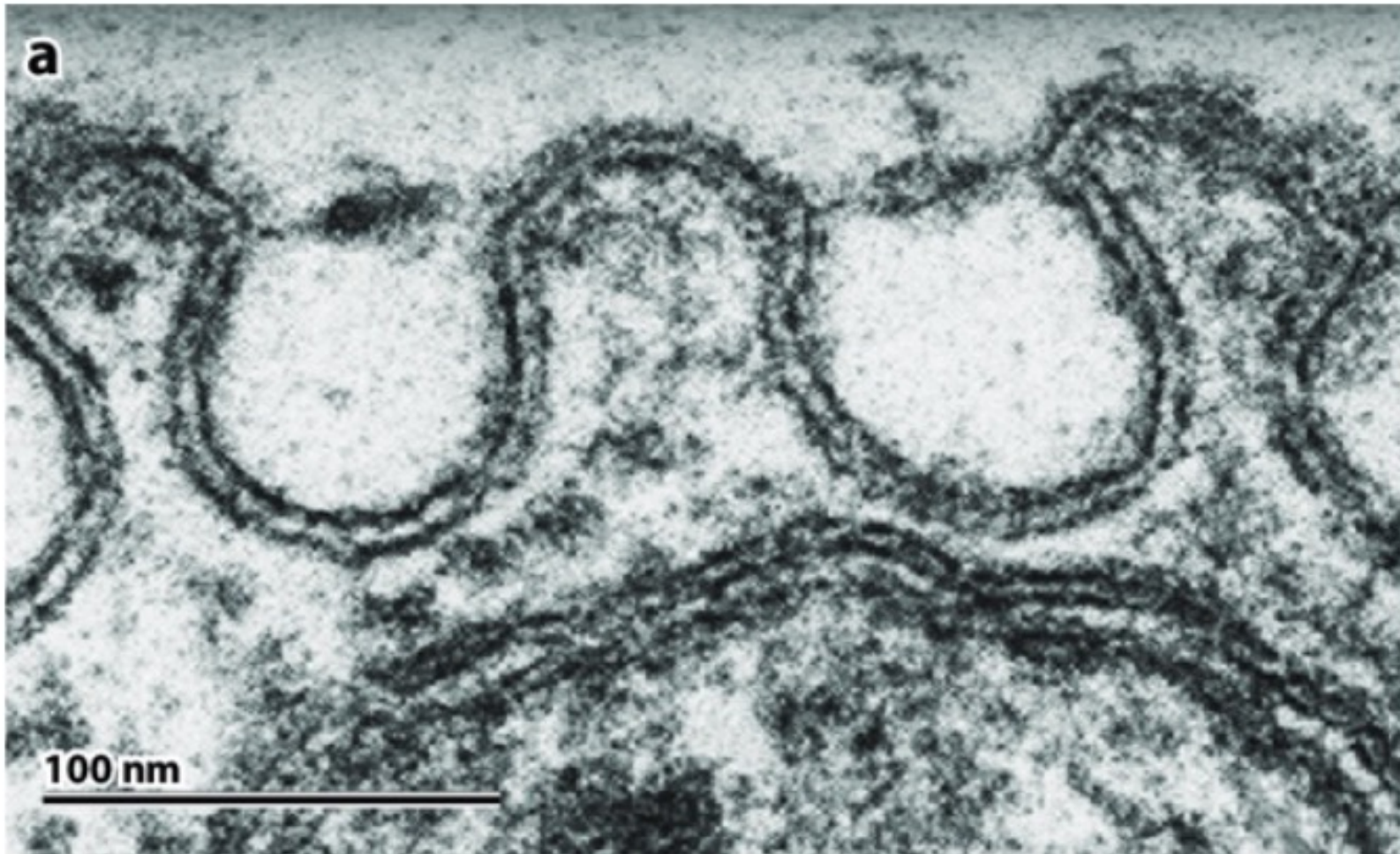
Las **caveolas** son invaginaciones de membrana entre 50-100 nm de diámetro, cuya principal proteína es la **caveolina**

A



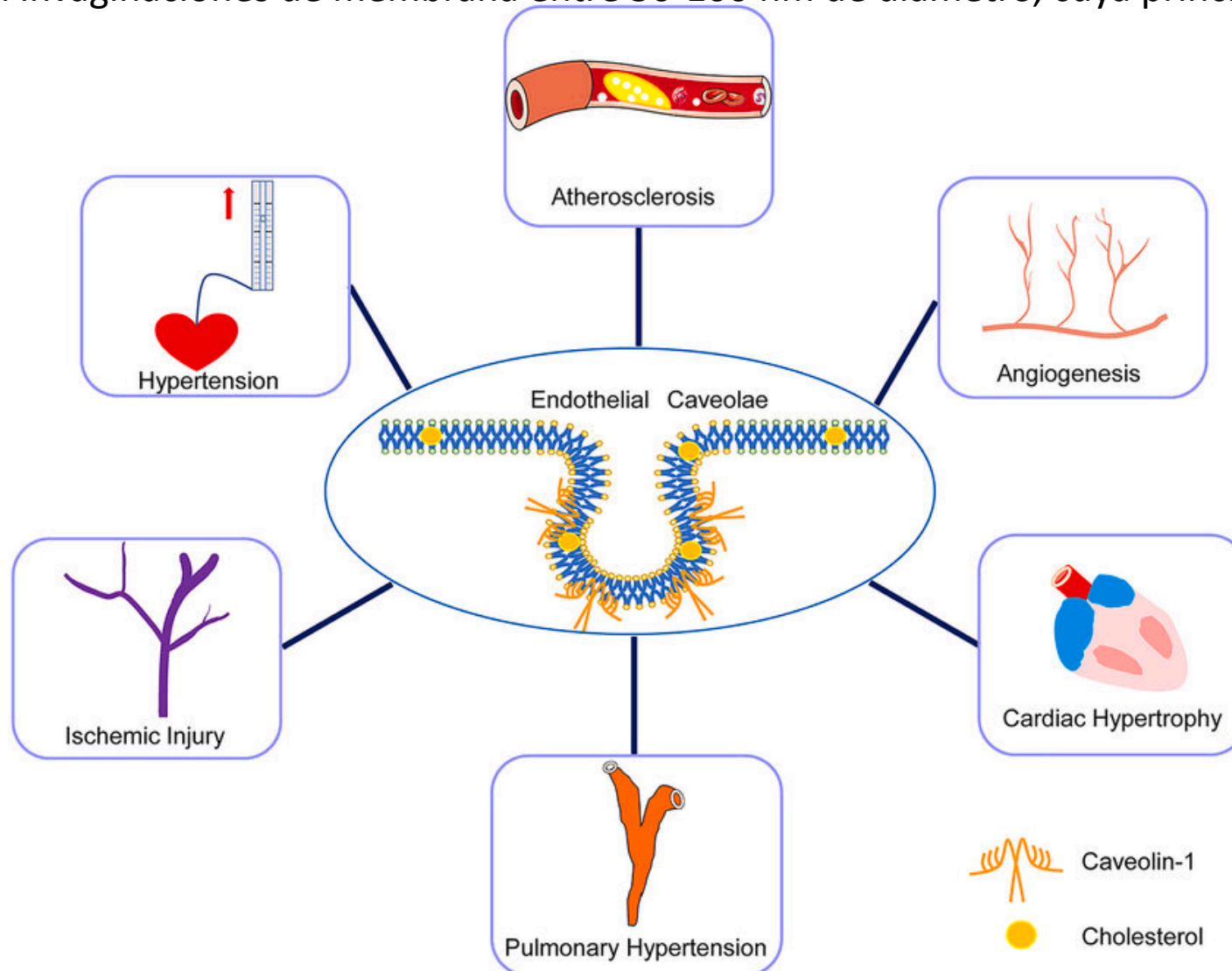
Endocitosis: Pinocitosis

Las **caveolas** son invaginaciones de membrana entre 50-100 nm de diámetro, cuya principal proteína es la **caveolina**



Endocitosis: Pinocitosis

Las **caveolas** son invaginaciones de membrana entre 50-100 nm de diámetro, cuya principal proteína es la **caveolina**





Universidad de Valladolid

Transporte de sustancias a través de la membrana

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

Especializaciones de la membrana. Uniones intercelulares

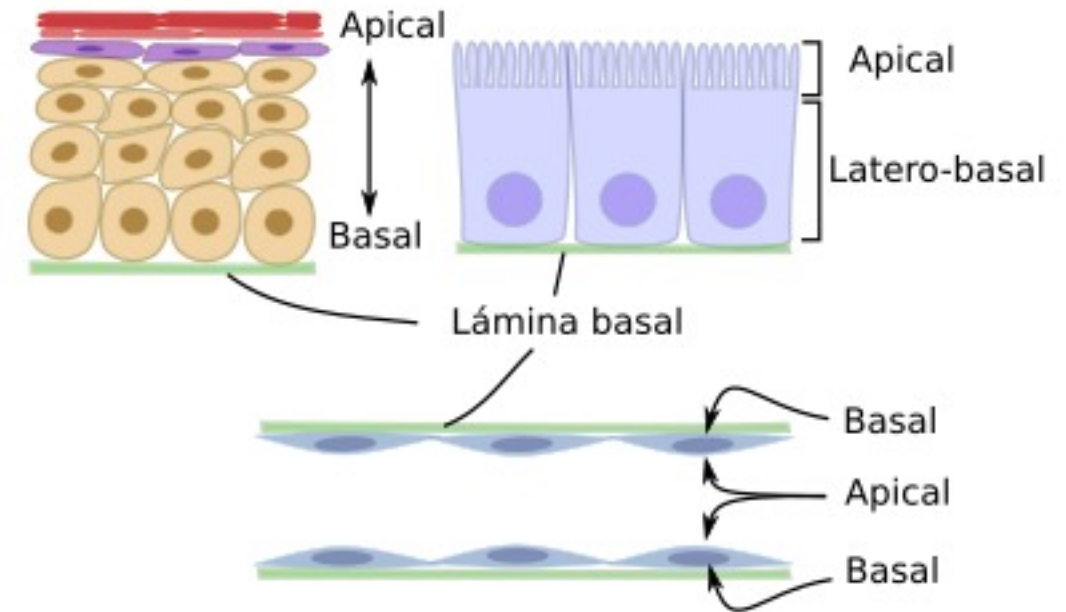
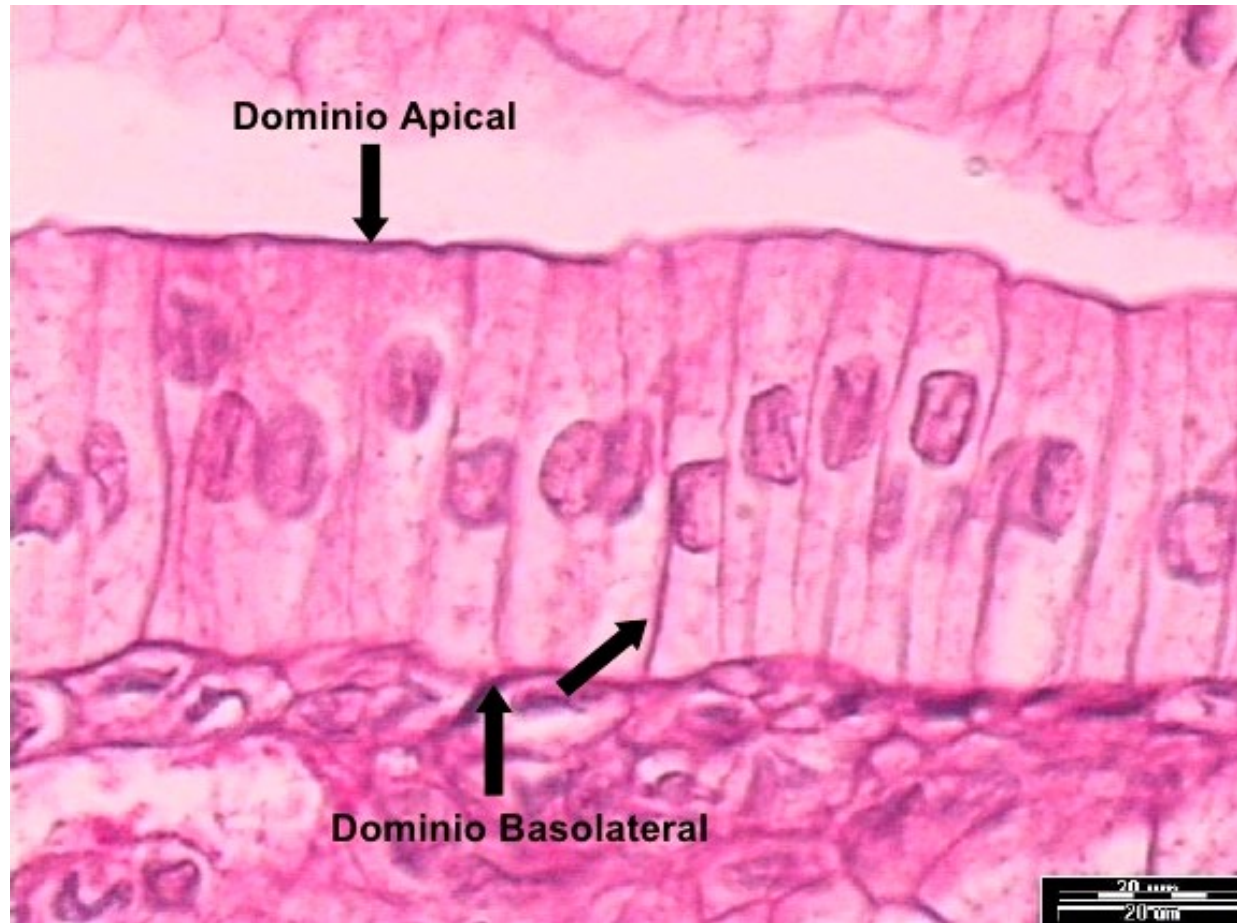
Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es

Especializaciones de la membrana plasmática

Las membranas en lugar de ser uniformes **tienen diferentes dominios que asumen diferentes funciones estructurales**



Las células epiteliales están polarizadas

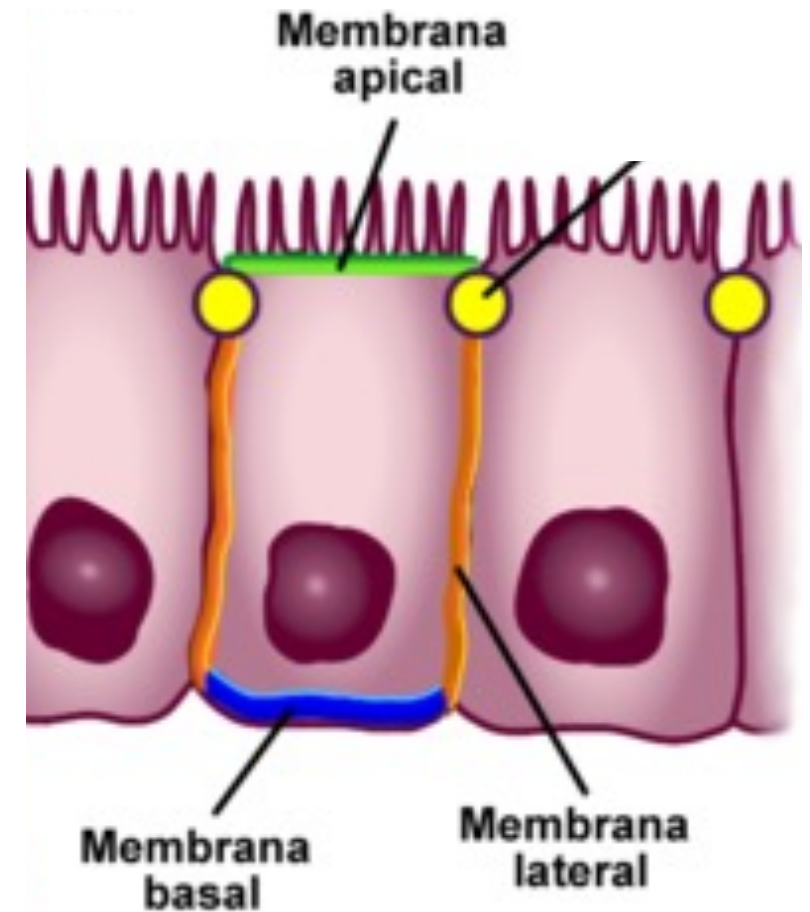
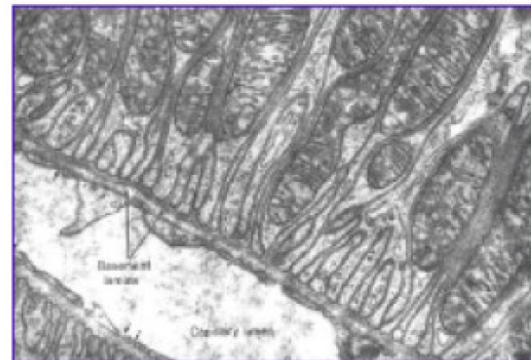
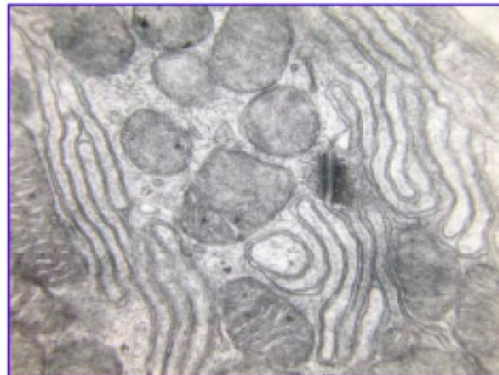
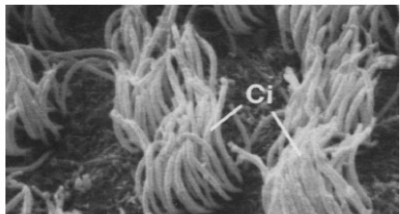
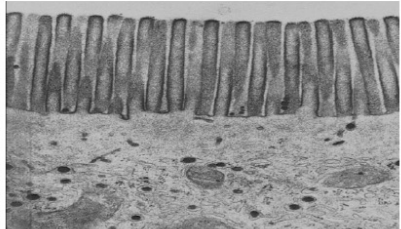
Especializaciones de la membrana plasmática

1- En la superficie: Microvellosidades, cilios y flagelos

2- En la zona de contacto:

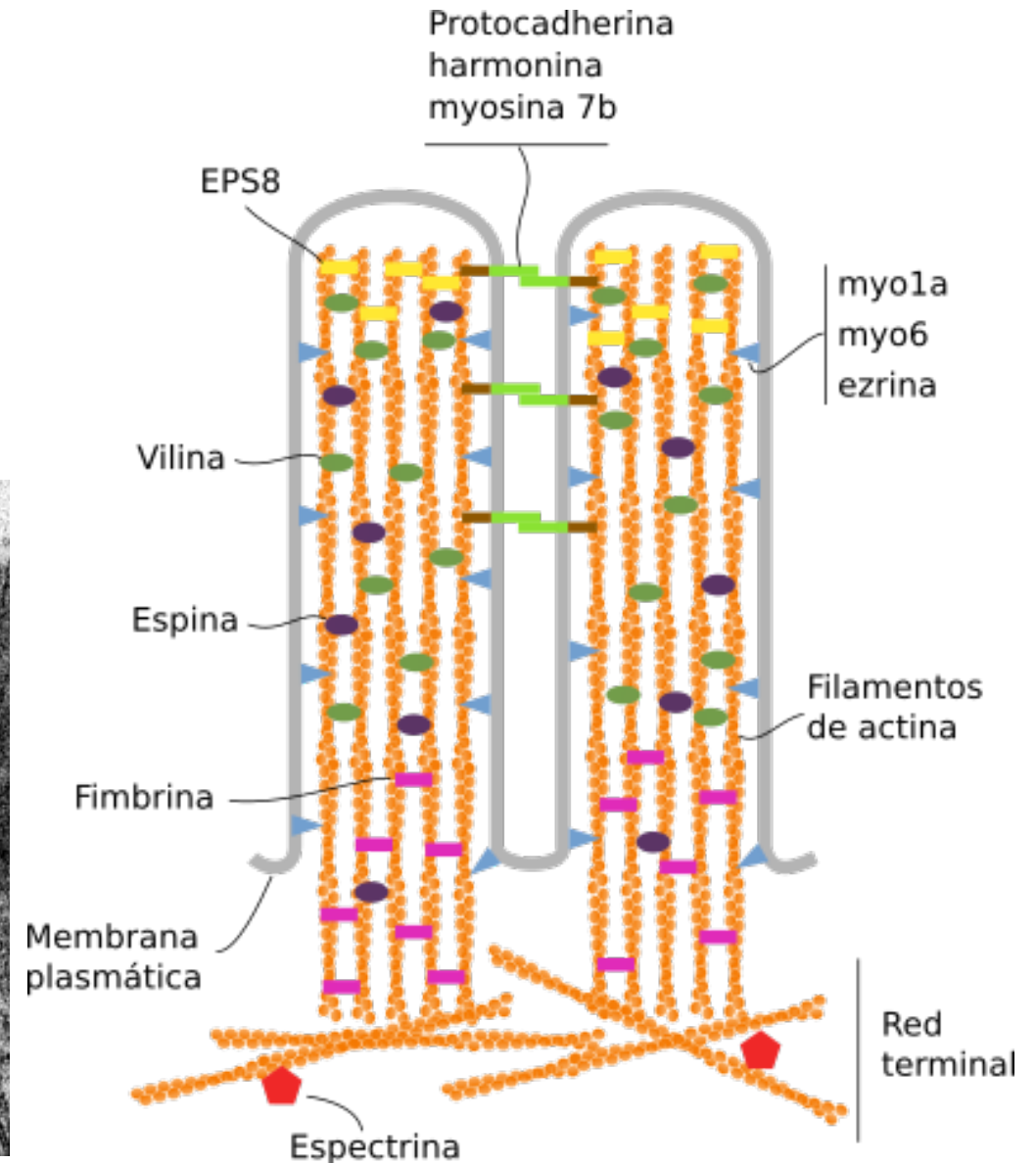
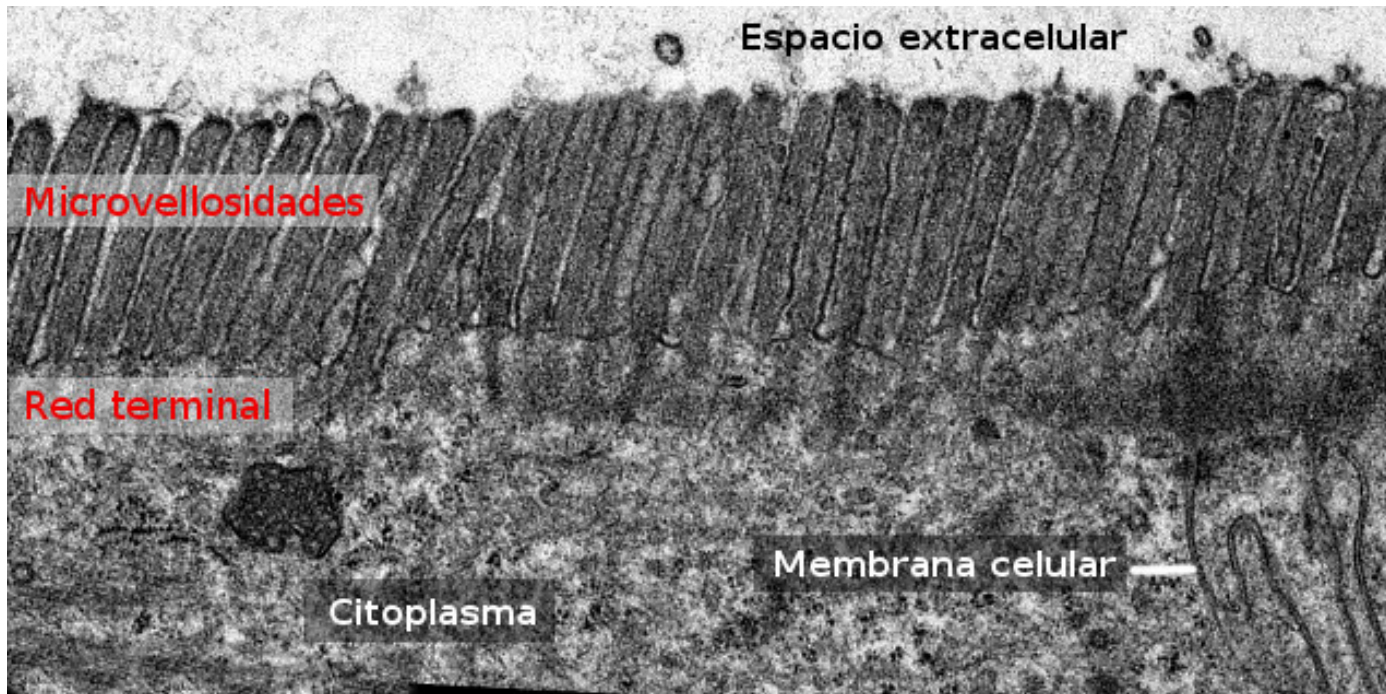
- Interdigitaciones laterales
- Laberintos o pliegues basales

3- Estructuras de unión célula-célula y célula-matriz

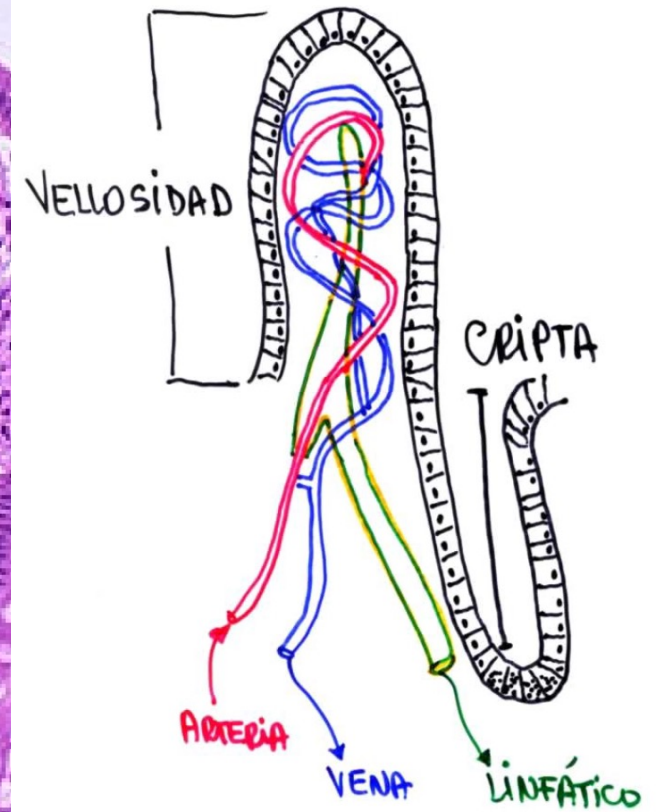


Microvellosidades

- Son protuberancias de la membrana
- Ampliaciones de la superficie
- Fundamentalmente absorción- enterocitos
- Estructura:
 - Haces de filamentos de actina
 - **Fimbrina** y vilina
 - Miosina: unión a membrana



Microvellosidades: aumentan superficie de absorción

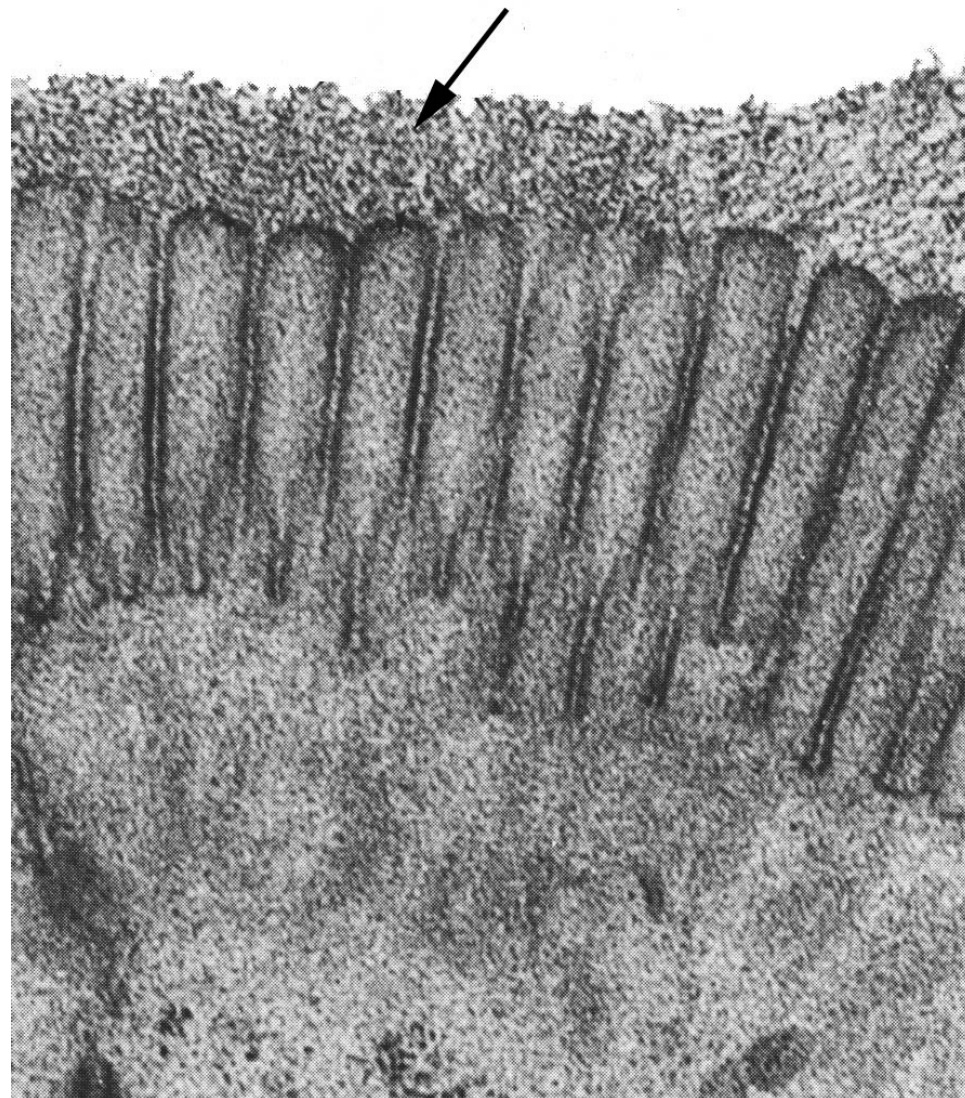


Microvellosidades

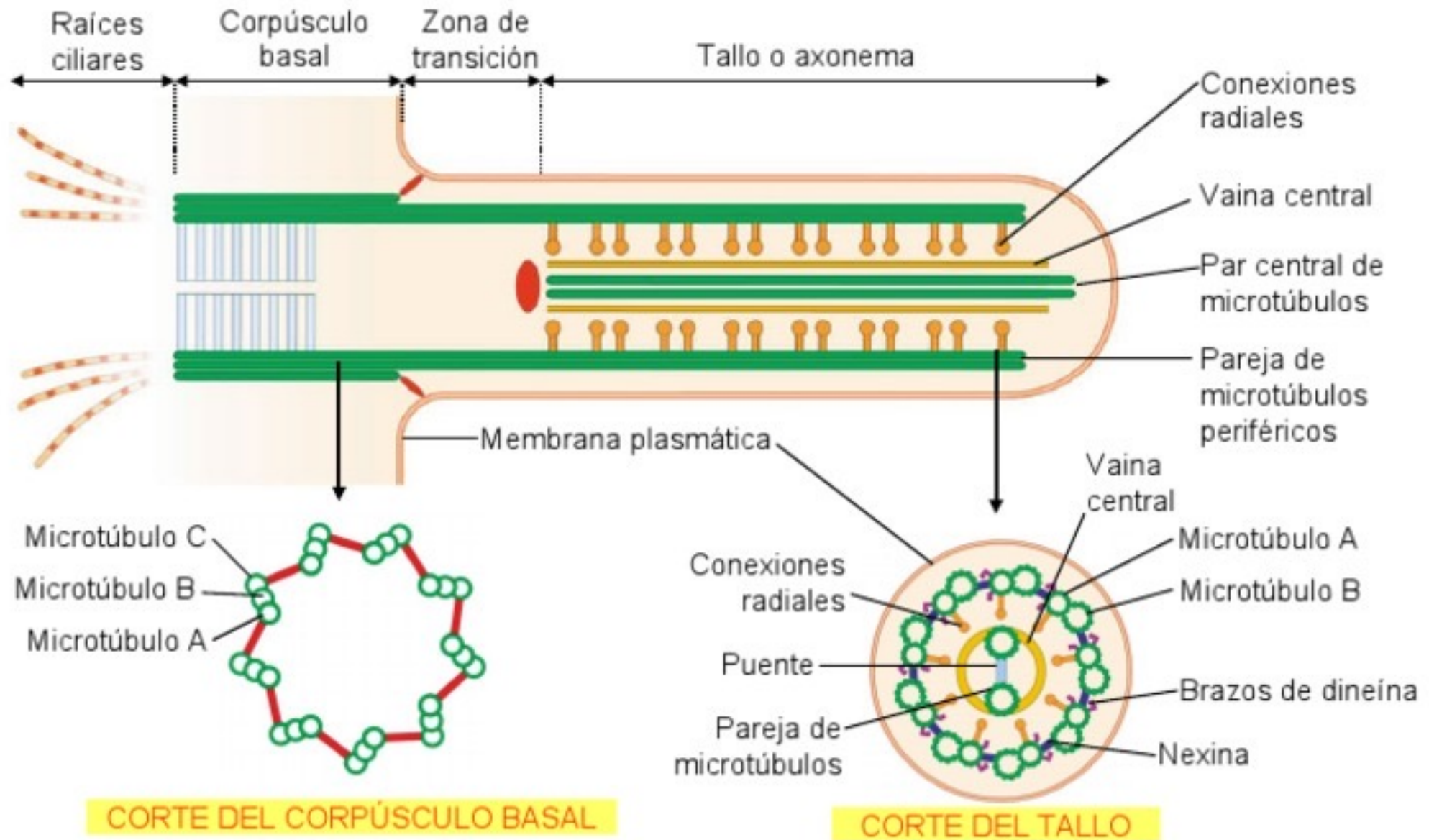
Tienen un glucocalix muy desarrollado. Tinción PAS



Glycocalyx

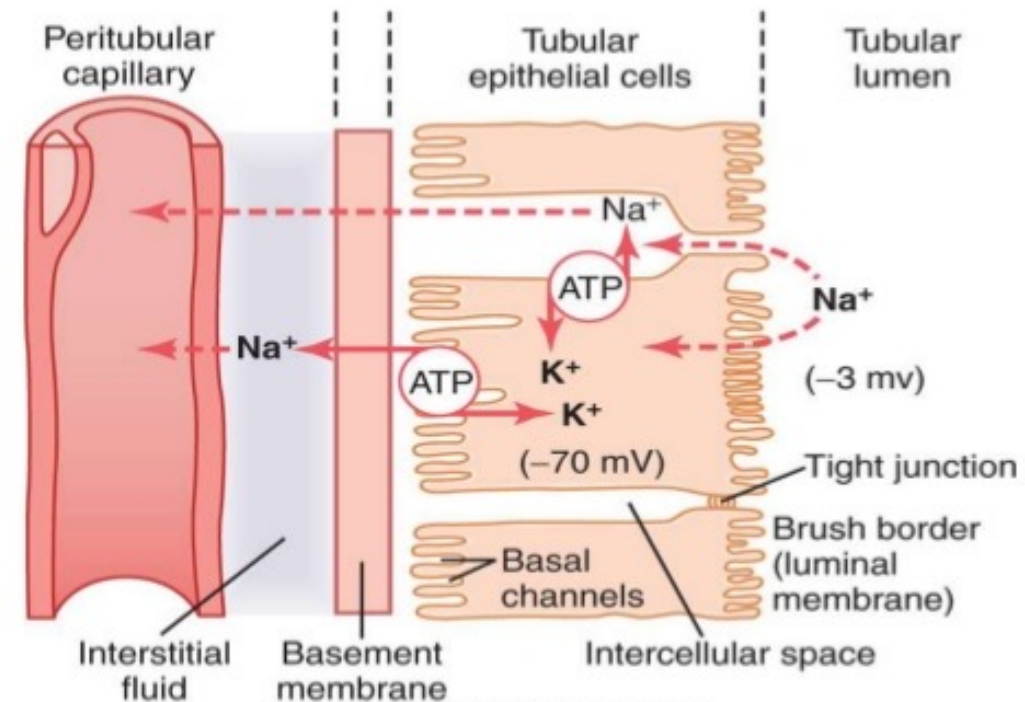
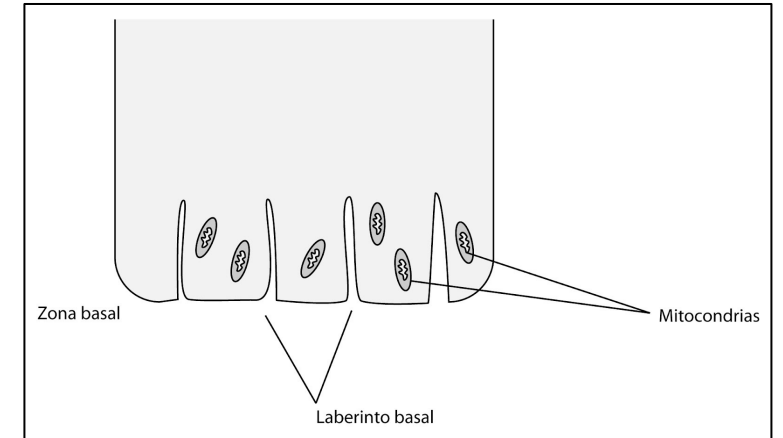
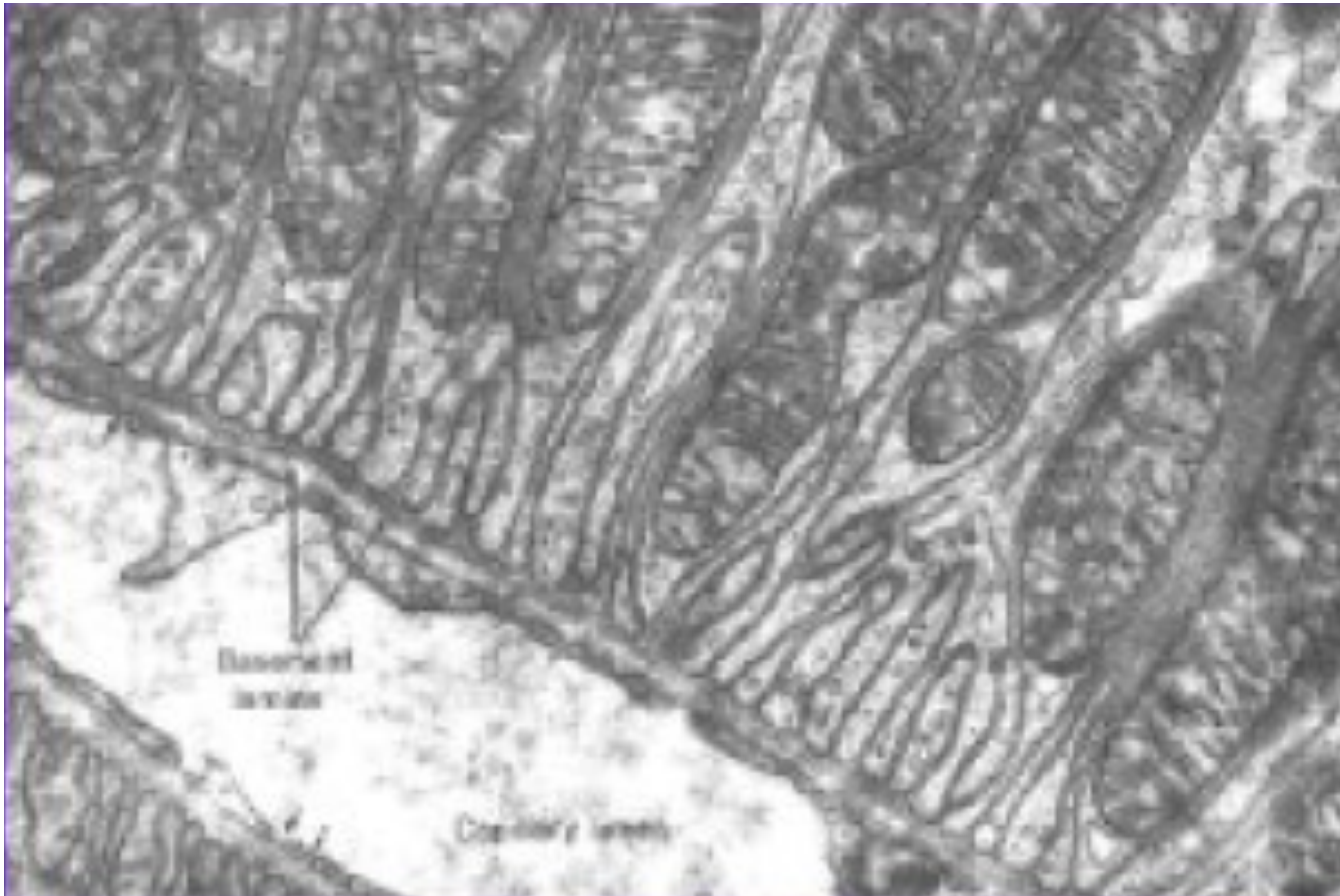


Cilios y flagelos



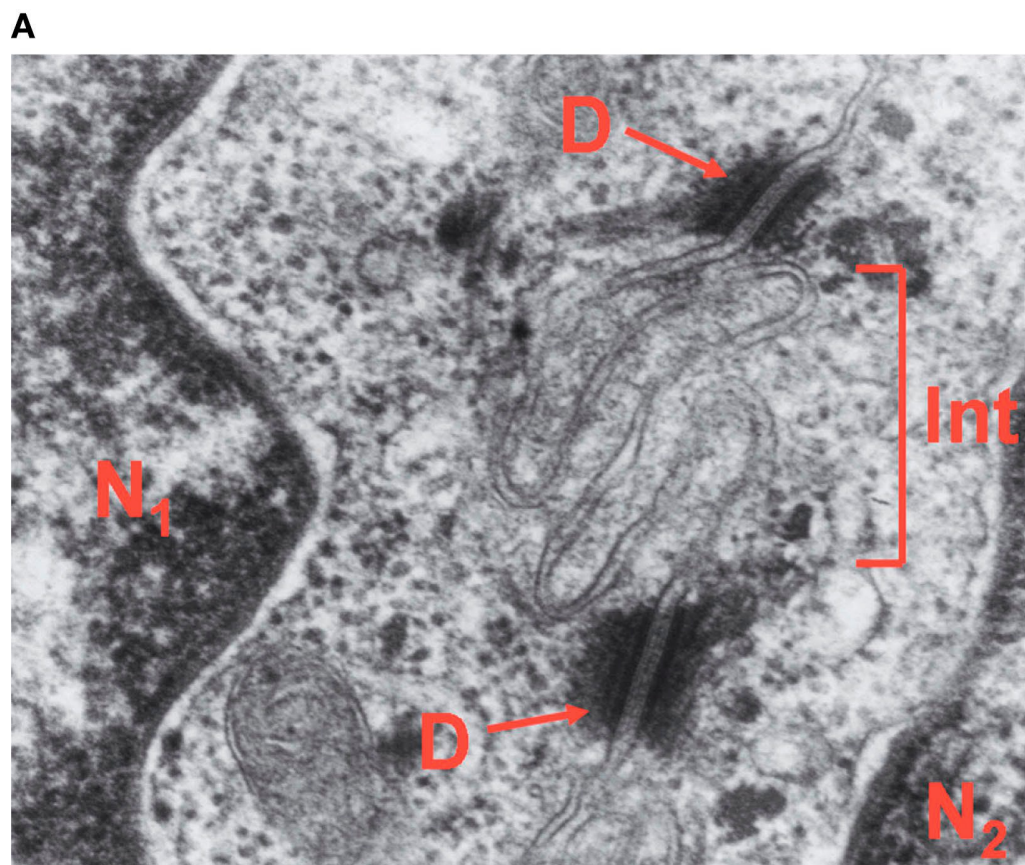
Laberinto o pliegues basales

- Grandes hendiduras en zona basal de la célula
- Destinadas a favorecer procesos de transporte activo
- Ricas en mitocondrias
- Abundantes en epitelios con intercambio de líquidos y electrolitos



Interdigitaciones laterales

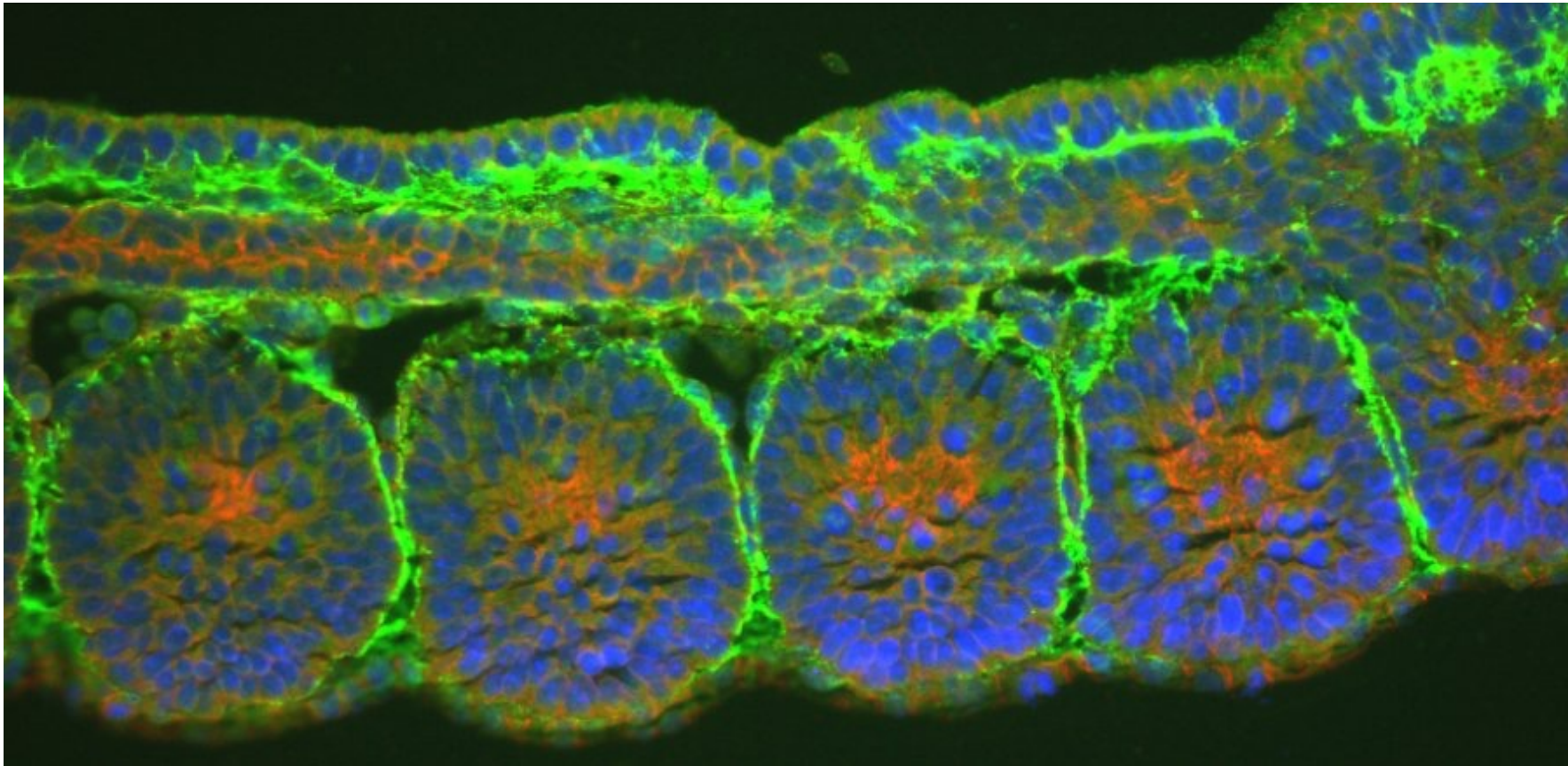
Pliegues de membrana cuya función es aumentar la adhesión entre las células.



Uniones de anclaje celular

Las células se adhieren entre si y con la MEC a través de **MOLÉCULAS DE ADHESIÓN CELULAR**

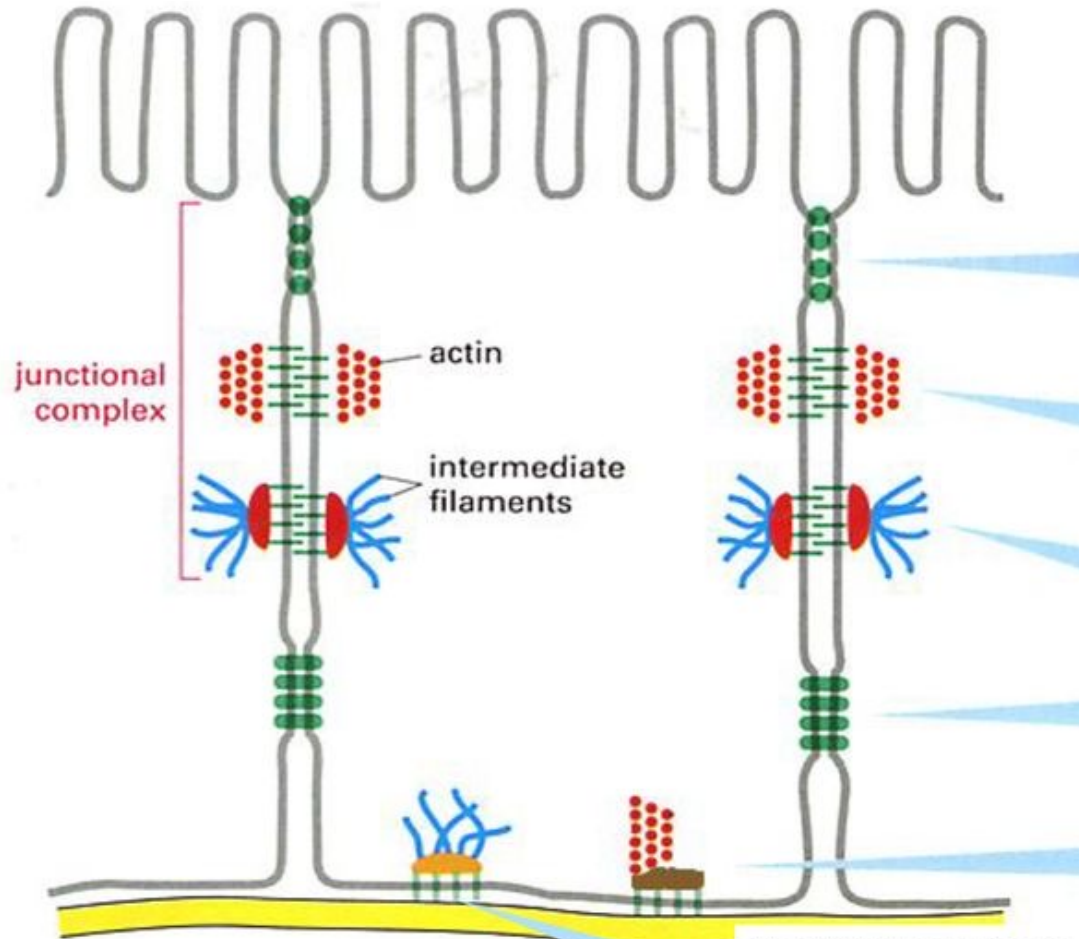
Transitorias vs. Estables



Uniones de anclaje celular

Tipo de moléculas de adhesión celular	Unión homo-heterófila	Tipos de interacciones	Unión estable/transitoria
Homodímeros de <u>cadherina</u>	Homófila	Célula-célula	Unión estables (cinturones de adhesión y desmosomas)
Heterodímeros de <u>integrina</u>	Heterófila con laminina y fibronectina	Célula-MEC	Unión estable (hemidesmosomas) o transitoria (adhesiones focales)
Monómeros de <u>selectina</u>	Heterófila con oligosacáridos de IgSF-CAM o glucolípidos	Célula-célula	Unión transitoria (extravasación de leucocitos)
IgSF-CAM (<u>ICAM</u>)	Homófila/Heterófila con selectinas e integrinas.	Célula-célula	Unión transitoria (extravasación de leucocitos)
Heterodímeros de <u>integrina</u>	Heterófila con IgSF-CAM	Célula-célula	Unión transitoria (extravasación de leucocitos)

Uniones de anclaje celular



Uniones oclusivas: Sella la unión entre dos células vecinas. (*Claudinas*).

Uniones adherentes: Unen los haces de actina de una célula a los de la adyacente (*Cadherinas*).

Desmosomas: Unen los filamentos intermedios de una célula a los de la adyacente (*Cadherinas*).

Uniones comunicantes: Permiten el paso de iones y pequeñas moléculas hidrosolubles (*Conexinas*).

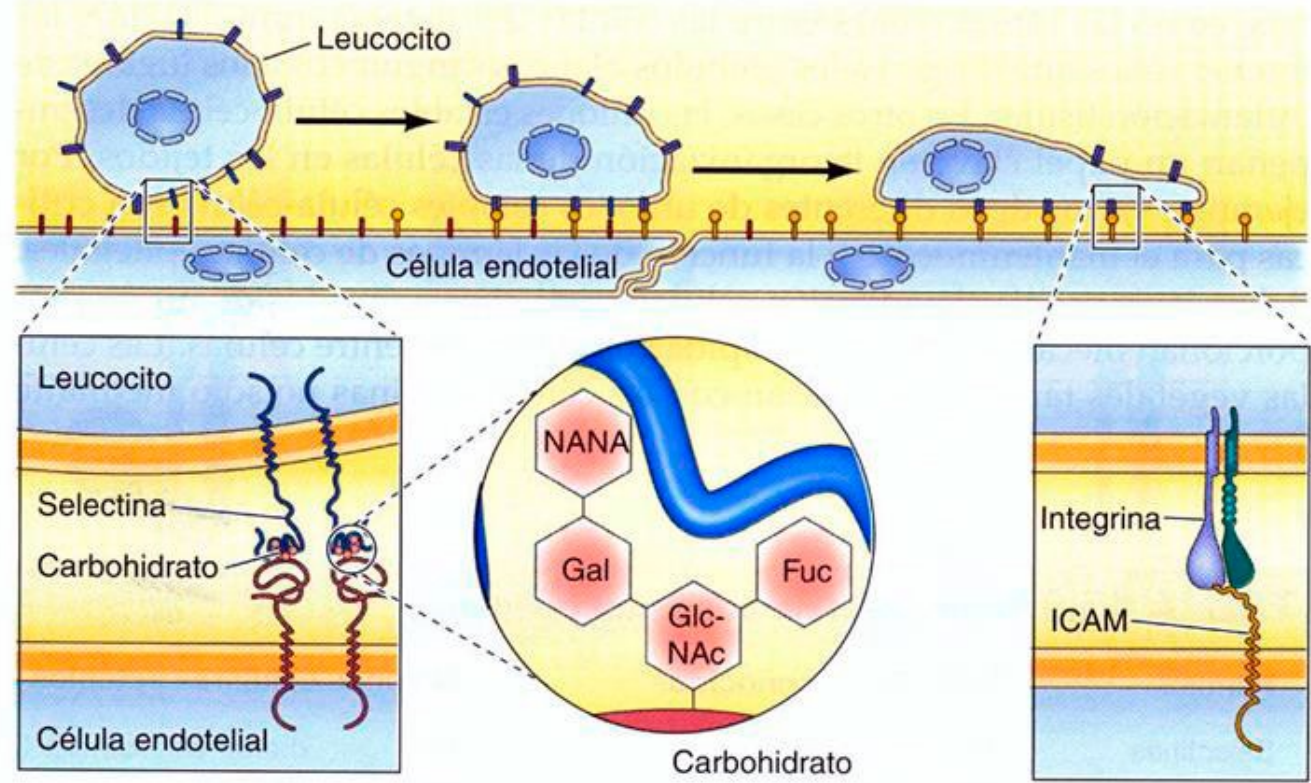
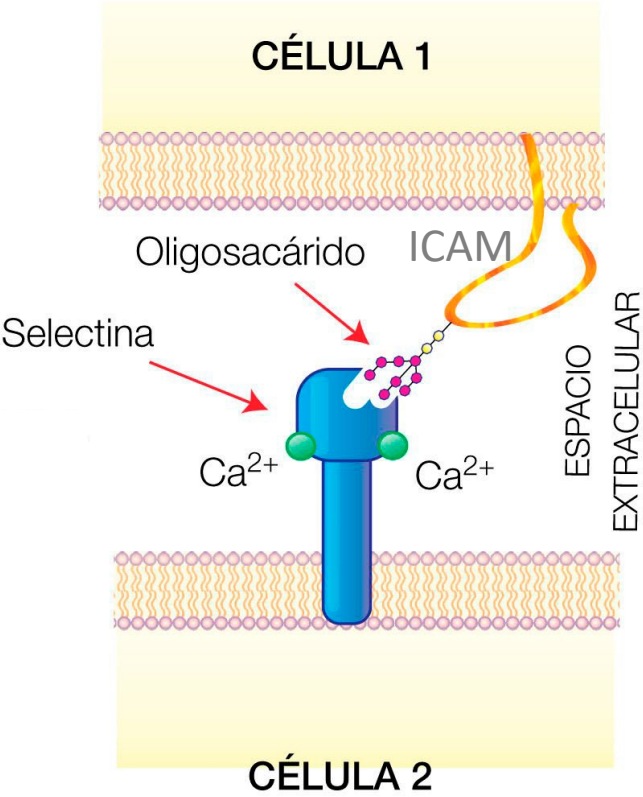
Adhesiones focales: Unen los filamentos de actina de las fibras de estrés a la matriz extracelular. (*Integrinas*)

Hemidesmosomas: Unen los filamentos intermedios a la matriz extracelular. (*Integrinas*)

Zónula vs. Mácula

Uniones de anclaje celular: SELECTINAS

Son **dependientes de calcio** con afinidad para unirse a hidratos de carbono de otras células



Monómeros de **selectina**

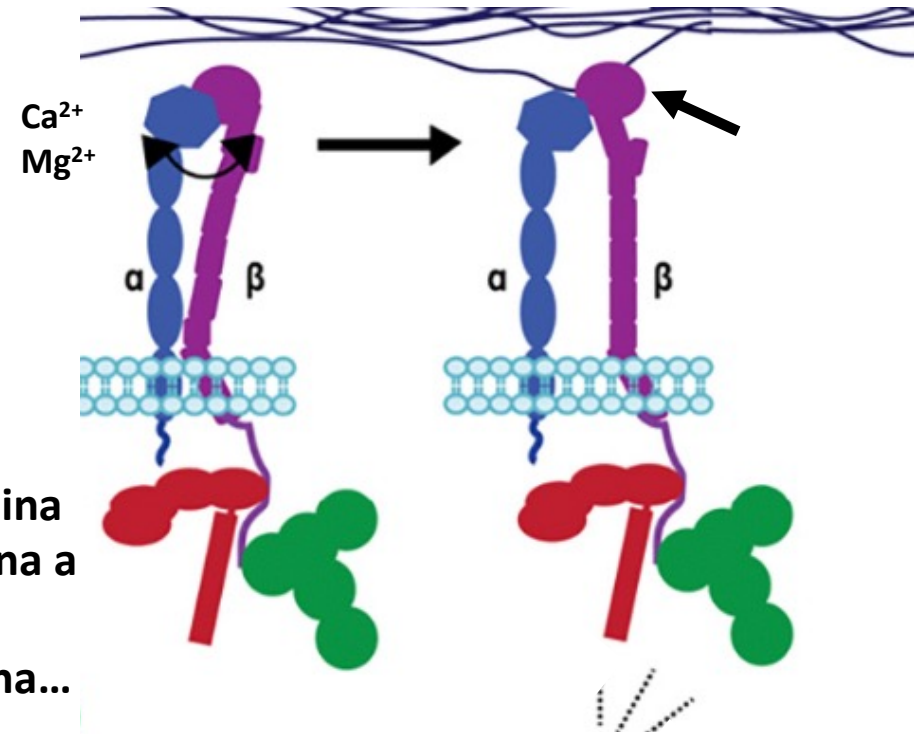
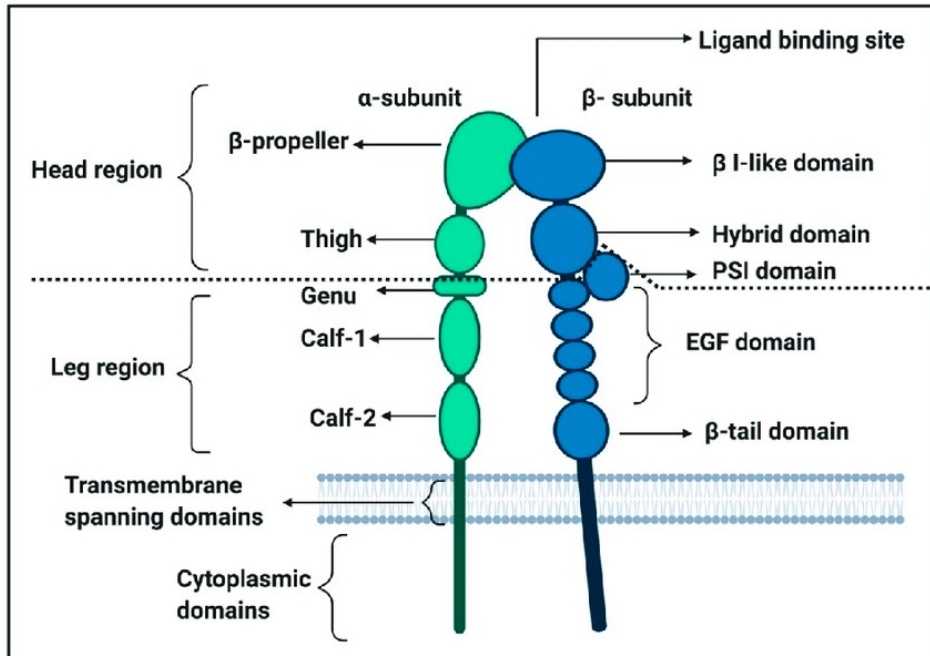
Heterófila con oligosacáridos de IgSF-CAM o glucolípidos

Célula-célula

Unión transitoria (extravasación de leucocitos)

Uniones de anclaje celular: INTEGRINAS

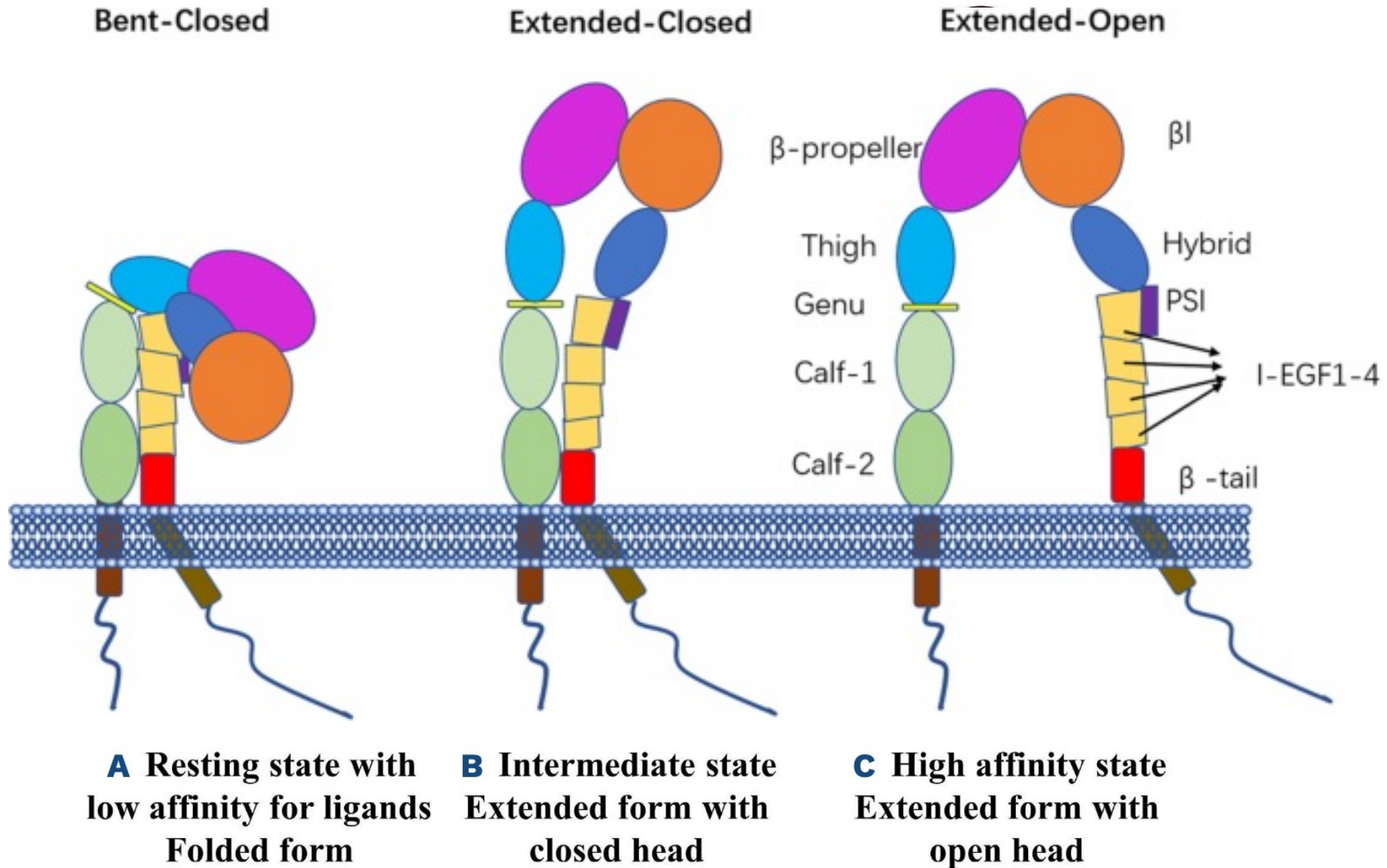
Participan en la adhesión permanente o transitoria célula-MEC o célula-célula (transitoria).



- Vinculina
- Actinina a
- Talina
- Plectina...

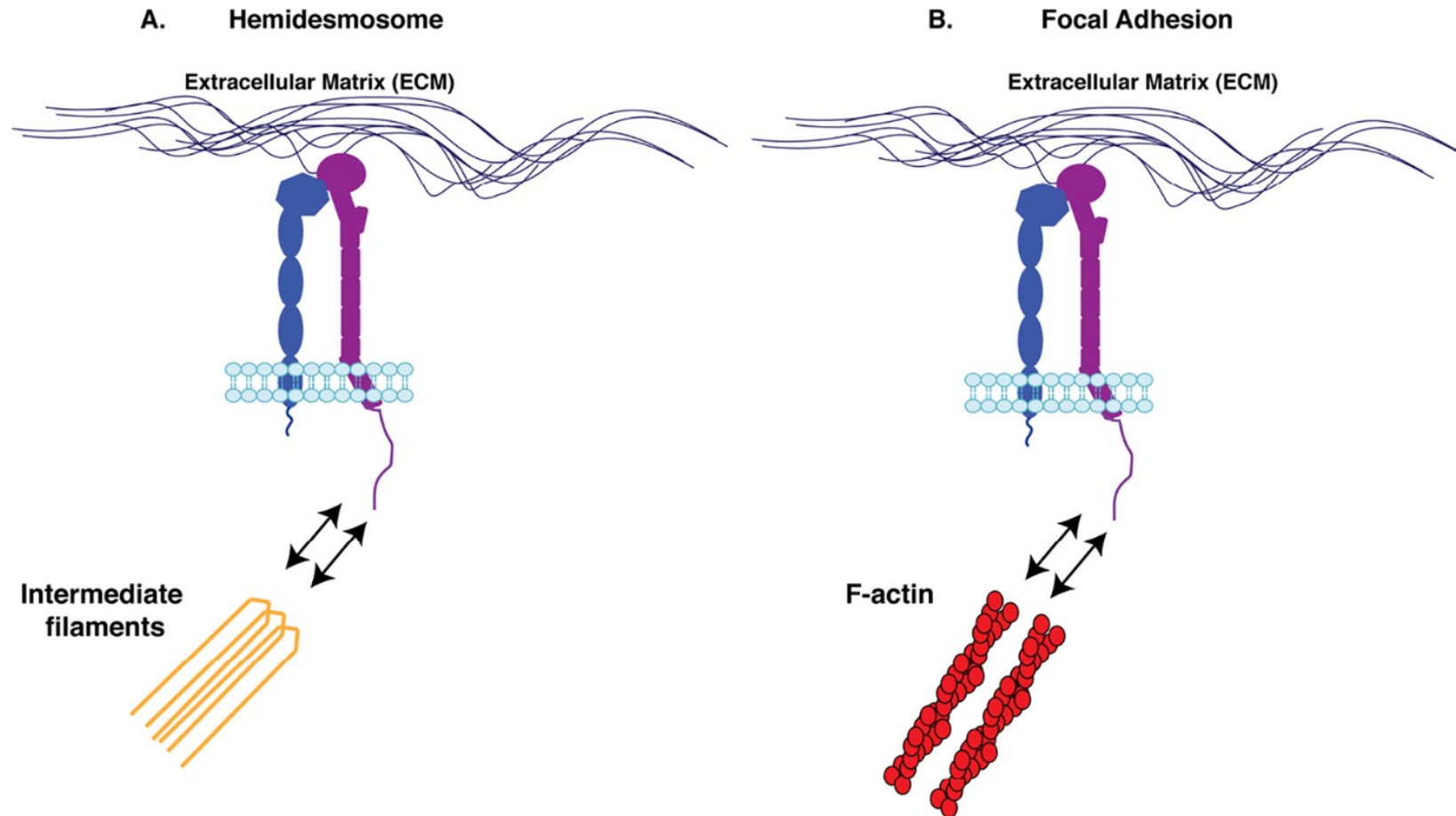
Filamentos de actina
Filamentos intermedios de queratina

Uniones de anclaje celular: INTEGRINAS



Uniones de anclaje celular: INTEGRINAS

Las integrinas forman parte de los hemidesmosomas y de las adhesiones focales



Heterodímeros de
integrina

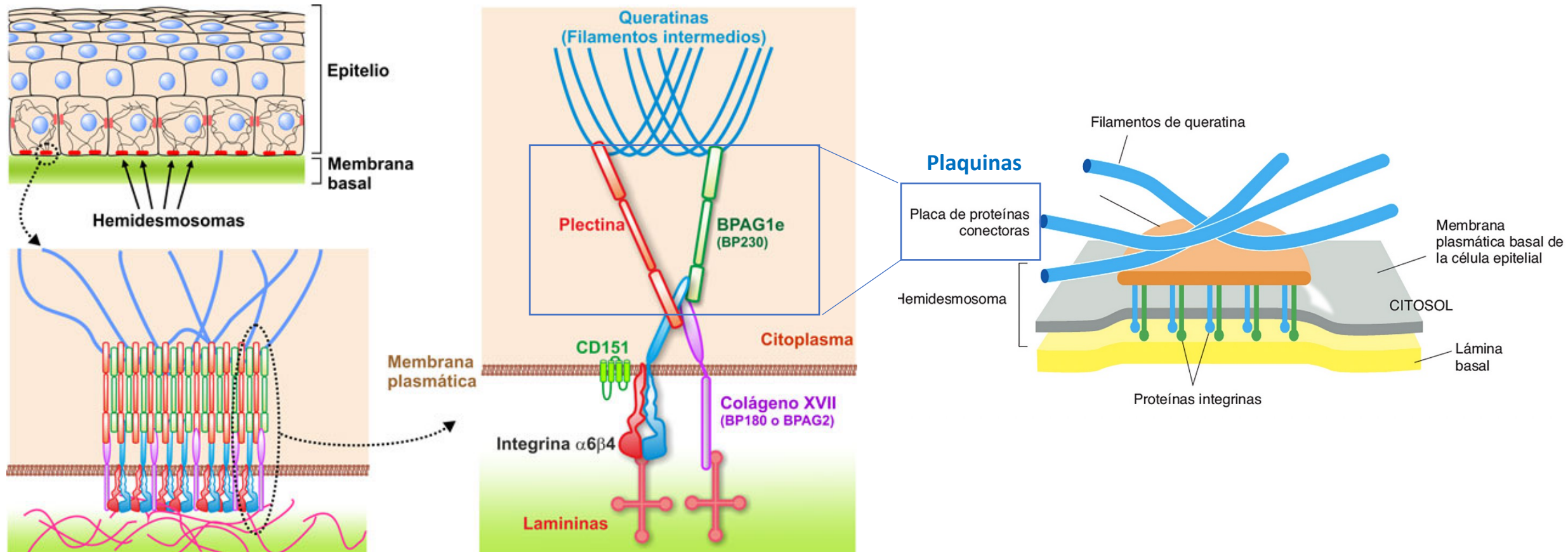
Heterófila con laminina y
fibronectina

Célula-MEC

Unión estable
(hemidesmosomas) o
transitoria (adhesiones
focales)

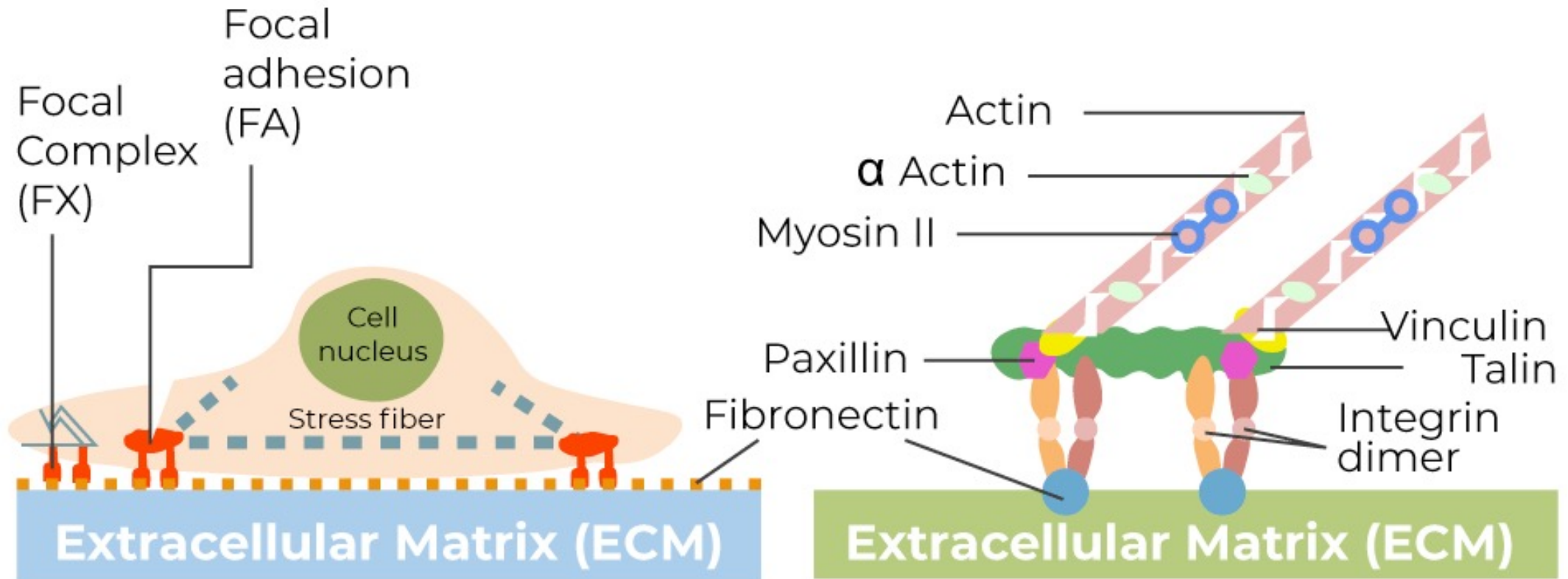
Uniones de anclaje celular: INTEGRINAS

Los hemidesmosomas se sitúan en la parte basal de las células: aumentan la estabilidad global de los tejidos



Uniones de anclaje celular: INTEGRINAS

Las células migratorias se unen a la MEC mediante adhesiones focales



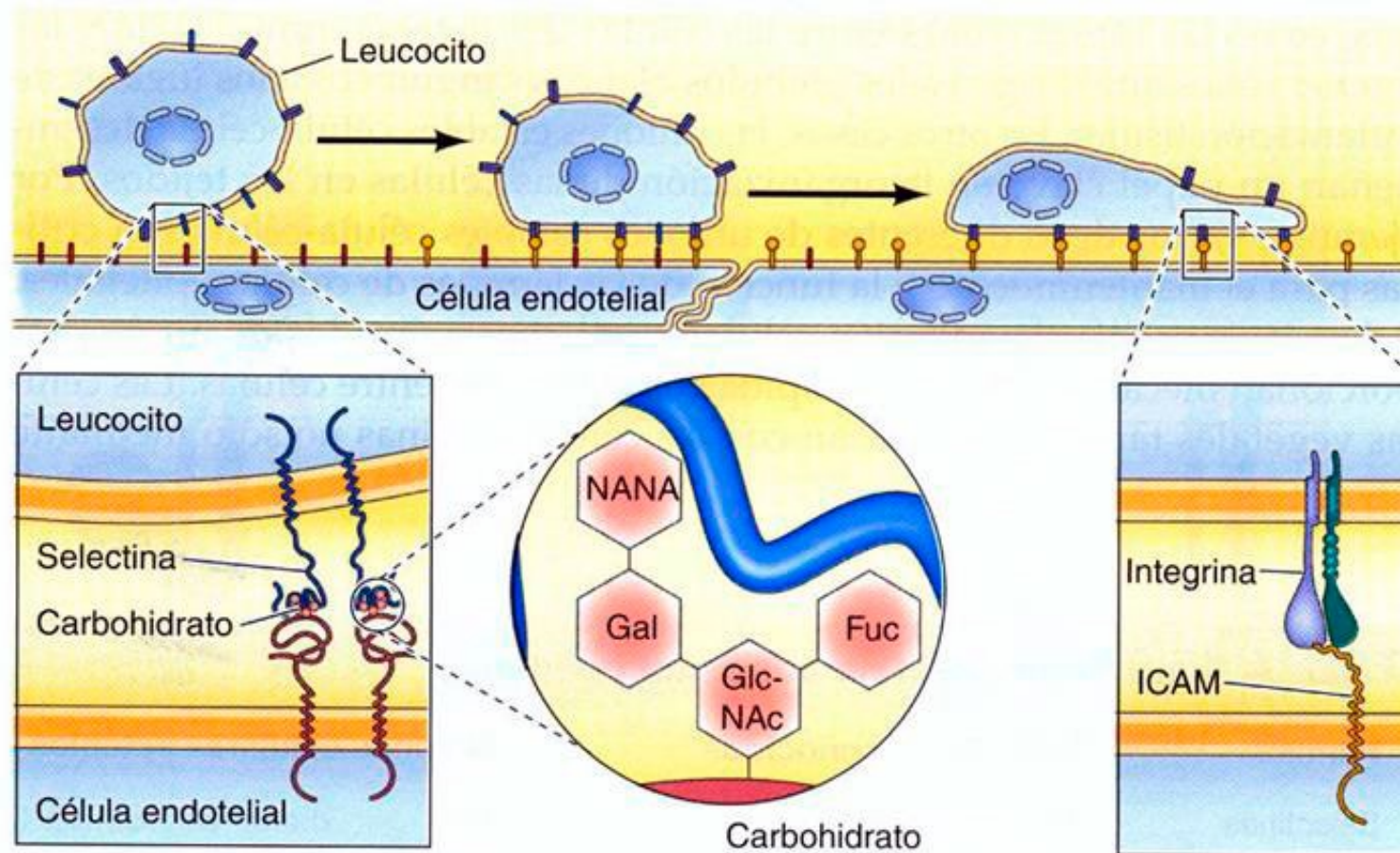
Uniones de anclaje celular: INTEGRINAS

Heterodímeros de
integrina

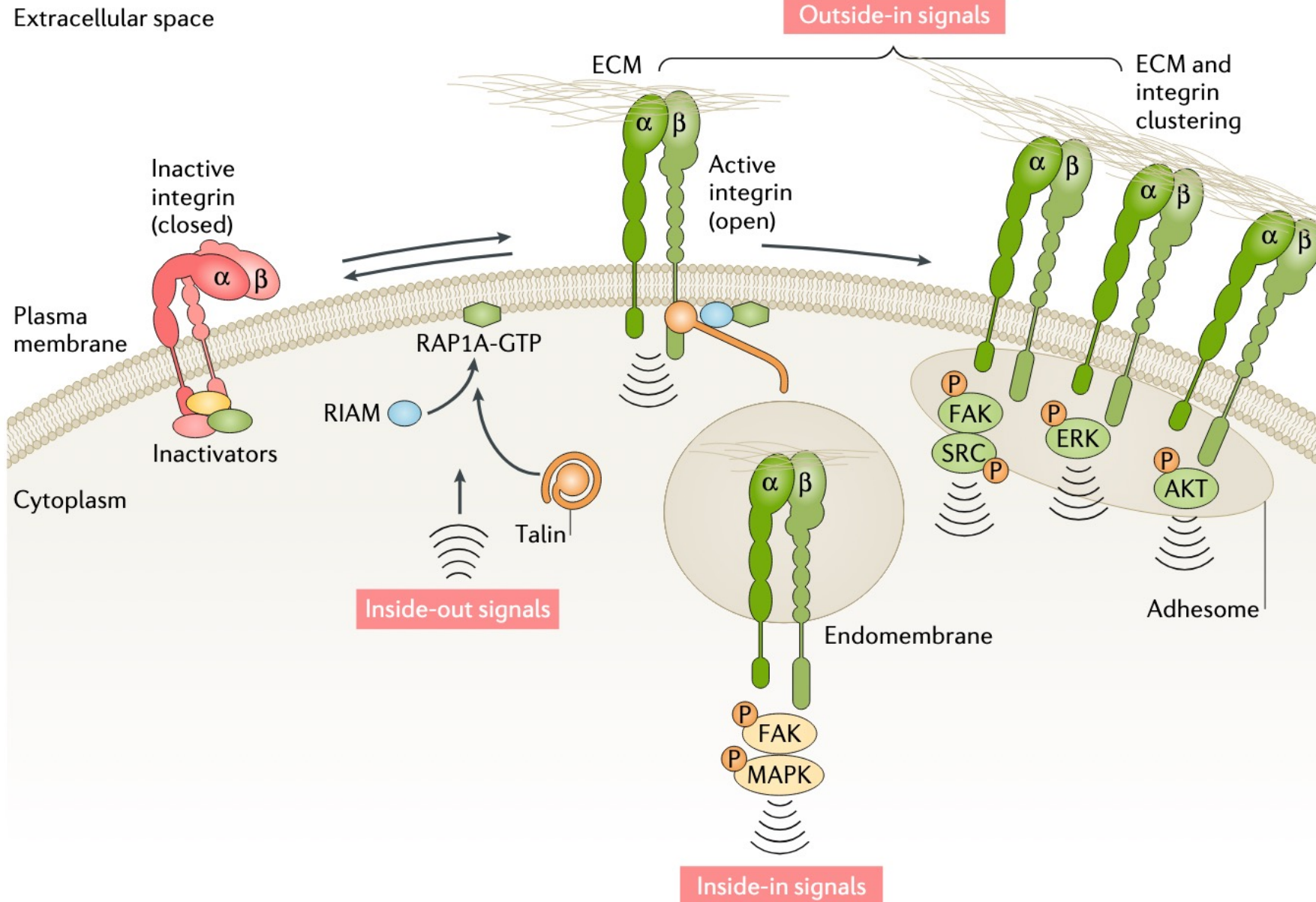
Heterófila con IgSF-CAM

Célula-célula

Unión transitoria
(extravasación de leucocitos)

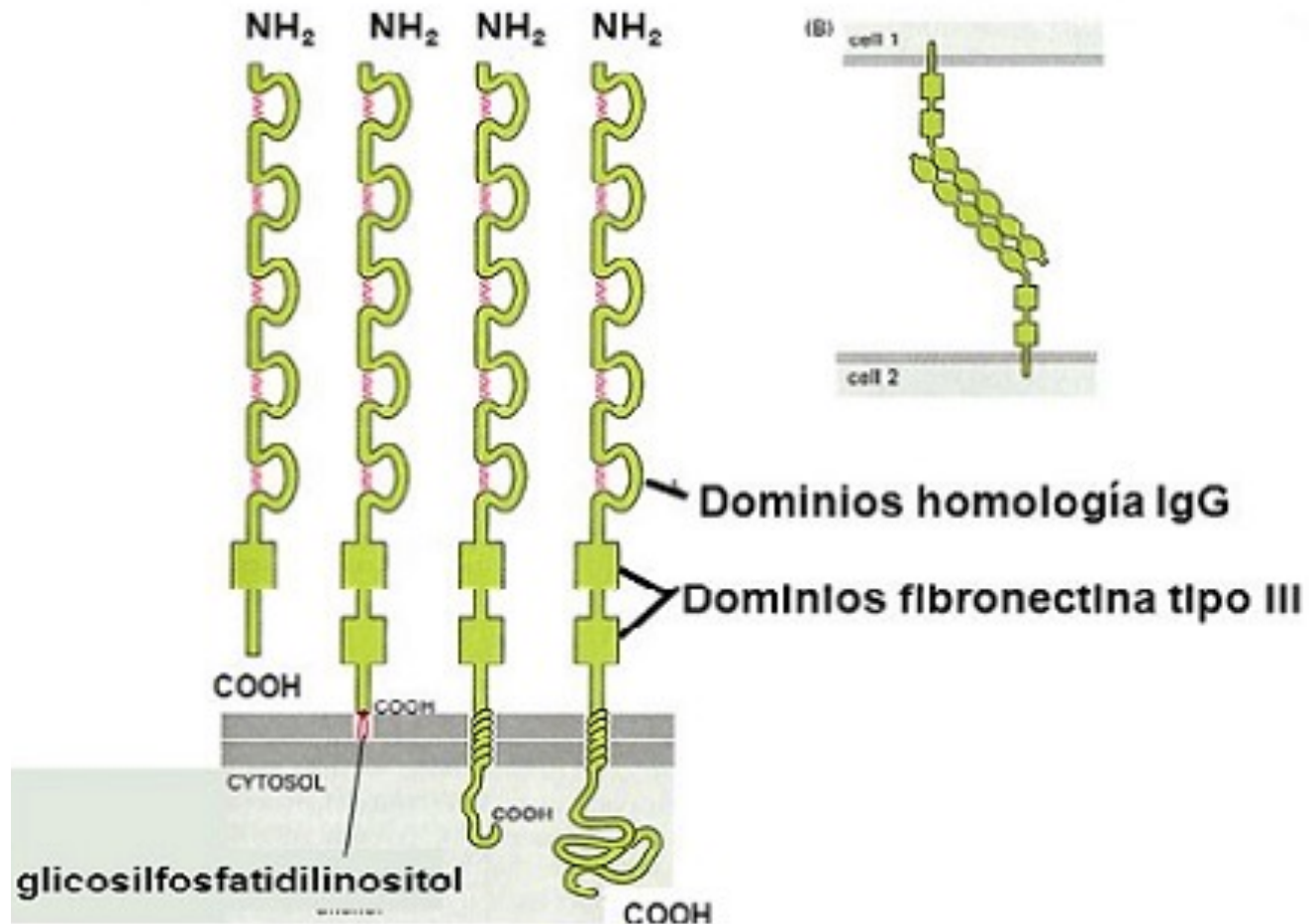


Uniones de anclaje celular: INTEGRINAS



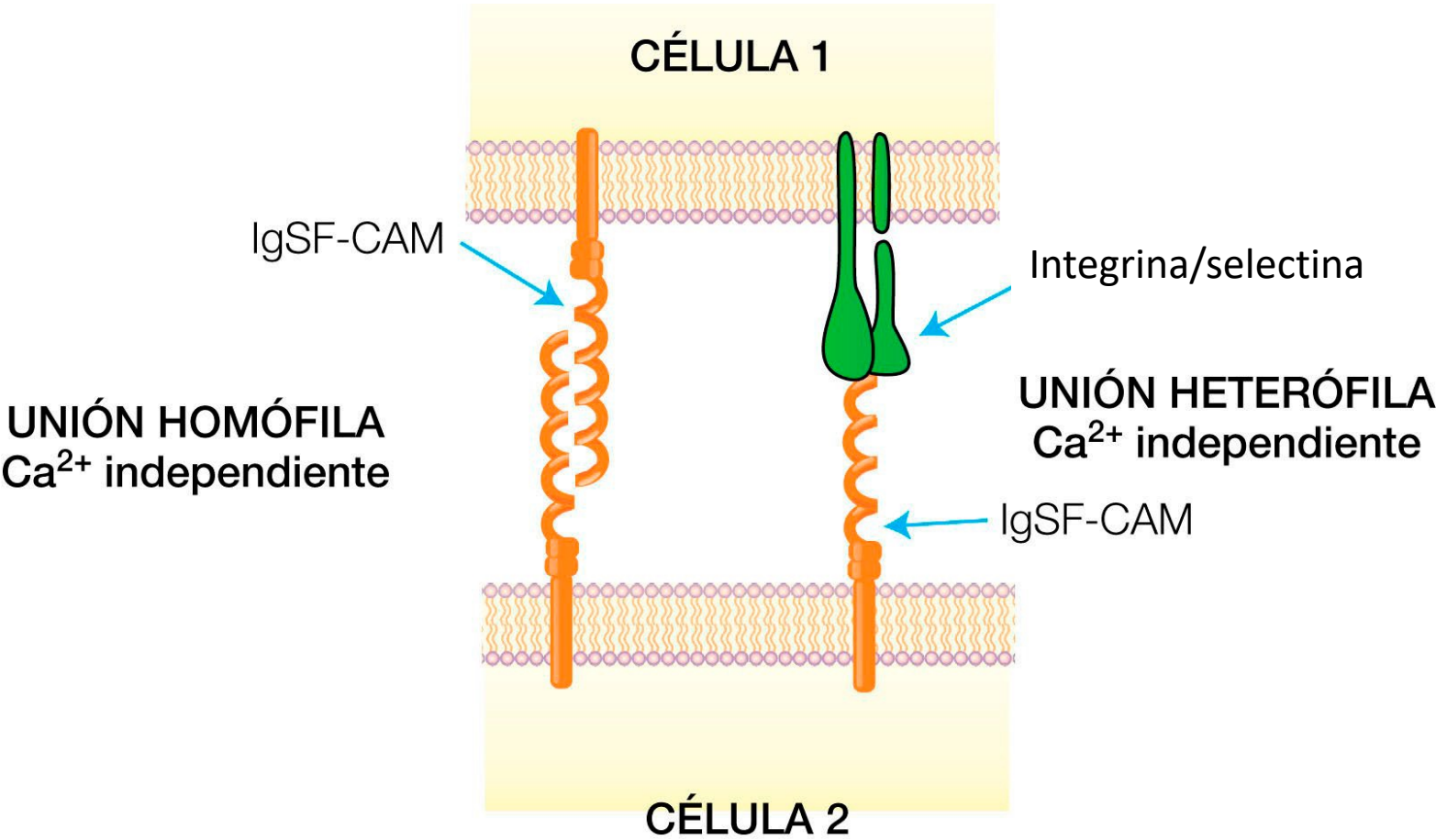
Uniones de anclaje celular: IgSF-CAM

Immunoglobulin Super Family Cell Adhesion Molecules



Uniones de anclaje celular: IgSF-CAM

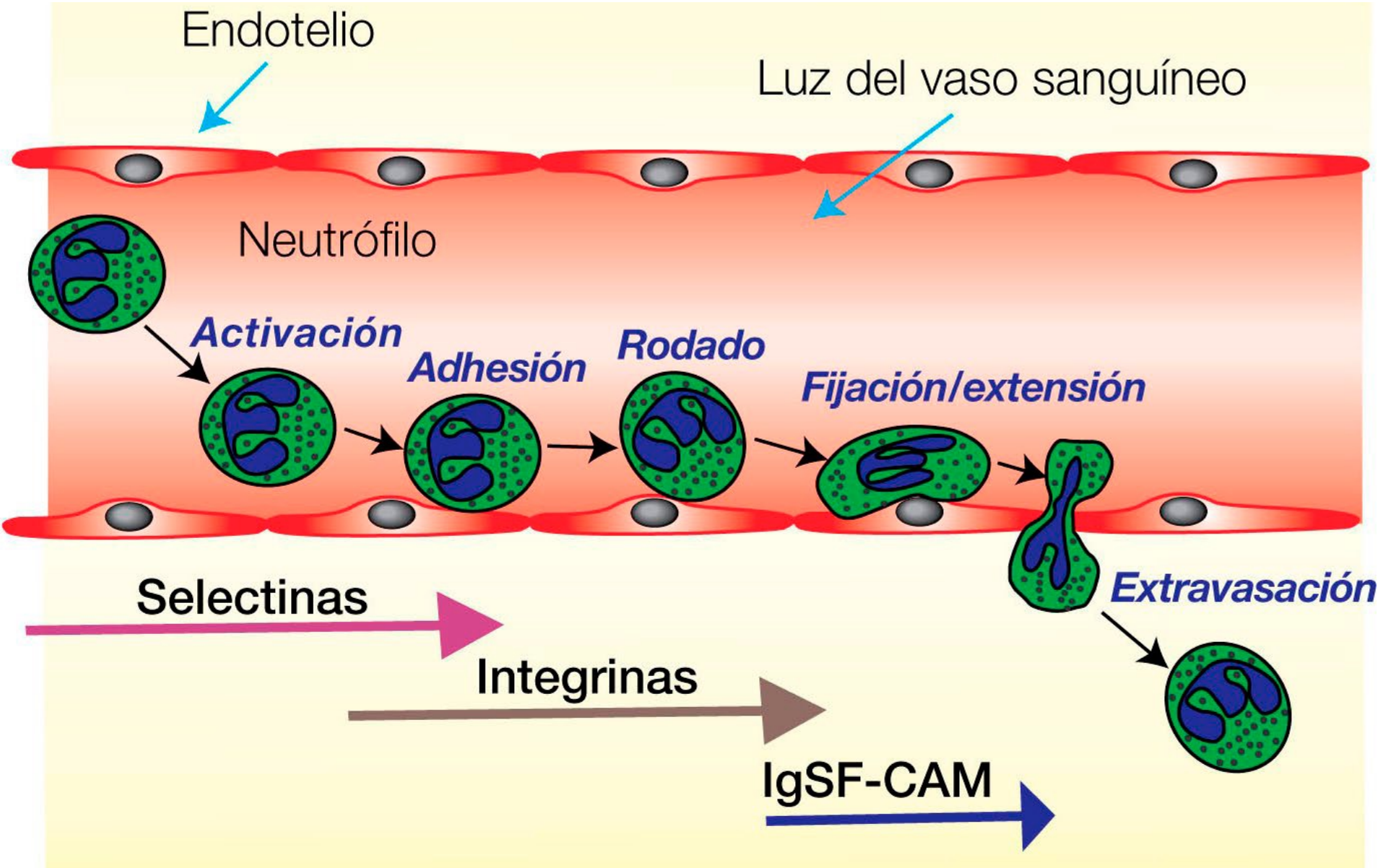
IgSF-CAM (<u>ICAM</u>)	Homófila/Heterófila con selectinas e integrinas.	Célula-célula	Unión transitoria (extravasación de leucocitos)
--------------------------	--	---------------	---



Uniones de anclaje celular: IgSF-CAM

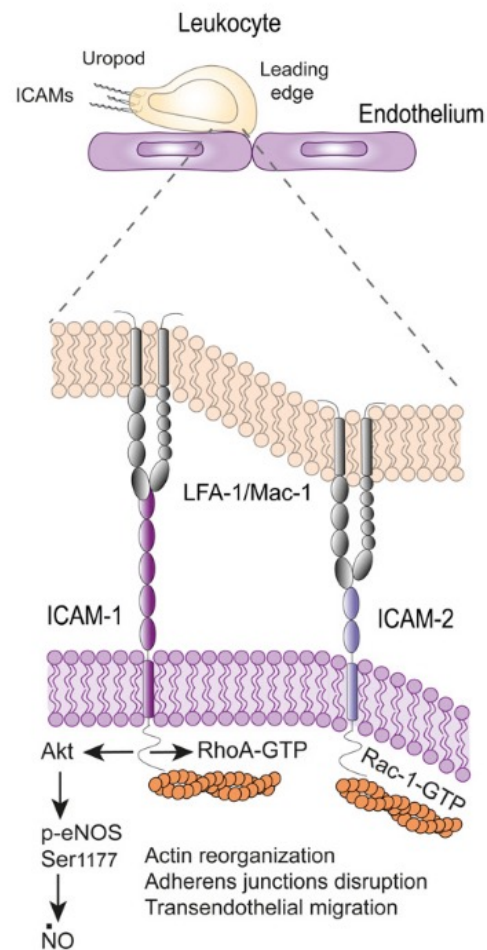
Nombre	Distribución	Ligando
ICAM-1 (CD54)	Leucocitos, Endotelio, Queratinocitos, Fibroblastos, Células mesenquimatosas, Músculo liso.	LFA-1, Mac-1.
VCAM-1 (CD106)	Endotelio, Queratinocitos, Macrófagos, Células dendríticas.	VLA-4
ICAM-2 (CD102)	Endotelio, Monocitos, algunos Linfocitos y células dendríticas	LFA-1
ICAM-3	Todos los Leucocitos, Células Langerhans	LFA-1
PECAM-1 (CD31)	Endotelio, algunos Linfocitos, Monocitos, leucocitos Neutrófilos y Células madres de la médula ósea	Unión homóloga
LFA2 (CD2)	Linfocitos, Timocitos	LFA-3
LFA-3 (CD58)	Células hematopoyéticas, Endotelio, Linfocitos	LFA-2

Uniones de anclaje celular: IgSF-CAM

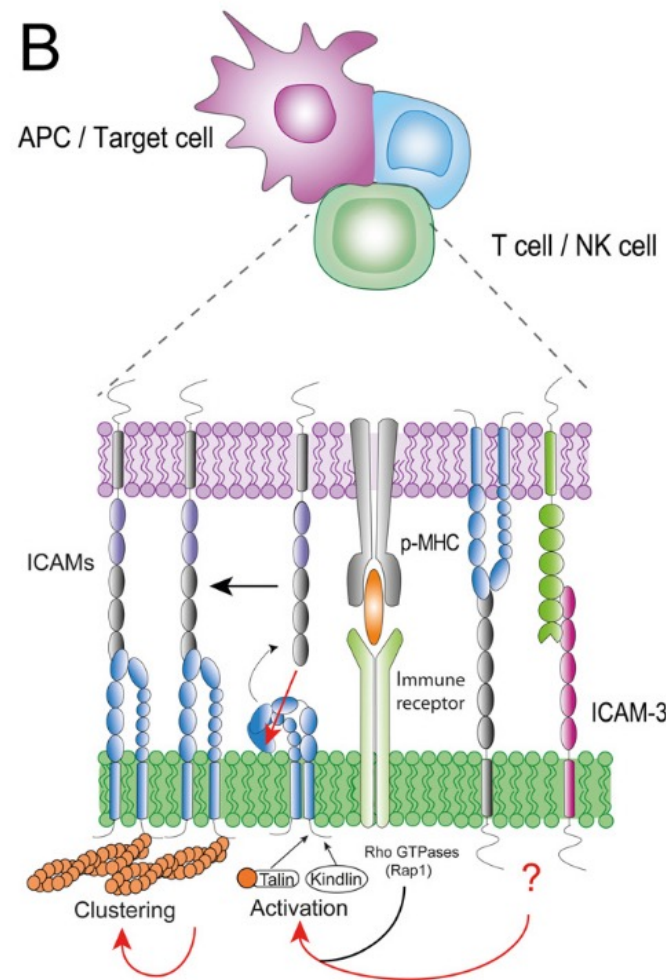


Uniones de anclaje celular: IgSF-CAM

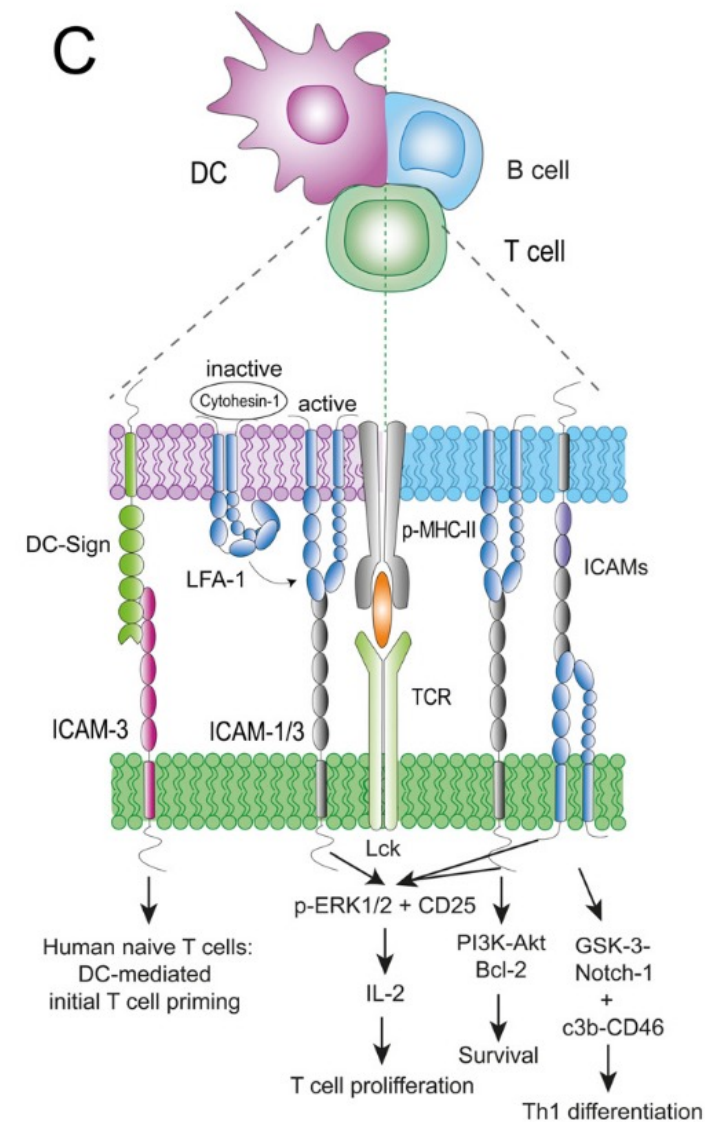
A



B

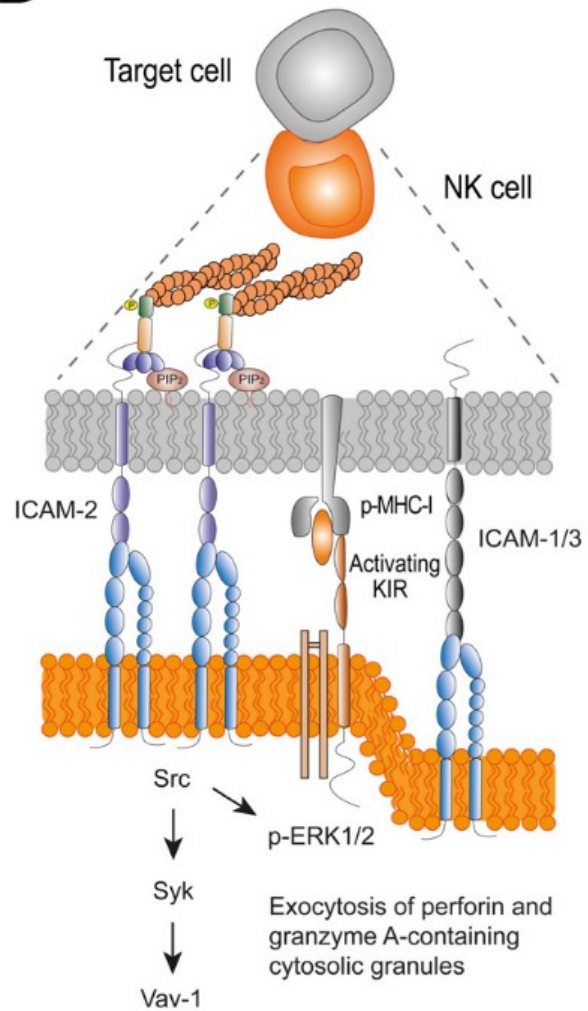


C

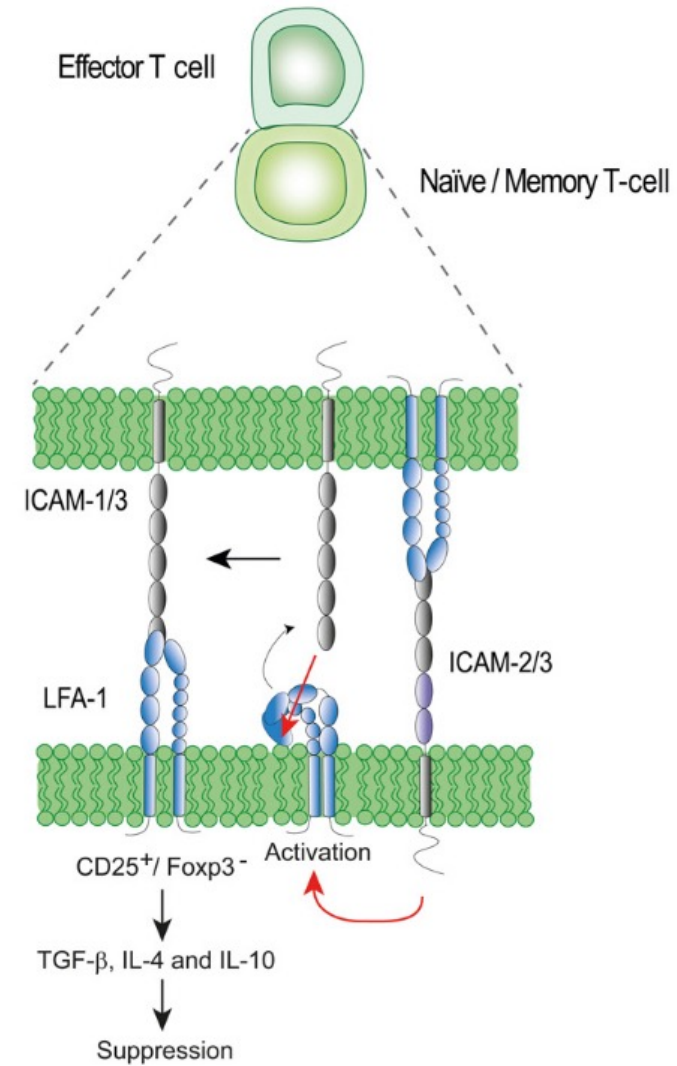


Uniones de anclaje celular: IgSF-CAM

D

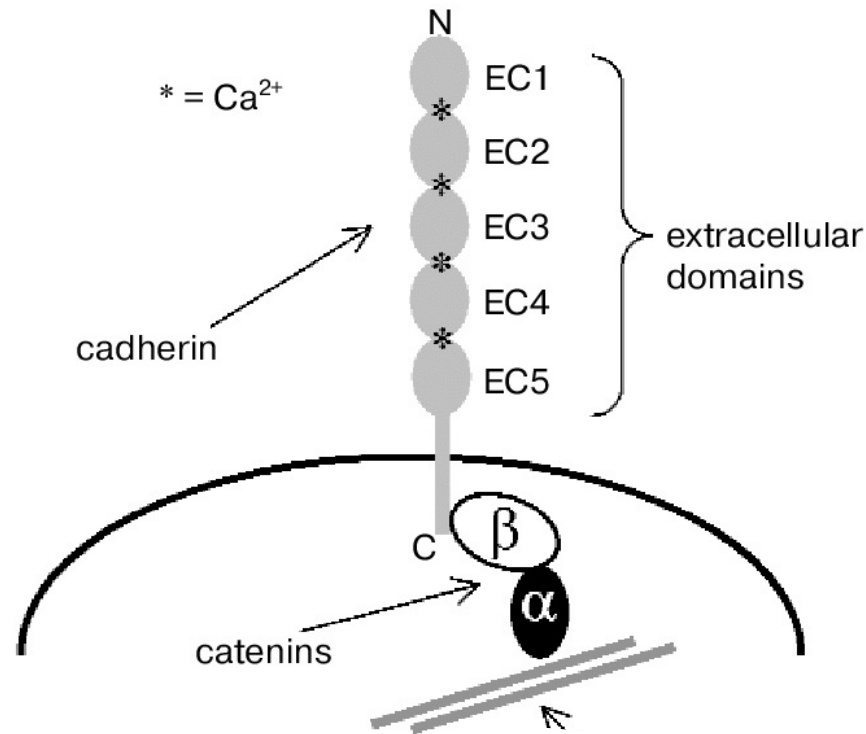


E



Uniones de anclaje celular: CADHERINAS

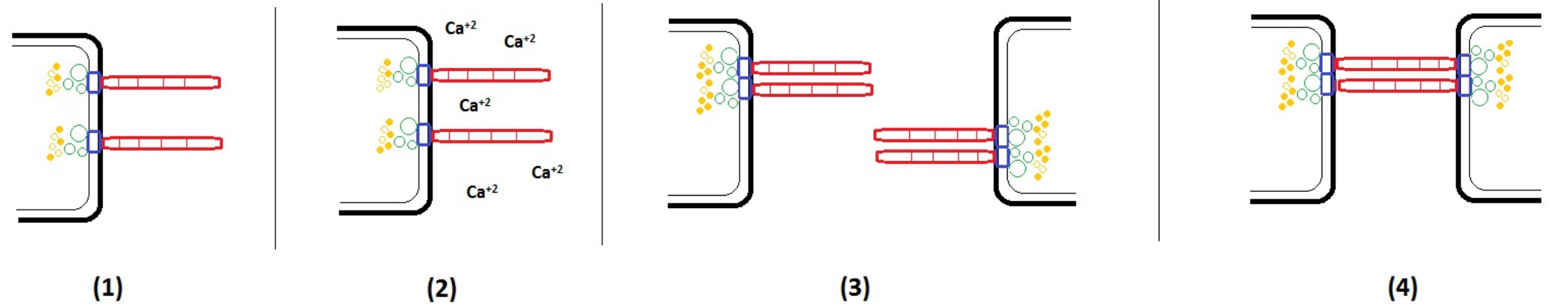
Son proteínas con cinco dominios extracelulares, con cuatro sitios de unión a Ca^{2+}



Homodímeros de <u>cadherina</u>	Homófila	Célula-célula	Unión estables (cinturones de adhesión y desmosomas)
---	----------	---------------	---

Uniones de anclaje celular: CADHERINAS

Son uniones homófilas dependiente de Calcio



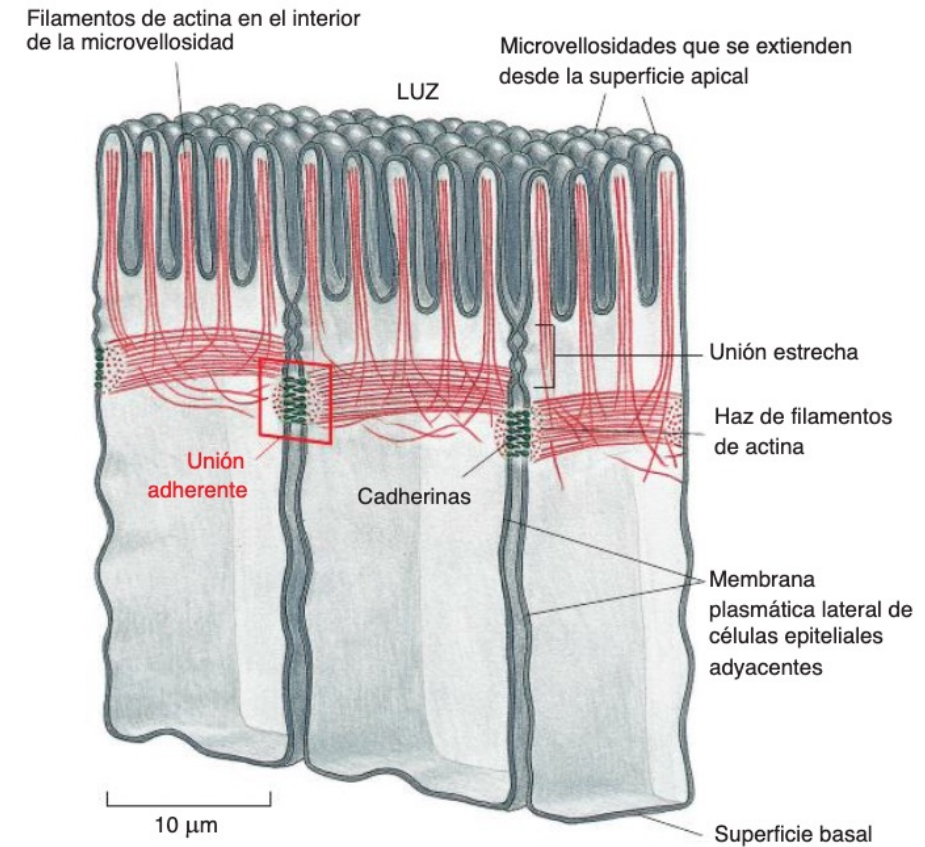
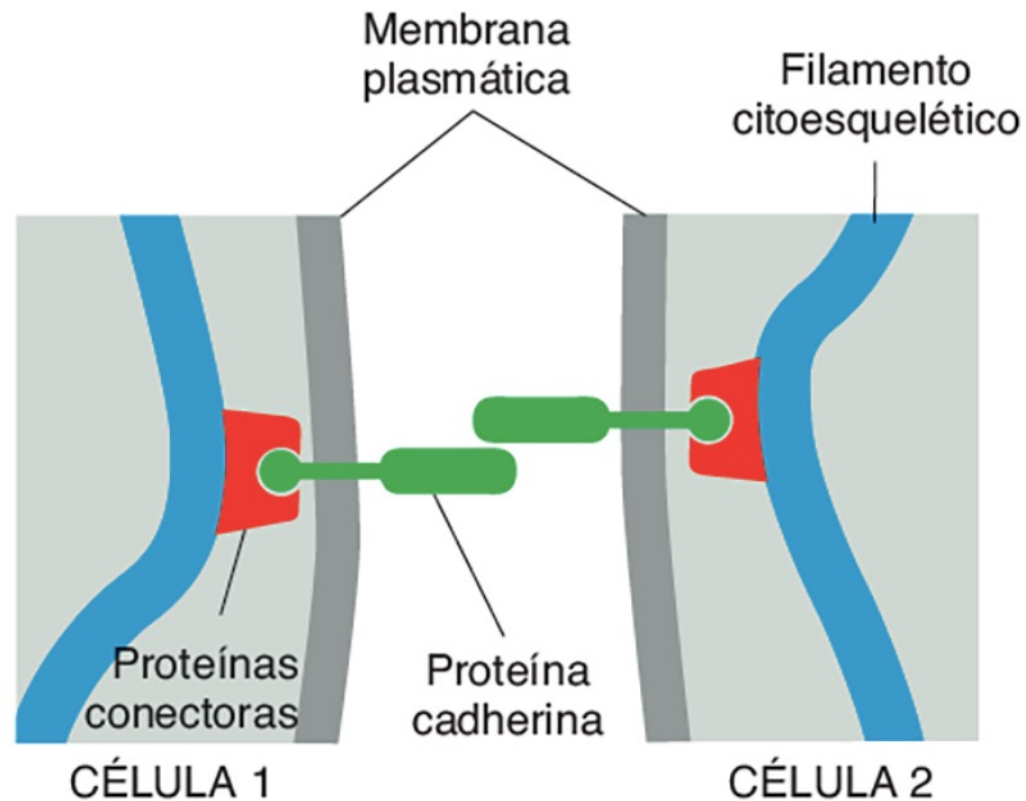
Se forman dímeros cis

Se forman dímeros trans

Zonula adherens o cinturón de adhesión y en *macula adherens* o desmosoma

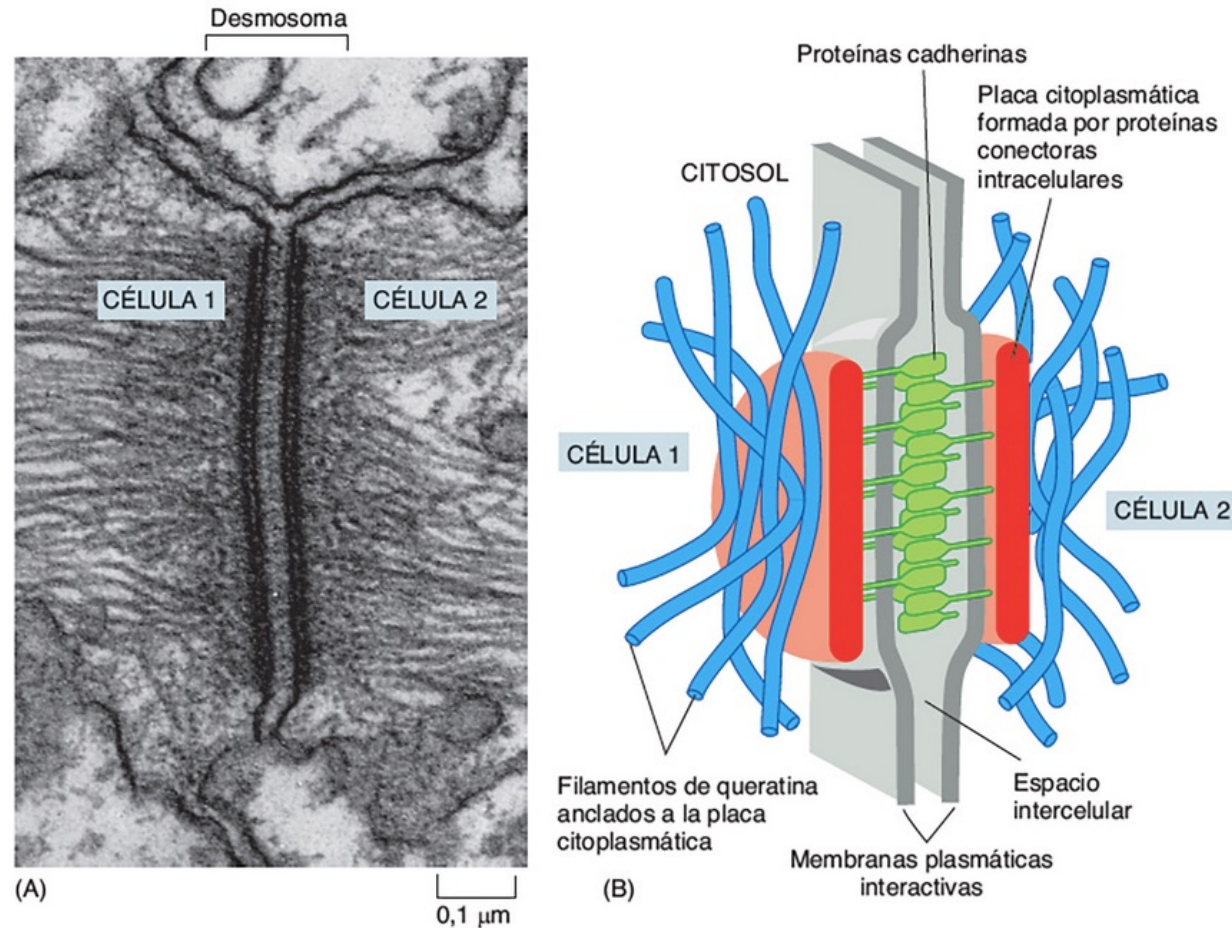
Uniones de anclaje celular: CADHERINAS (*Zonula adherens*, cinturón de adhesión o uniones adherentes)

- Confieren resistencia mecánica pues las proteínas que crean la unión (**cadherina**) se unen al citoesqueleto (**actina**)
- Zónula
- 20nm



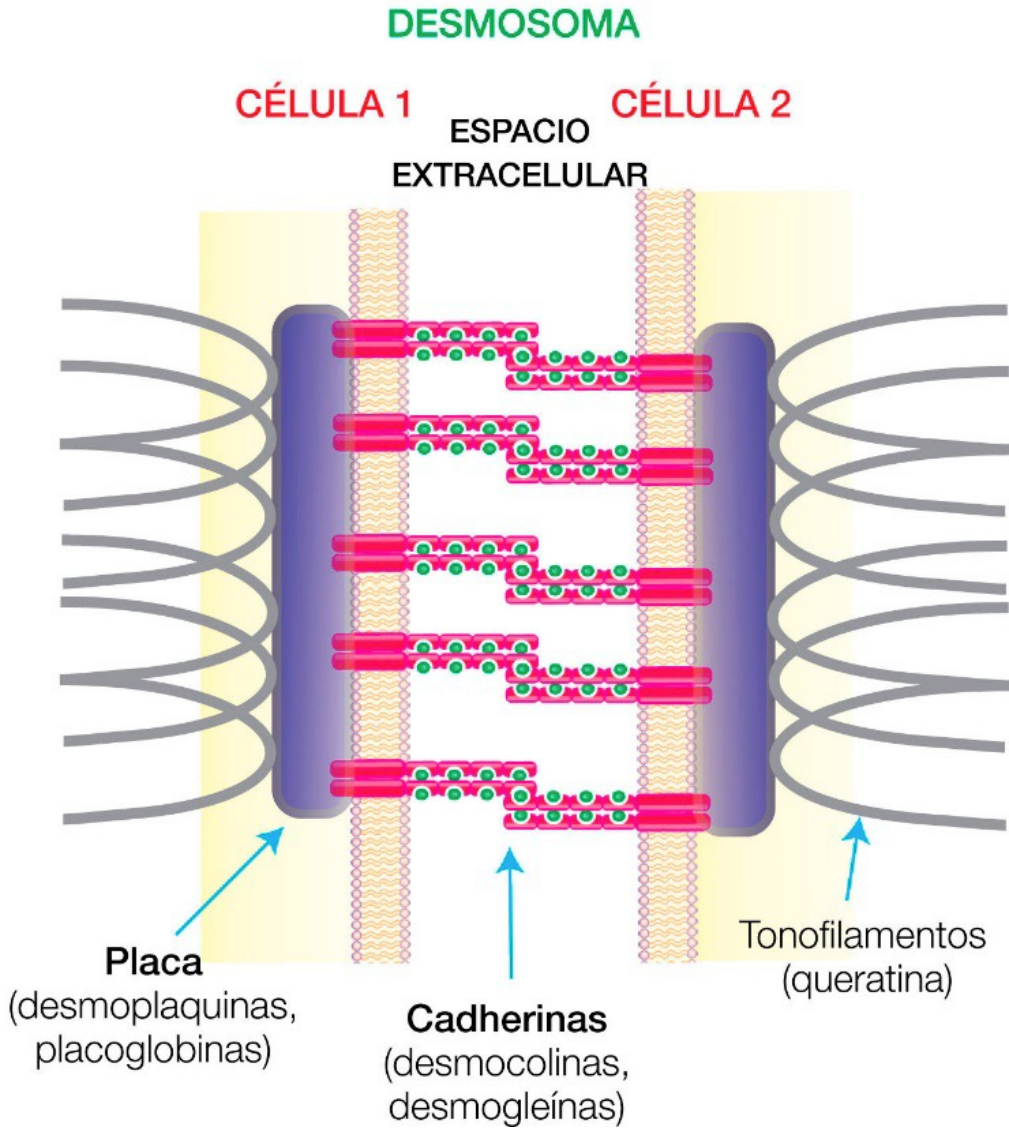
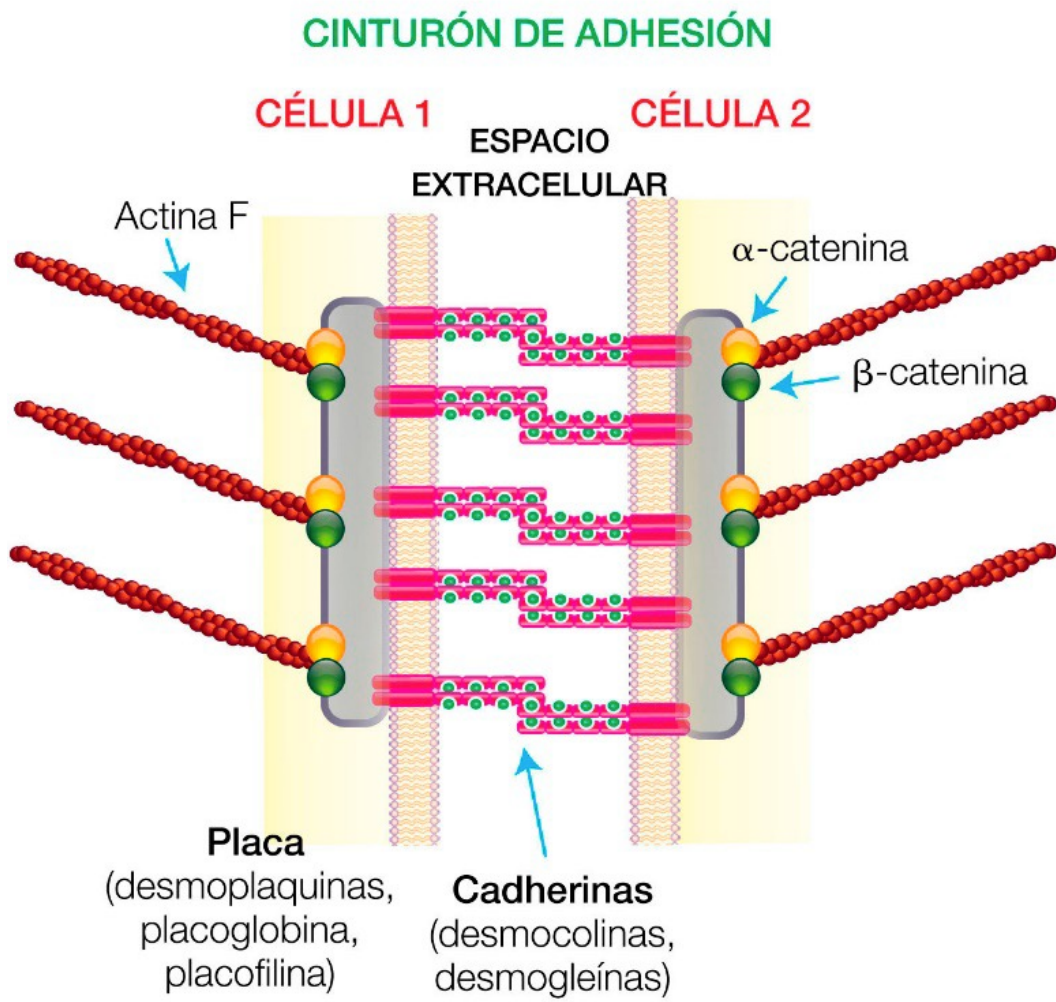
Uniones de anclaje celular: CADHERINAS (*Desmosomas*)

- Confieren resistencia mecánica pues las proteínas que crean la unión (**cadherina**) se unen al citoesqueleto (**queratina**)
- Mácula

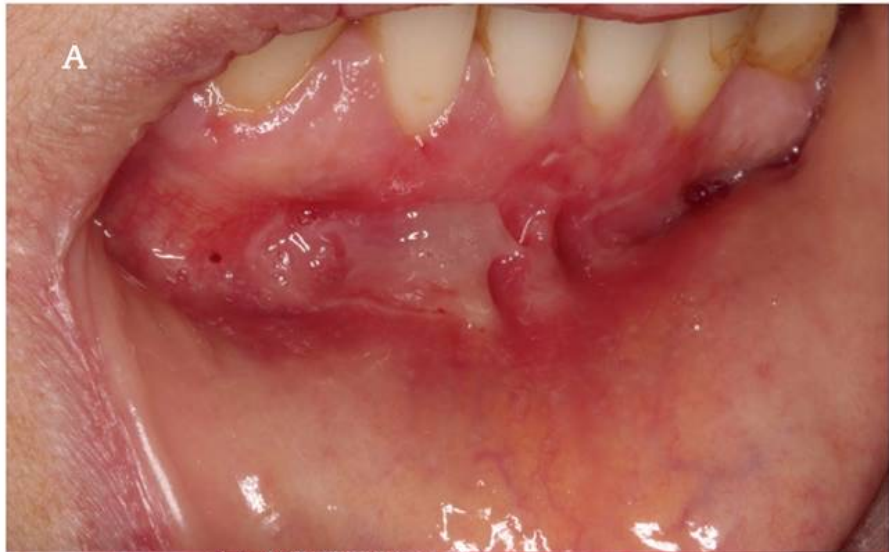


La queratina son filamentos intermedios

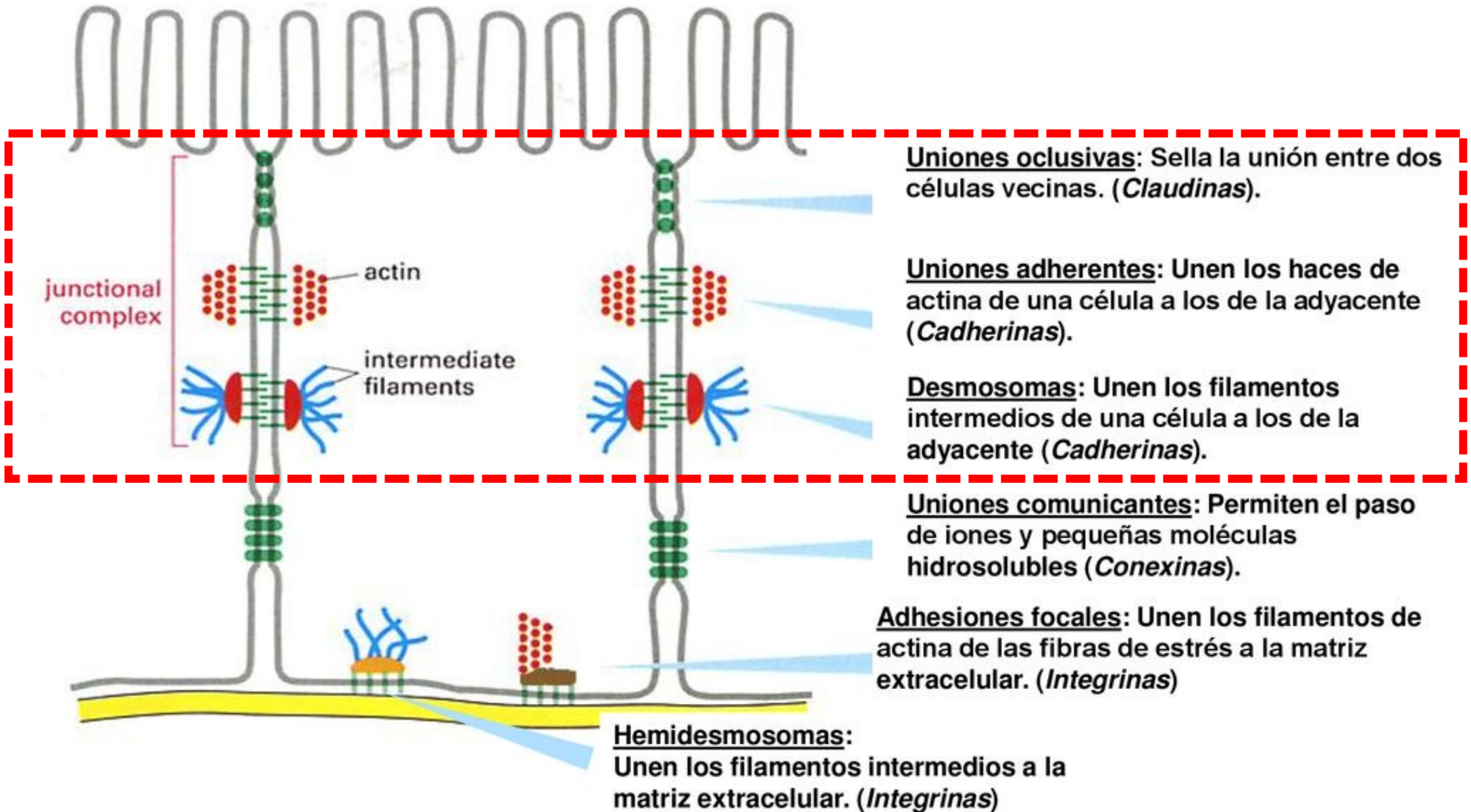
Uniones de anclaje celular: CADHERINAS (Uniones adherentes vs. desmosomas)



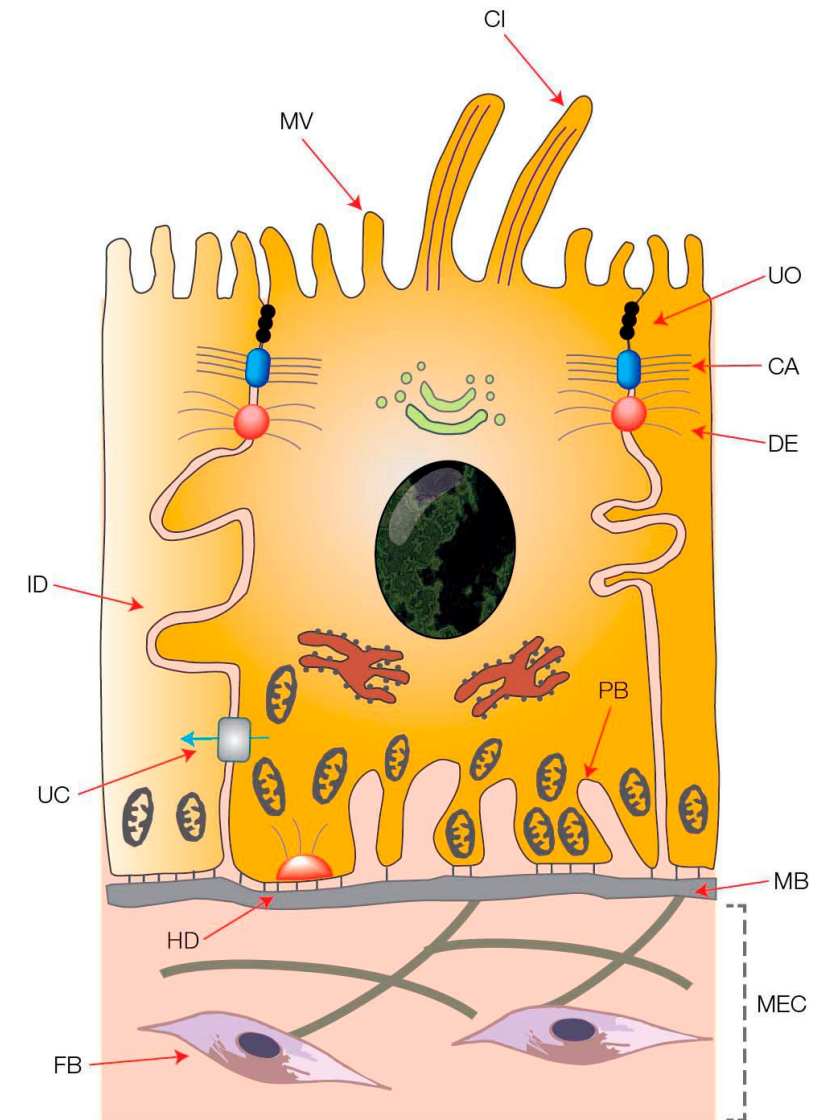
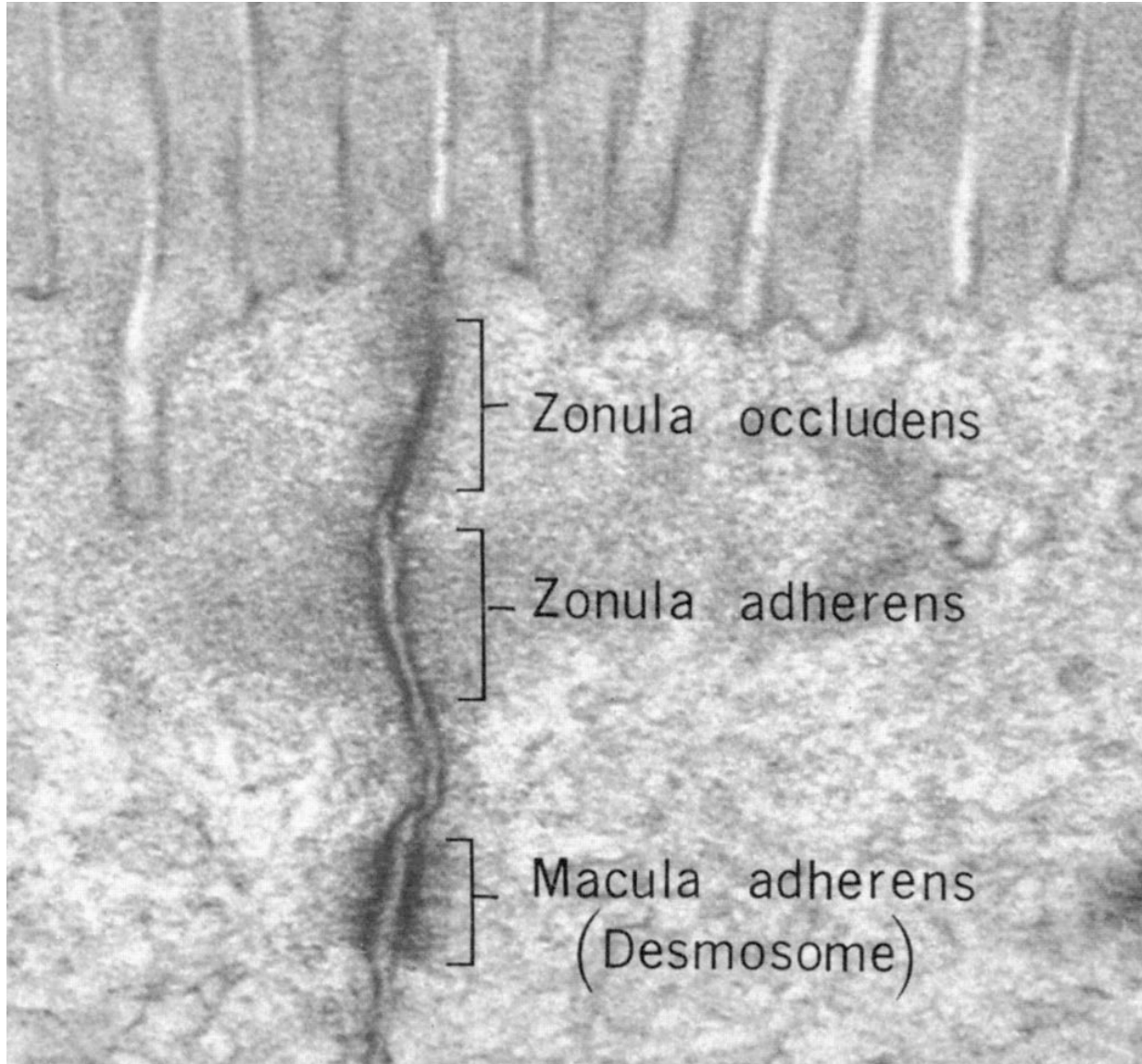
Uniones de anclaje celular: CADHERINAS



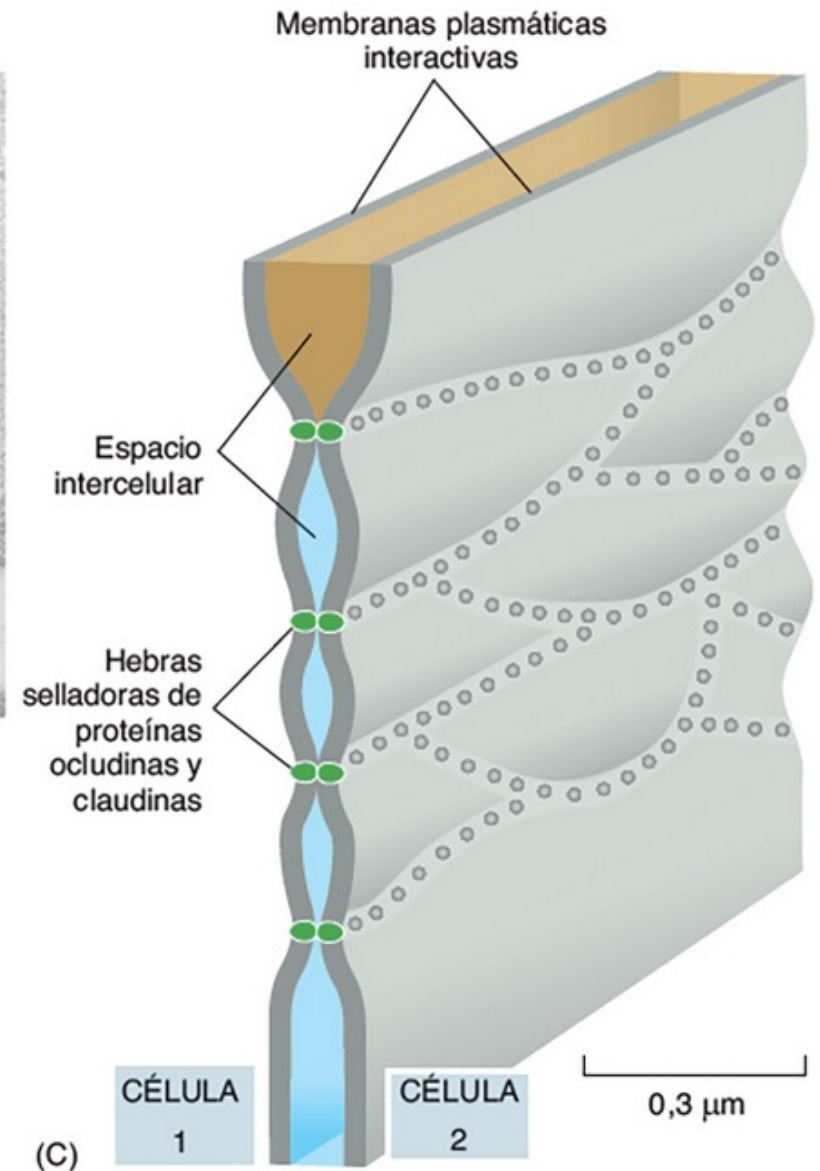
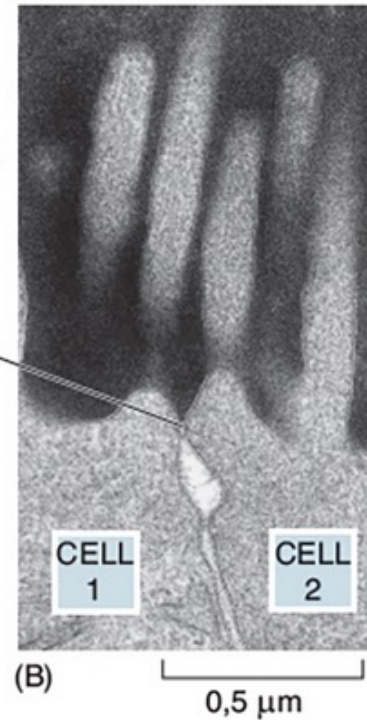
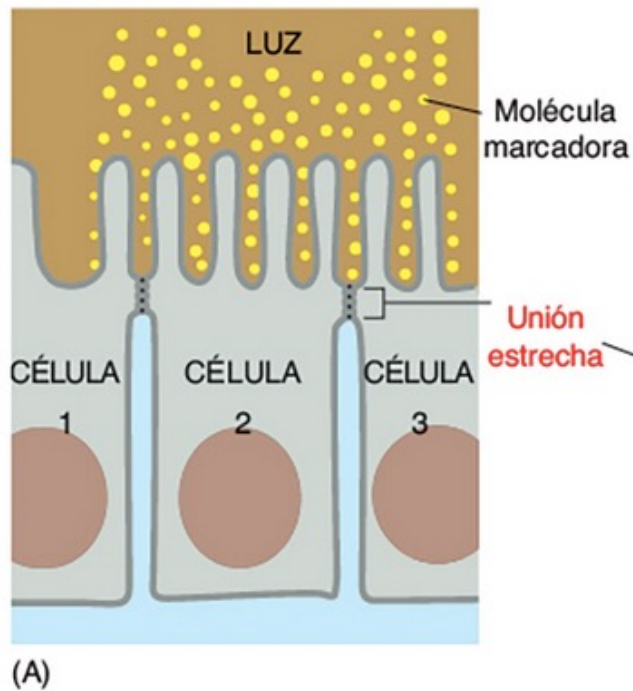
Uniones de anclaje celular



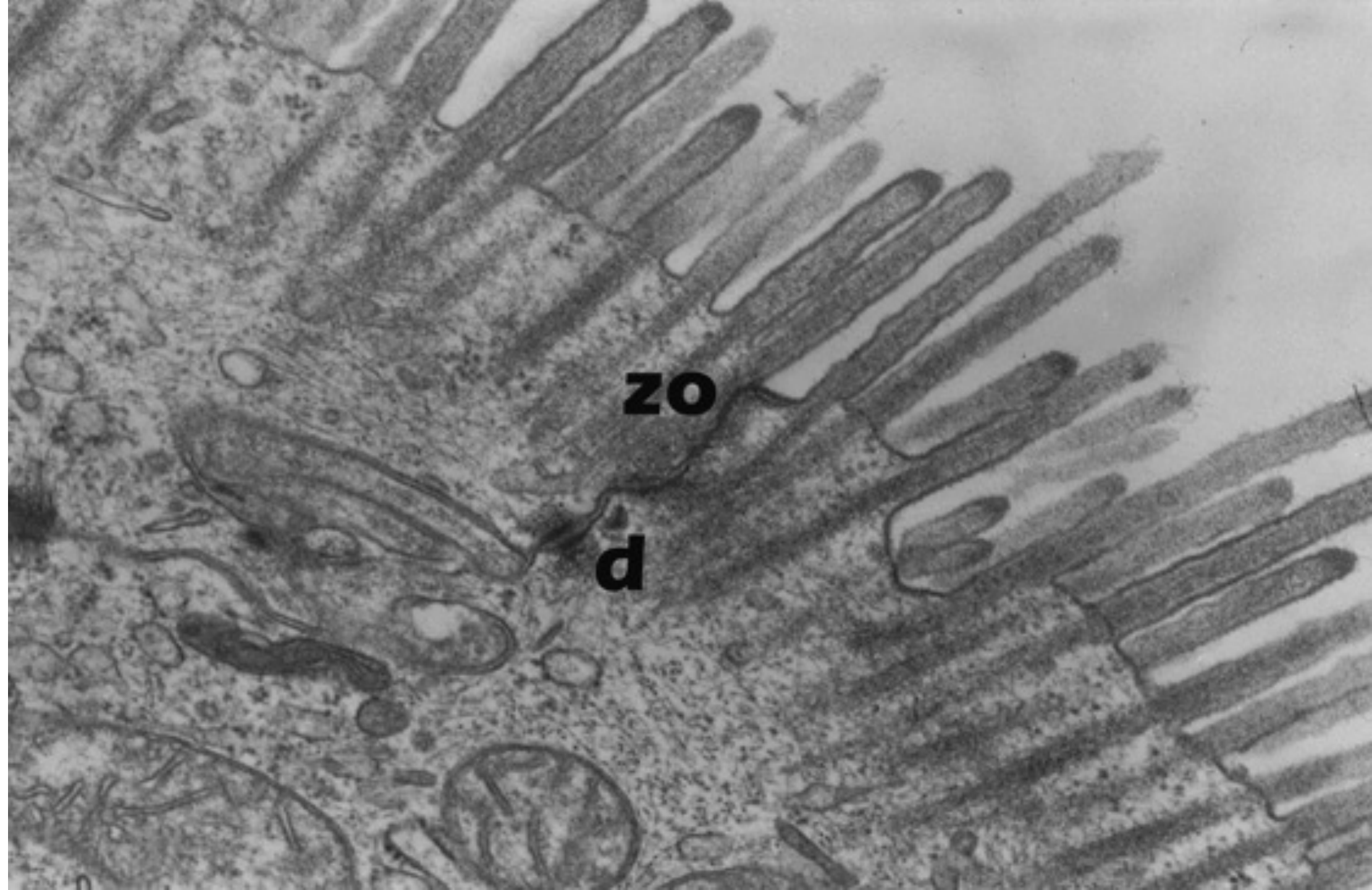
Uniones de anclaje celular



Uniones de anclaje celular: uniones ocluyentes o estrechas (Tight junctions/occludents)

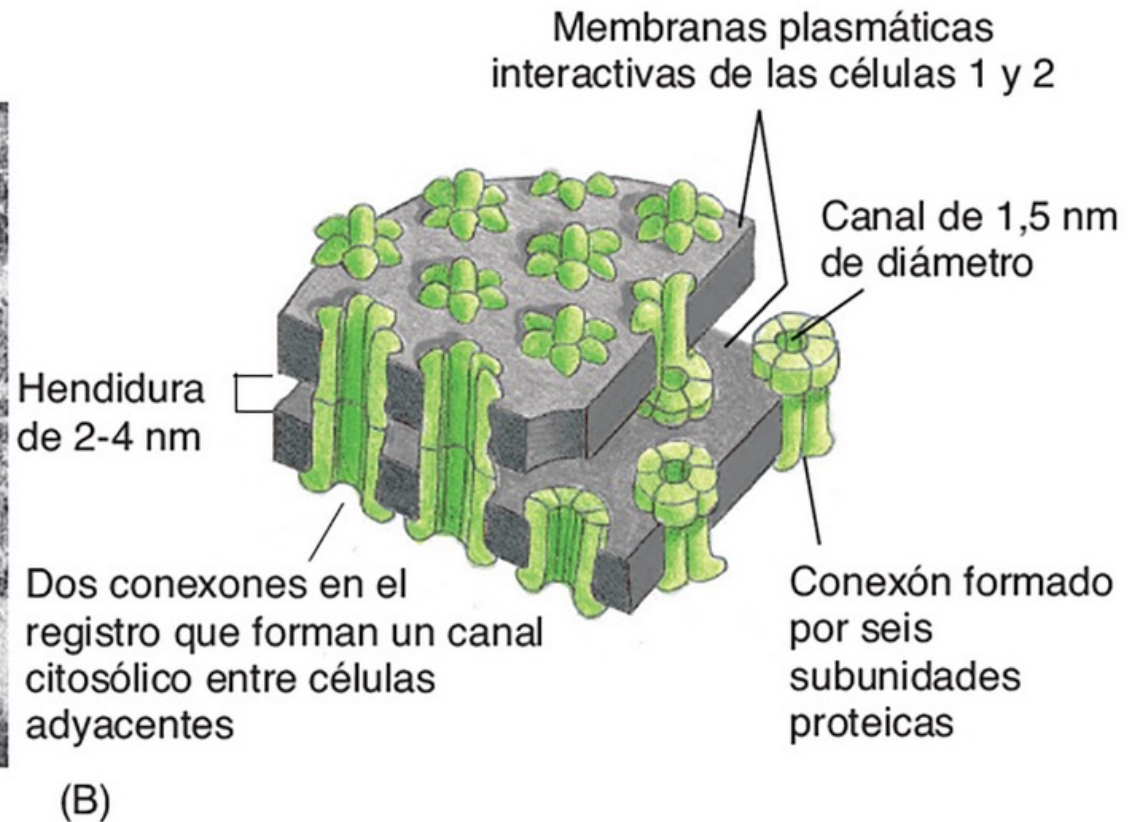
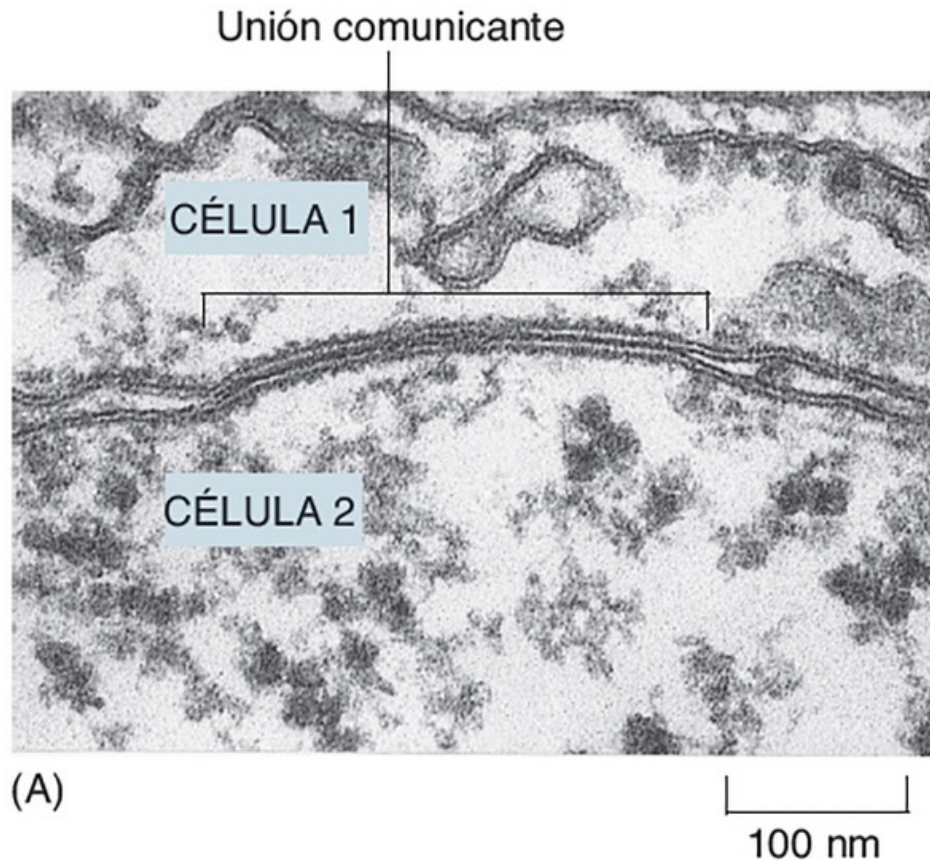


- Zona apical
- Sellan membranas
- Zónula
- Proteínas transmembrana

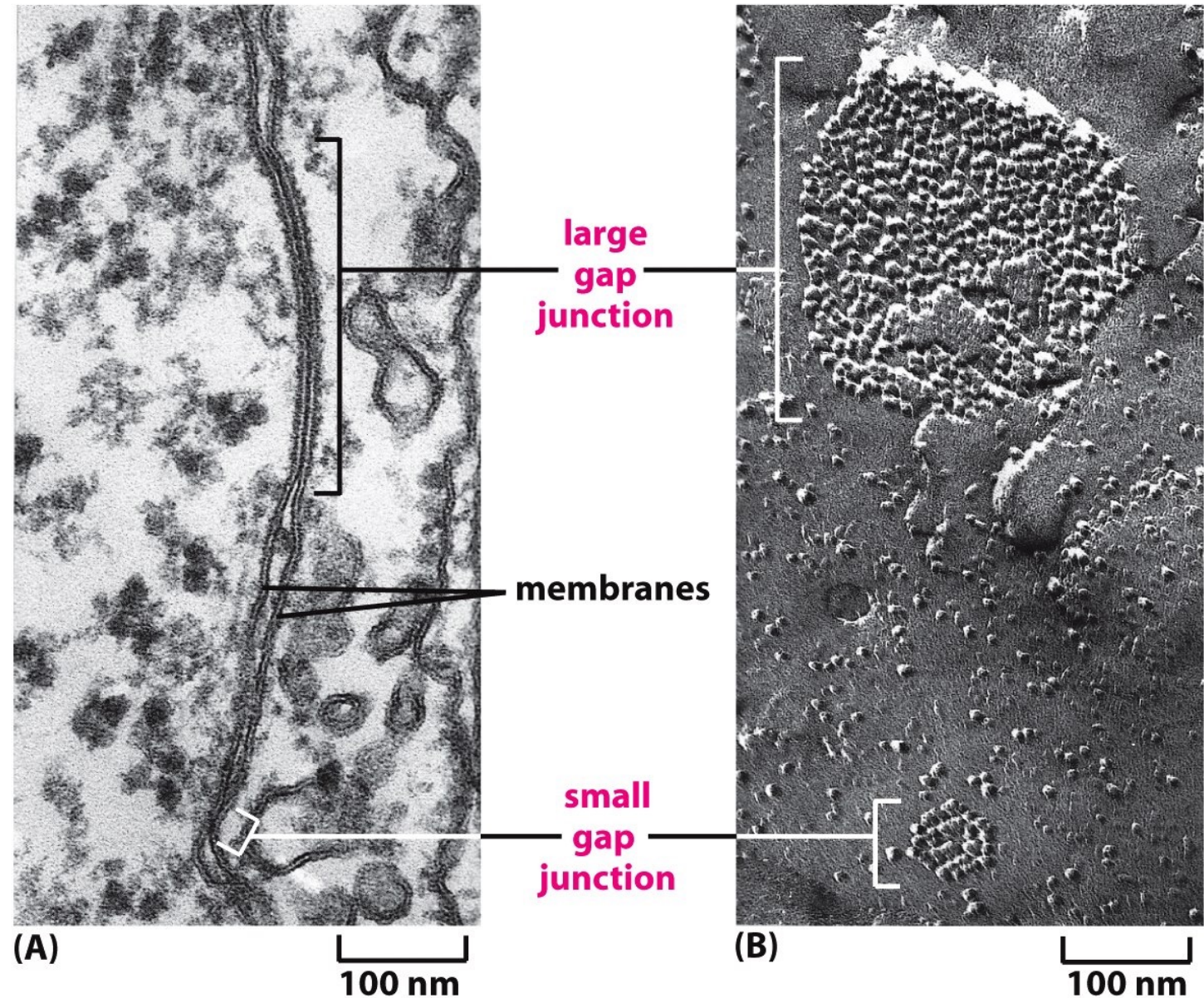
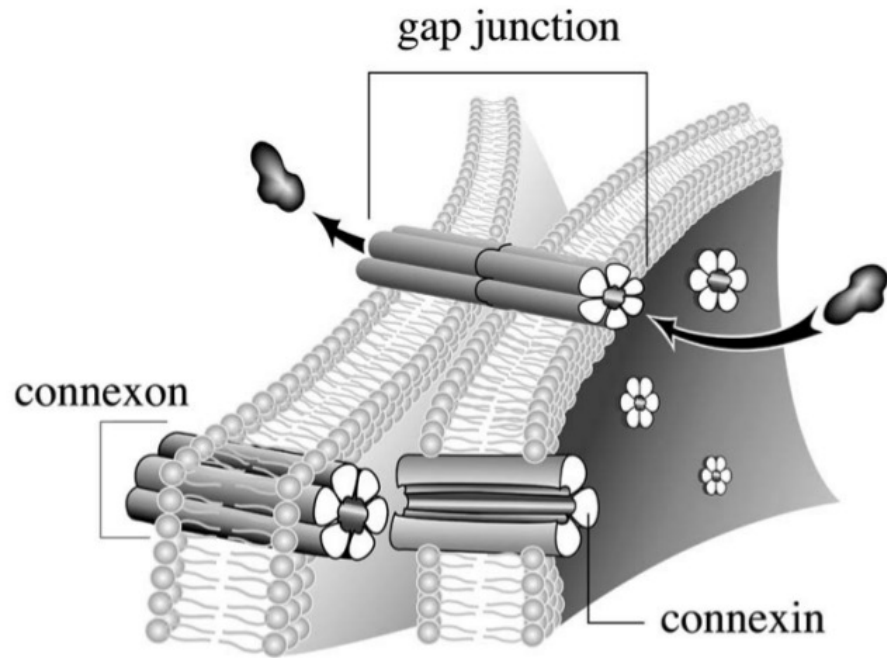


Uniones de anclaje celular: uniones comunicantes, en hendidura (Gap junction)

- Membranas muy juntas (2-4nm) y totalmente paralelas
- Conexones: proteínas transmembrana (conexina)
- Paso de iones inorgánicos y pequeñas moléculas hidrosolubles
- Comunicación química y eléctrica



Uniones de anclaje celular: uniones comunicantes, en hendidura (Gap junction)

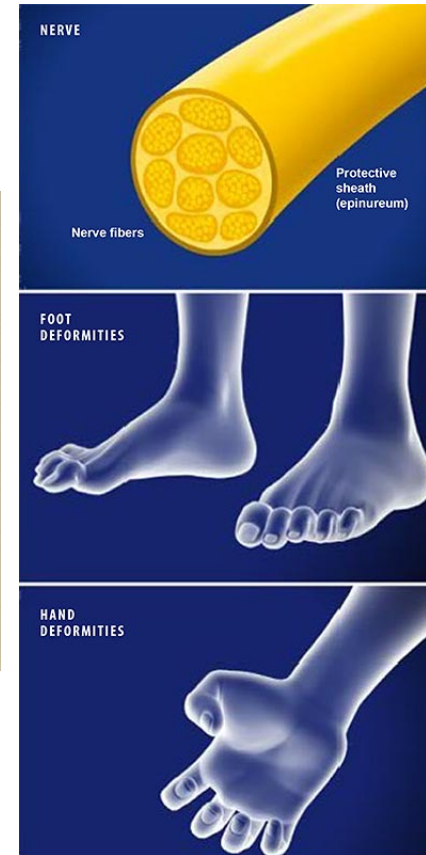
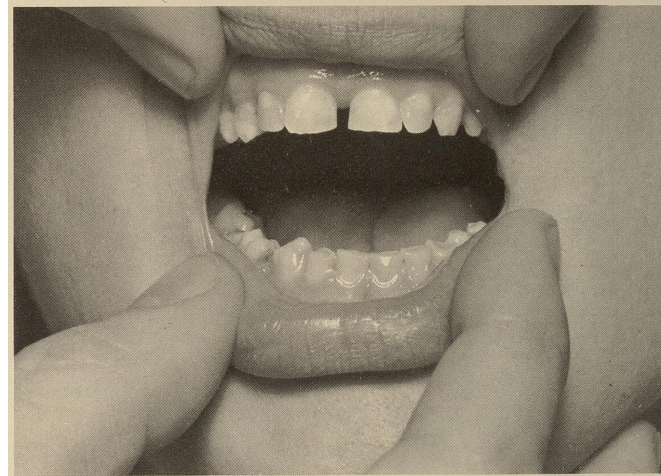


Uniones de anclaje celular: uniones comunicantes, en hendidura (Gap junction)

Mutaciones en los genes que traducen a las conexinas se asocian con distintas patologías



**Displasia oculodentodigital
(Conexina 43)**



**Atrofia muscular de Charcot-Marie Tooth
(Conexina 32)**





Universidad de Valladolid

Especializaciones de la membrana. Uniones intercelulares

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

La célula y su entorno

Prof. Ricardo Usategui Martín

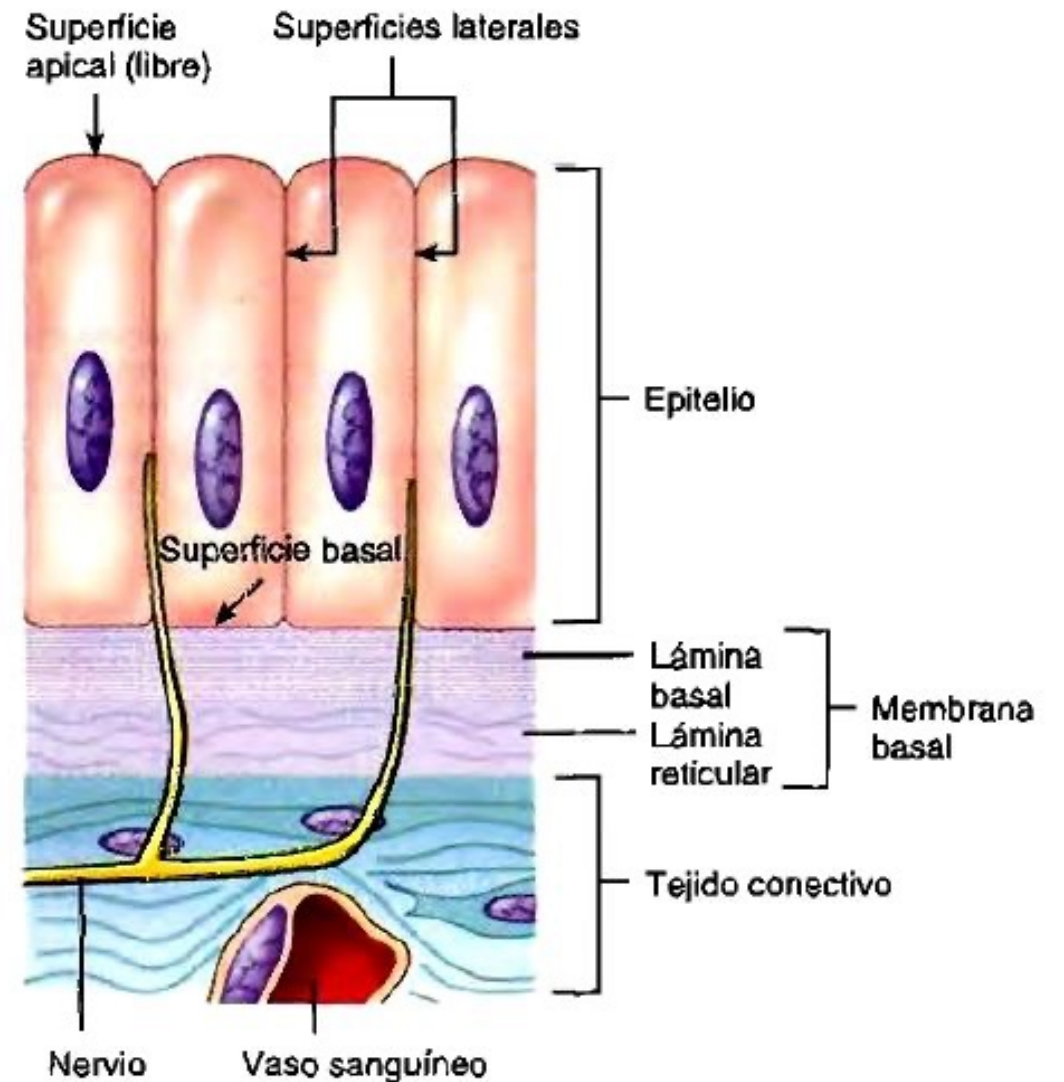
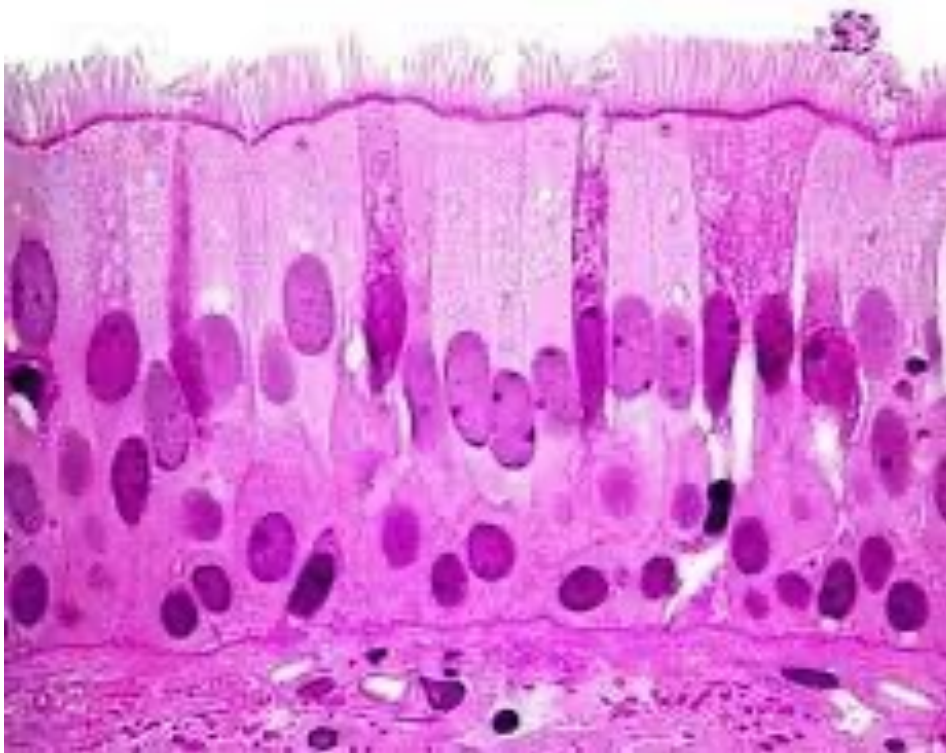
Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es

Membrana basal

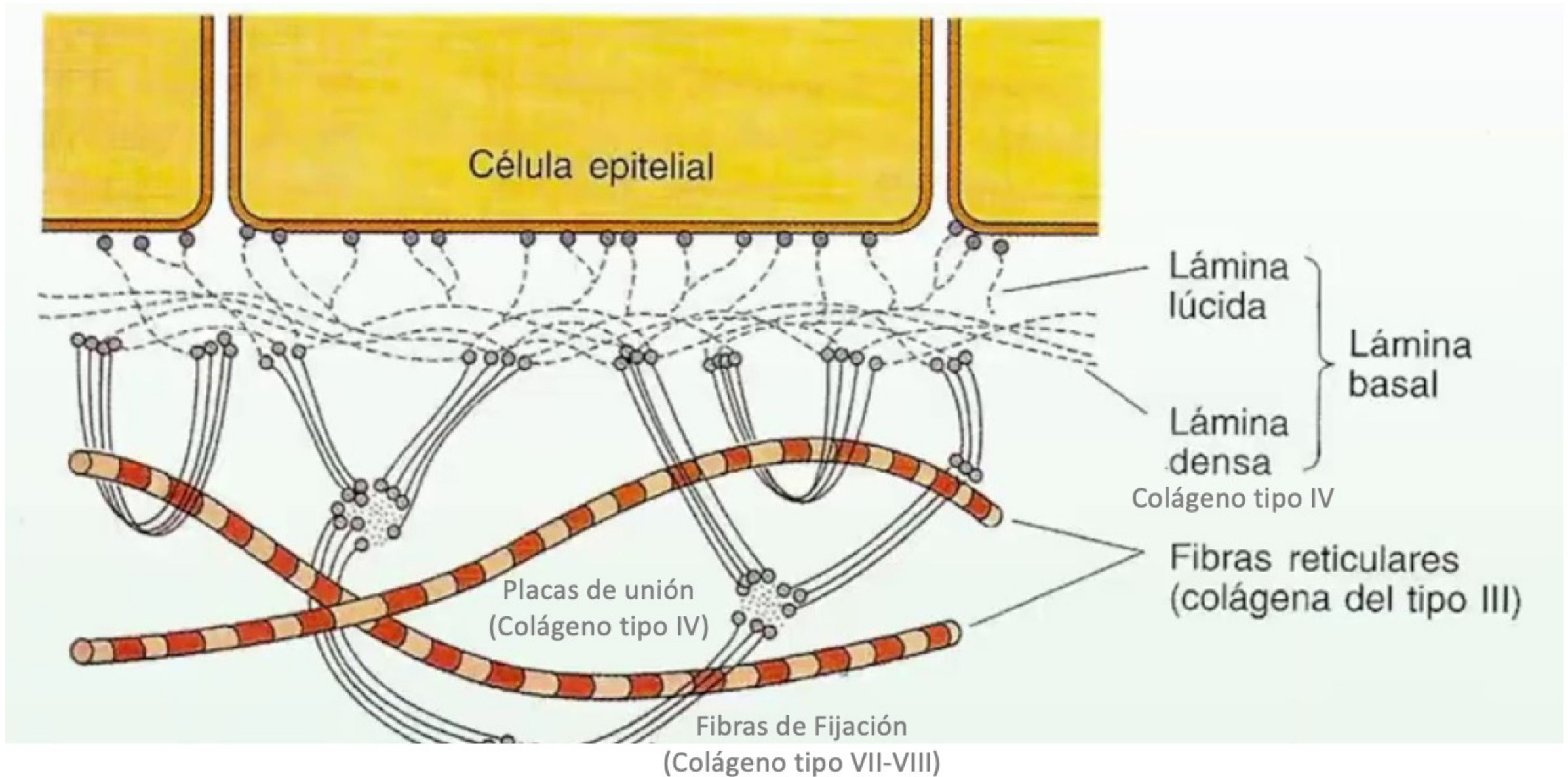
Límite entre el epitelio y el tejido conjuntivo subyacente

Rica en proteínas y polisacáridos

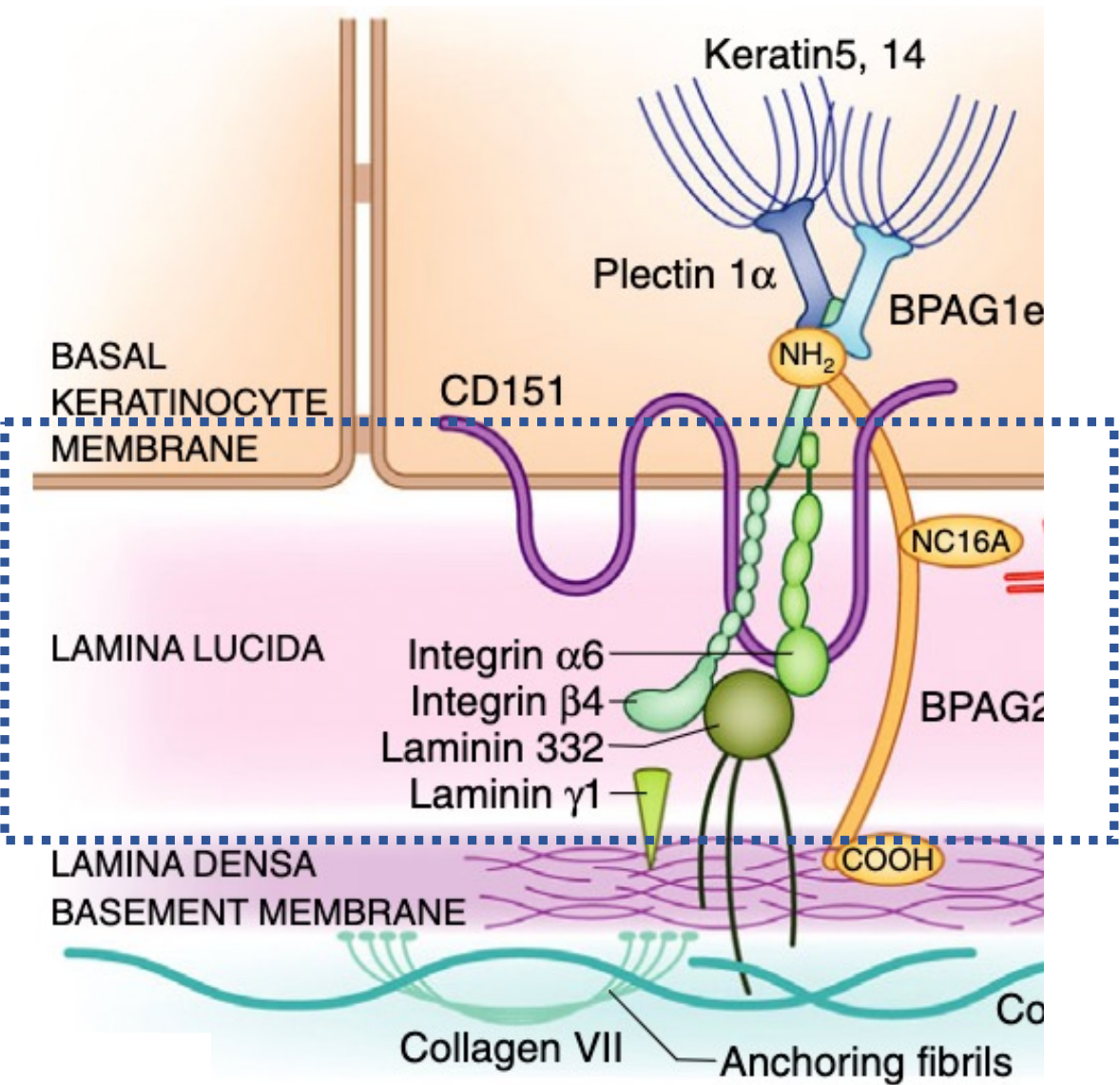
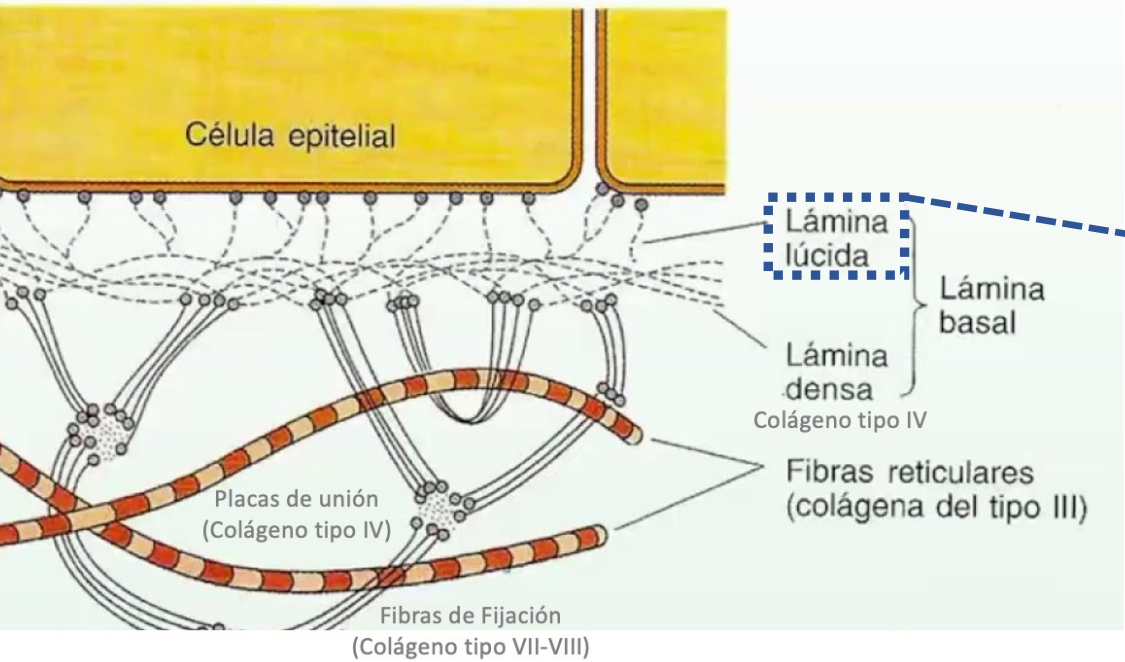


La membrana basal está formada por la **LÁMINA BASAL** y por la **LÁMINA RETICULAR**

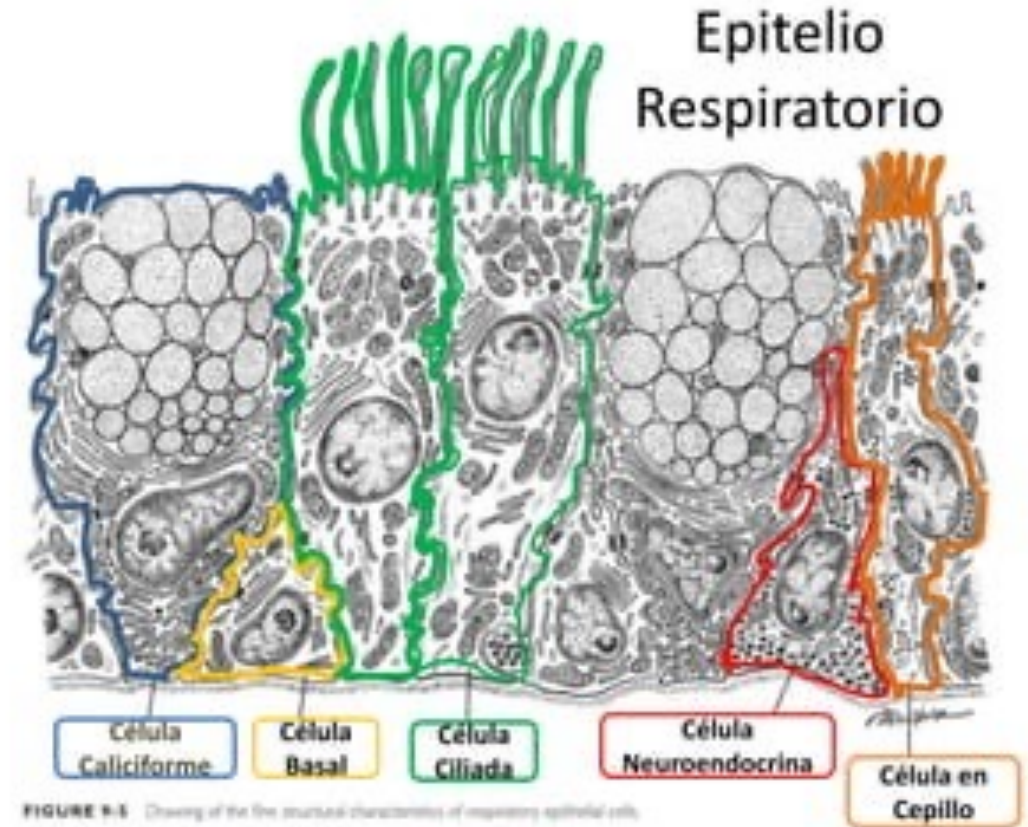
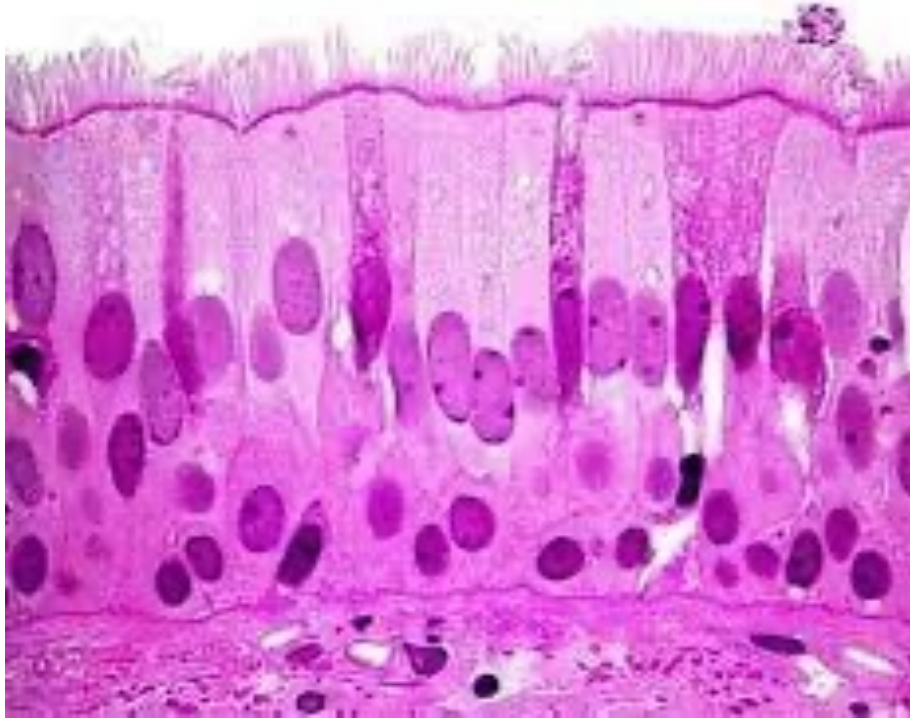
Membrana basal



Membrana basal



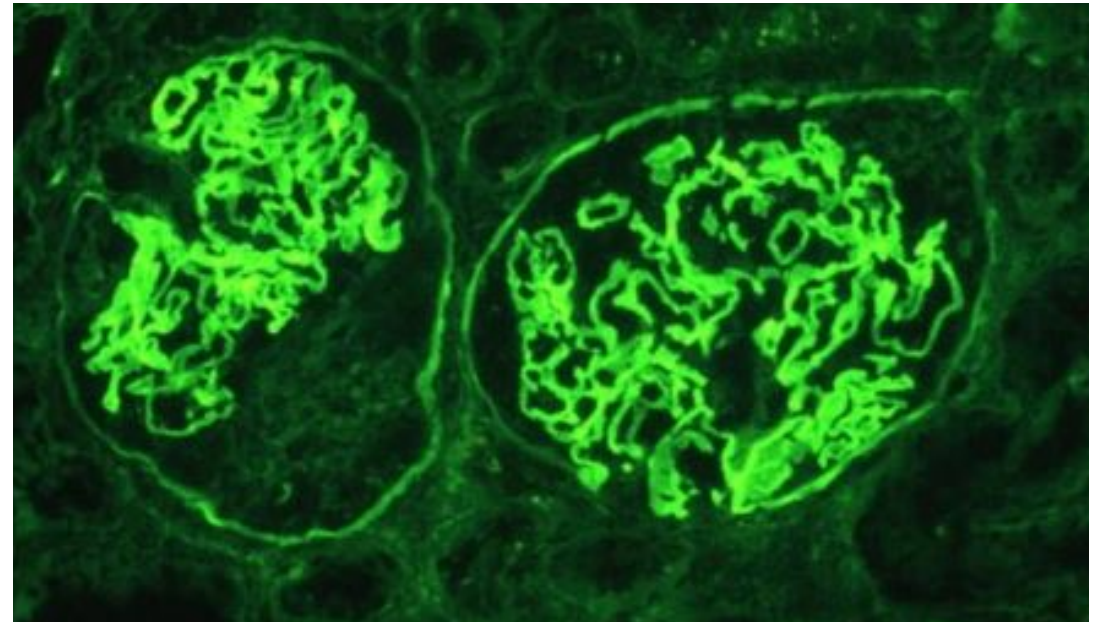
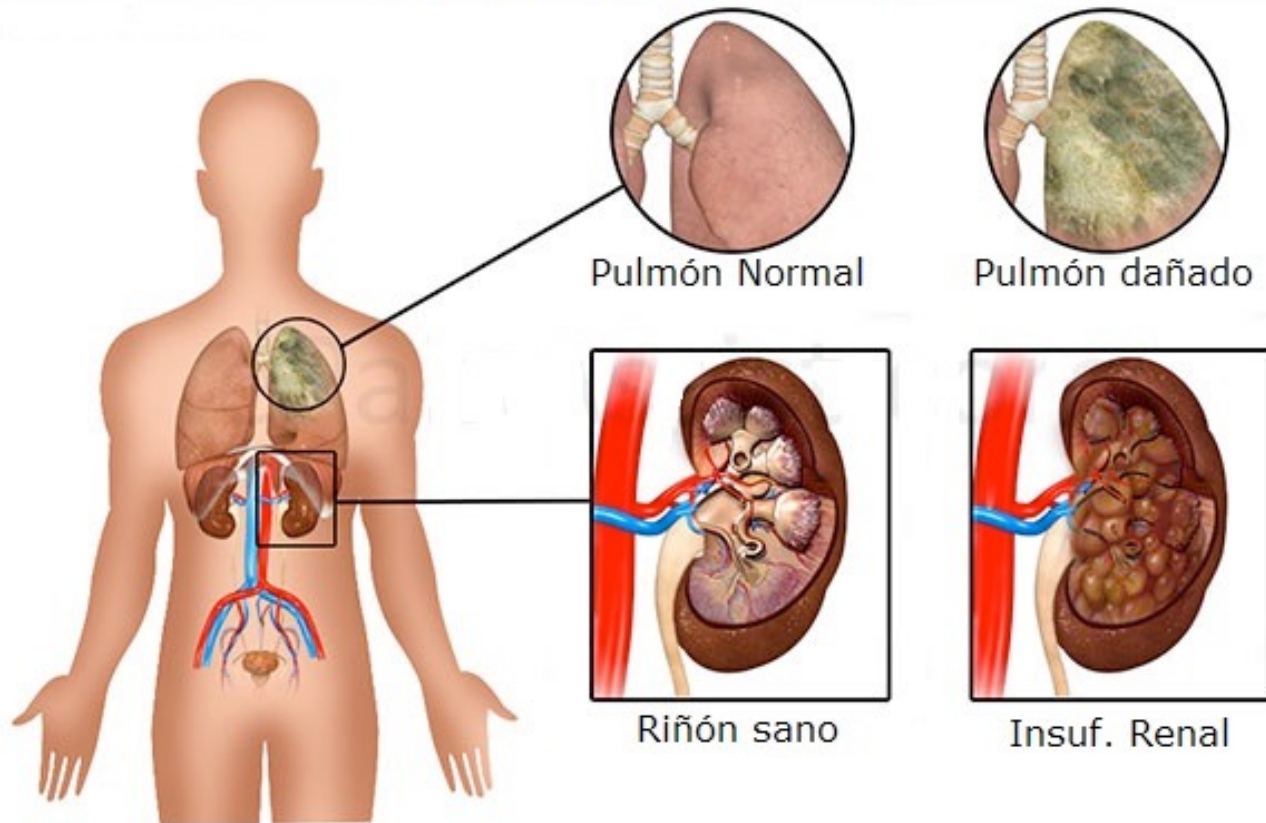
Membrana basal



- Sostén del epitelio
- Filtro molecular pasivo
- Filtro celular
- Ayuda a la regeneración tras una lesión
- Influye sobre la diferenciación y organización celular

Membrana basal

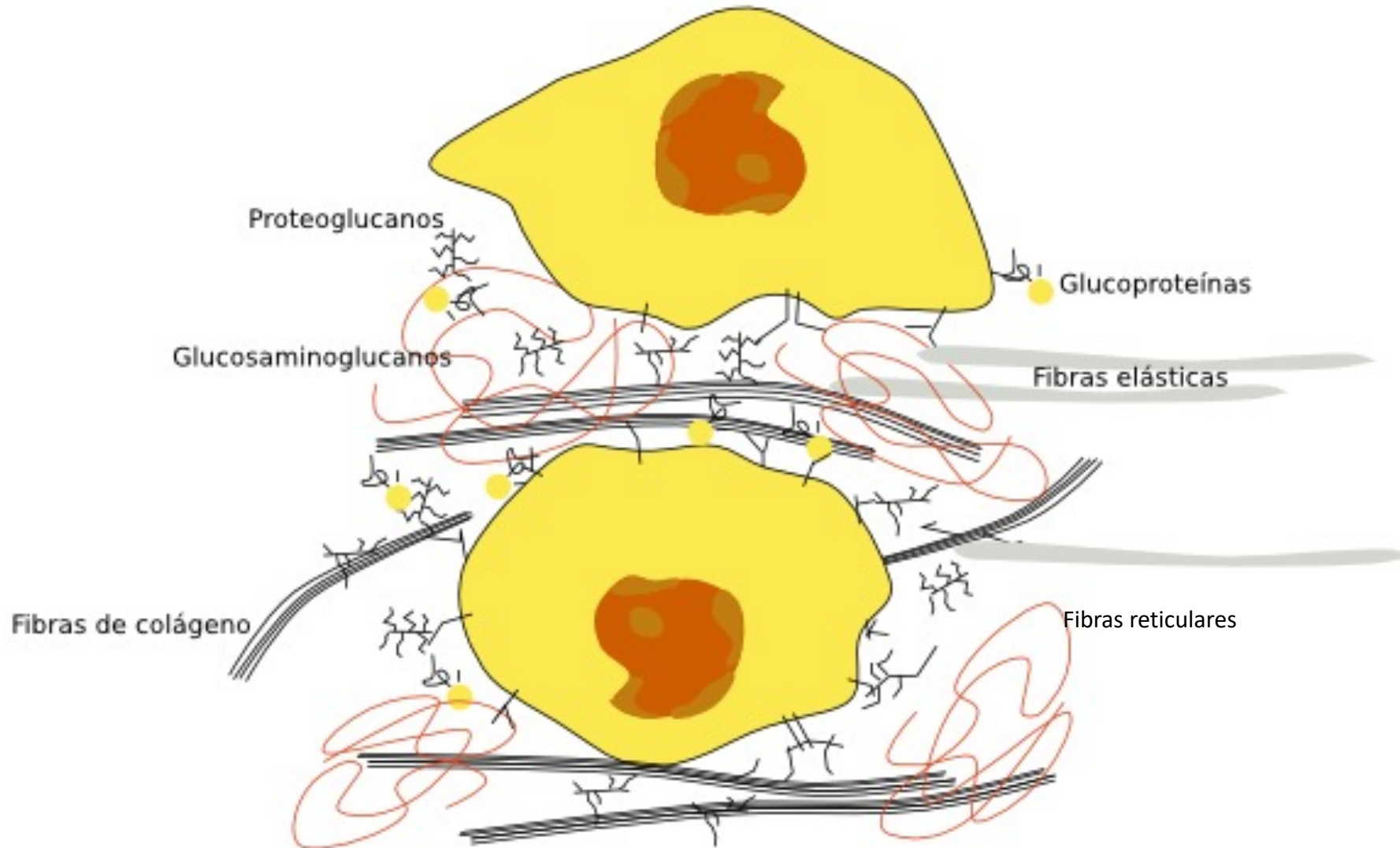
El **síndrome de Goodpasture** es una enfermedad inmunológica provocada por la presencia de anticuerpos **anti-colágeno IV**



Glomerulonefritis rápidamente progresiva (GNRP) y hemorragia alveolar

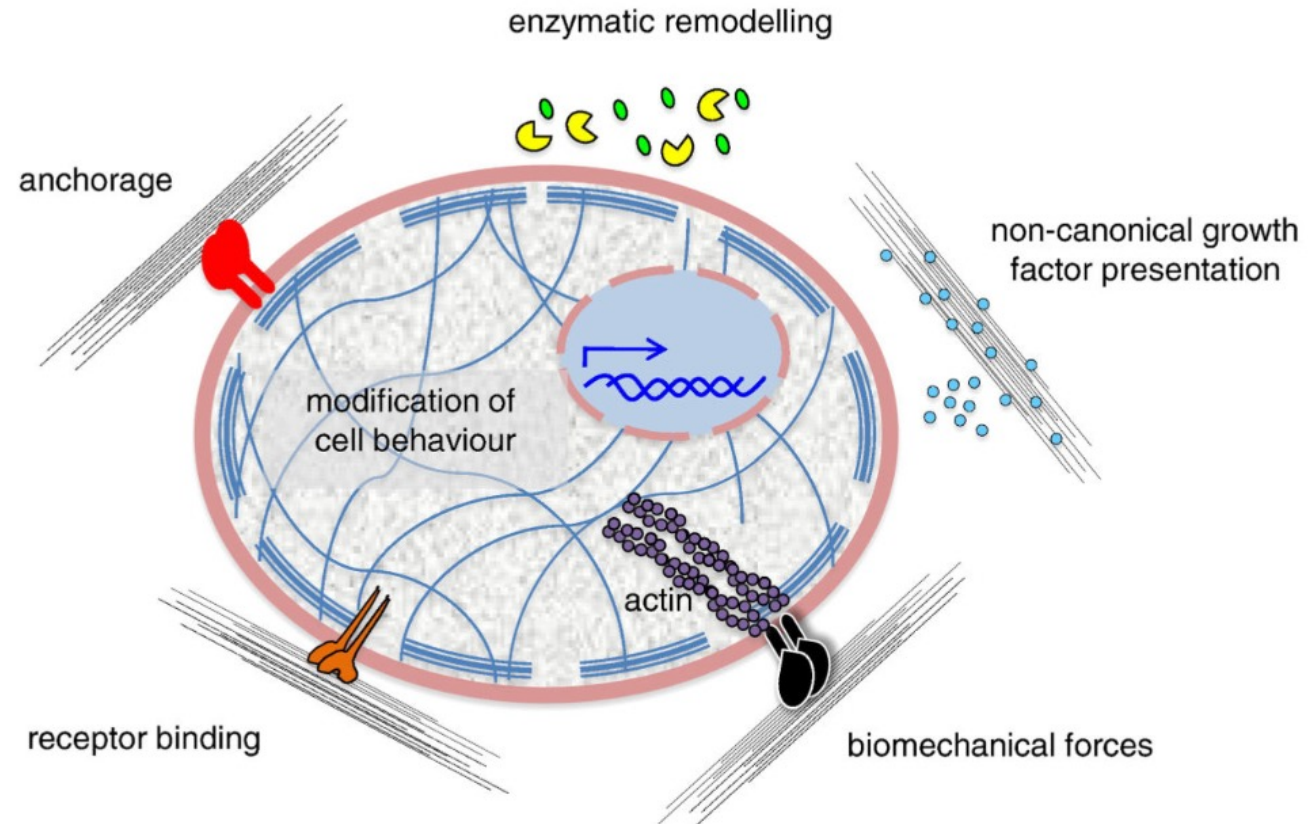
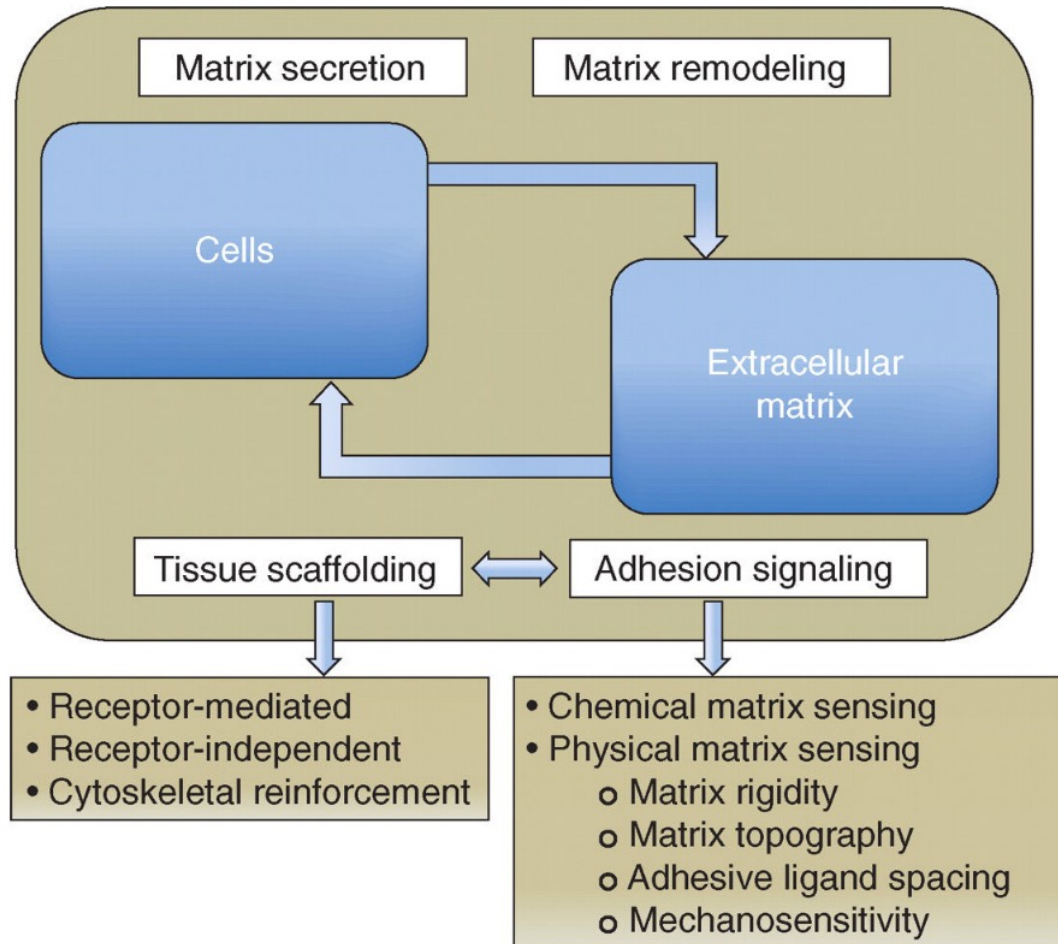
Matriz extracelular

Conjunto de macromoléculas elaborado y secretado por las células hacia el espacio extracelular



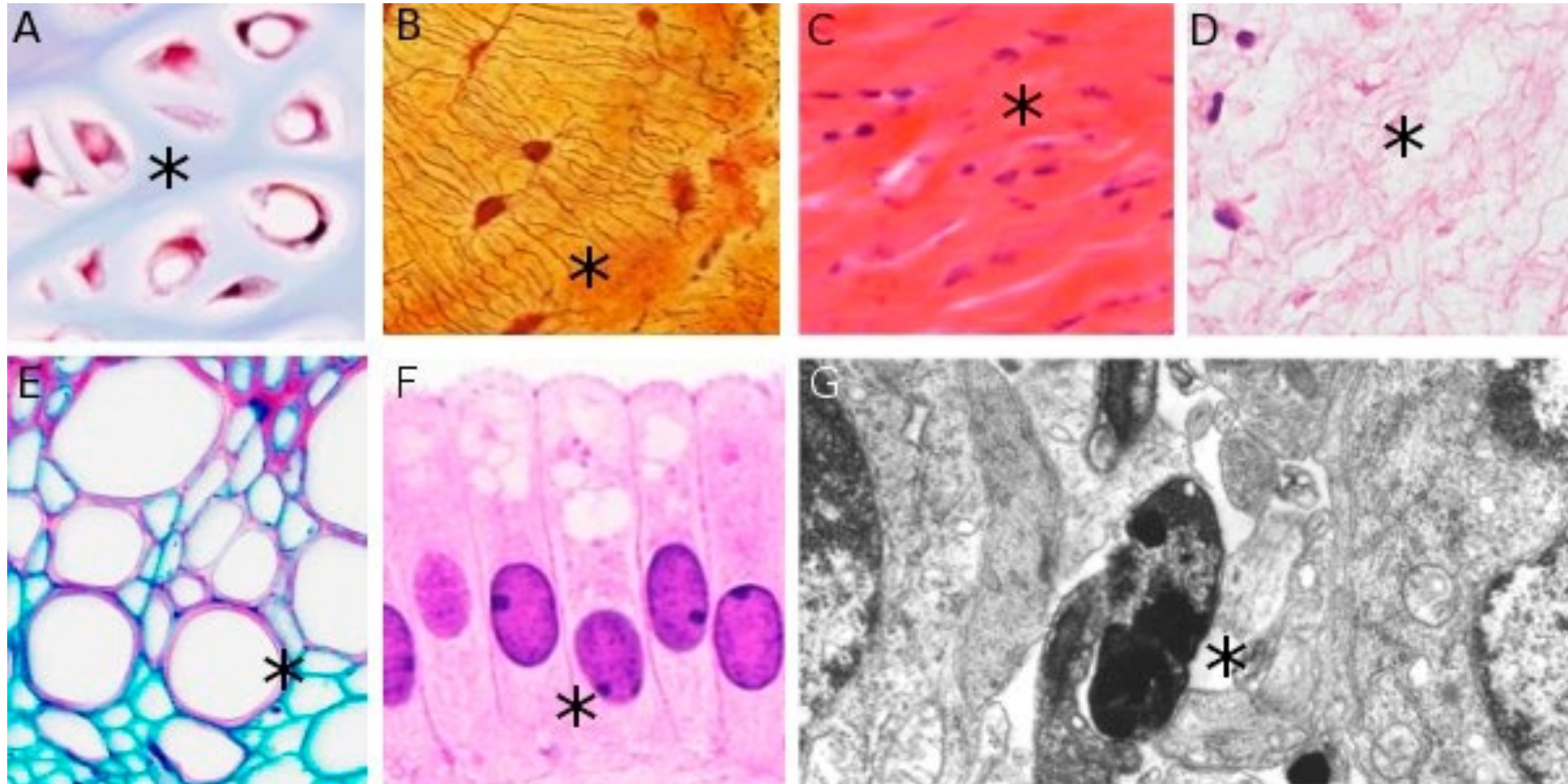
Matriz extracelular

“Comunicación” constante entre matriz extracelular y células



Matriz extracelular

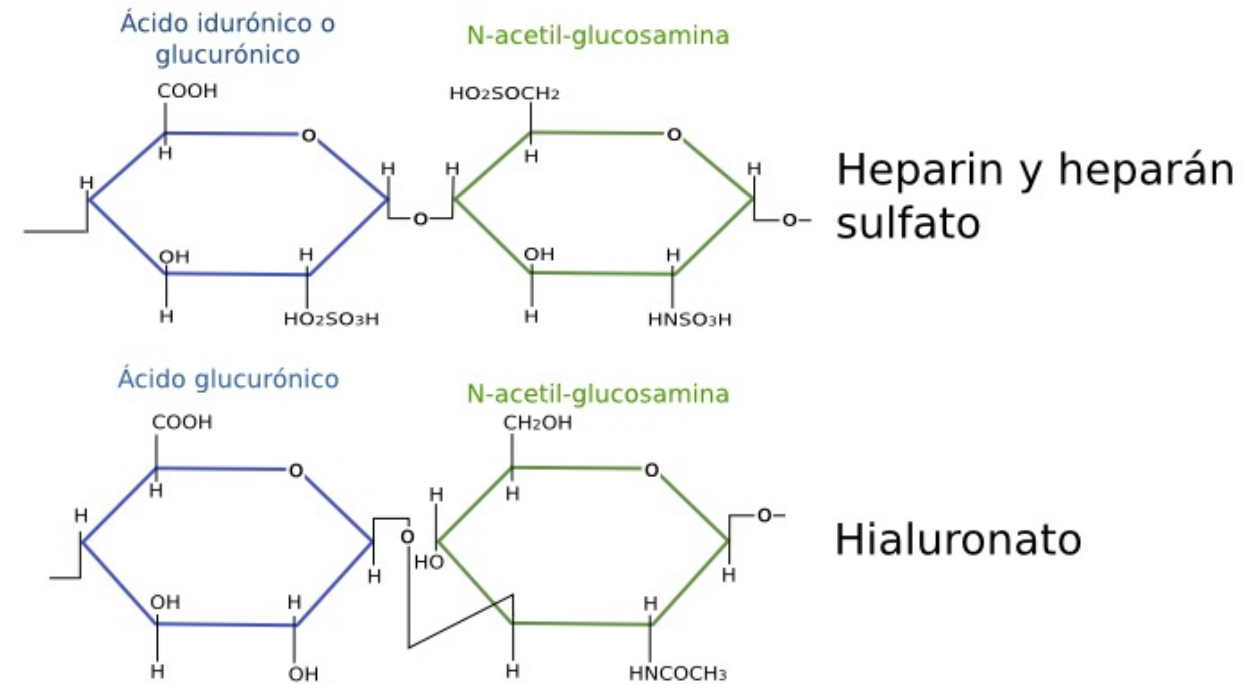
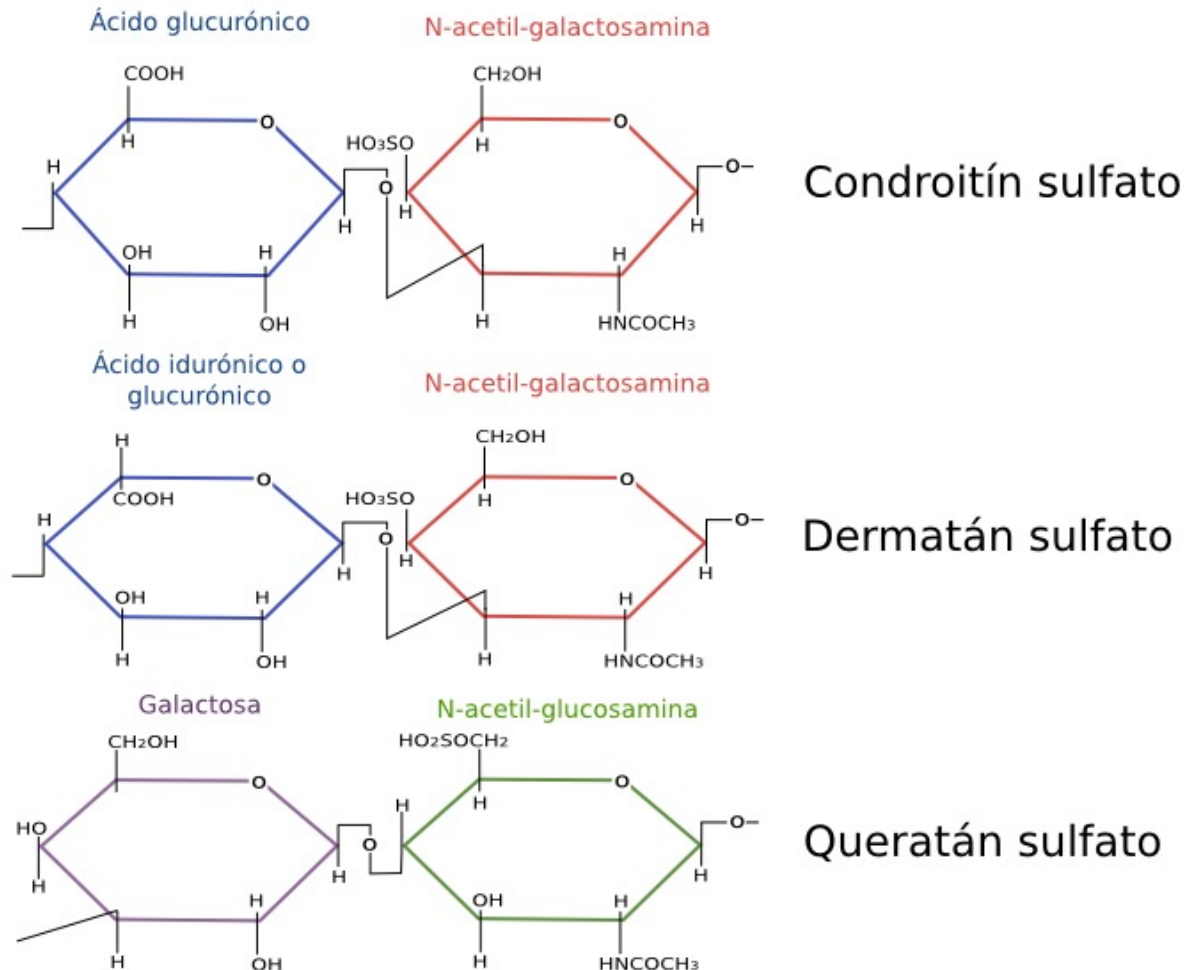
Su abundancia y características son muy variadas en función del tipo de tejido



Se compone de una sustancia fundamental hidratada con fibras incluidas en ella

Matriz extracelular: sustancia fundamental

Los **glucosaminoglucanos (GAG)** son polisacáridos de cadenas largas, inflexibles, sin ramificaciones, compuestos por unidades repetidas de disacáridos (70-200 residuos)



Matriz extracelular: sustancia fundamental

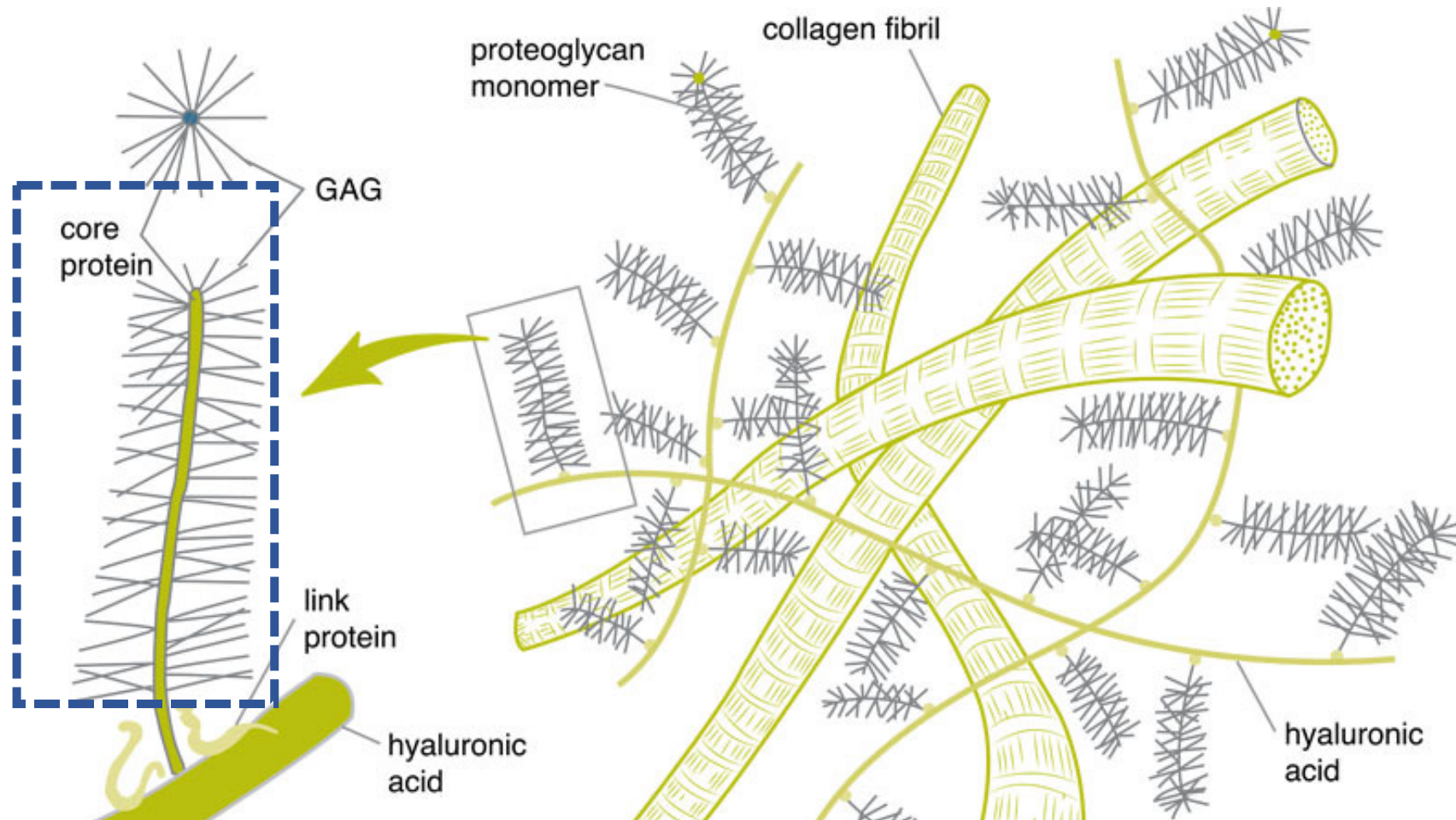
Los glucosaminoglucanos (GAG):

- Regulan los movimientos de las células dentro de la matriz extracelular
- Sirven de relleno
- Resisten a las fuerzas compresivas

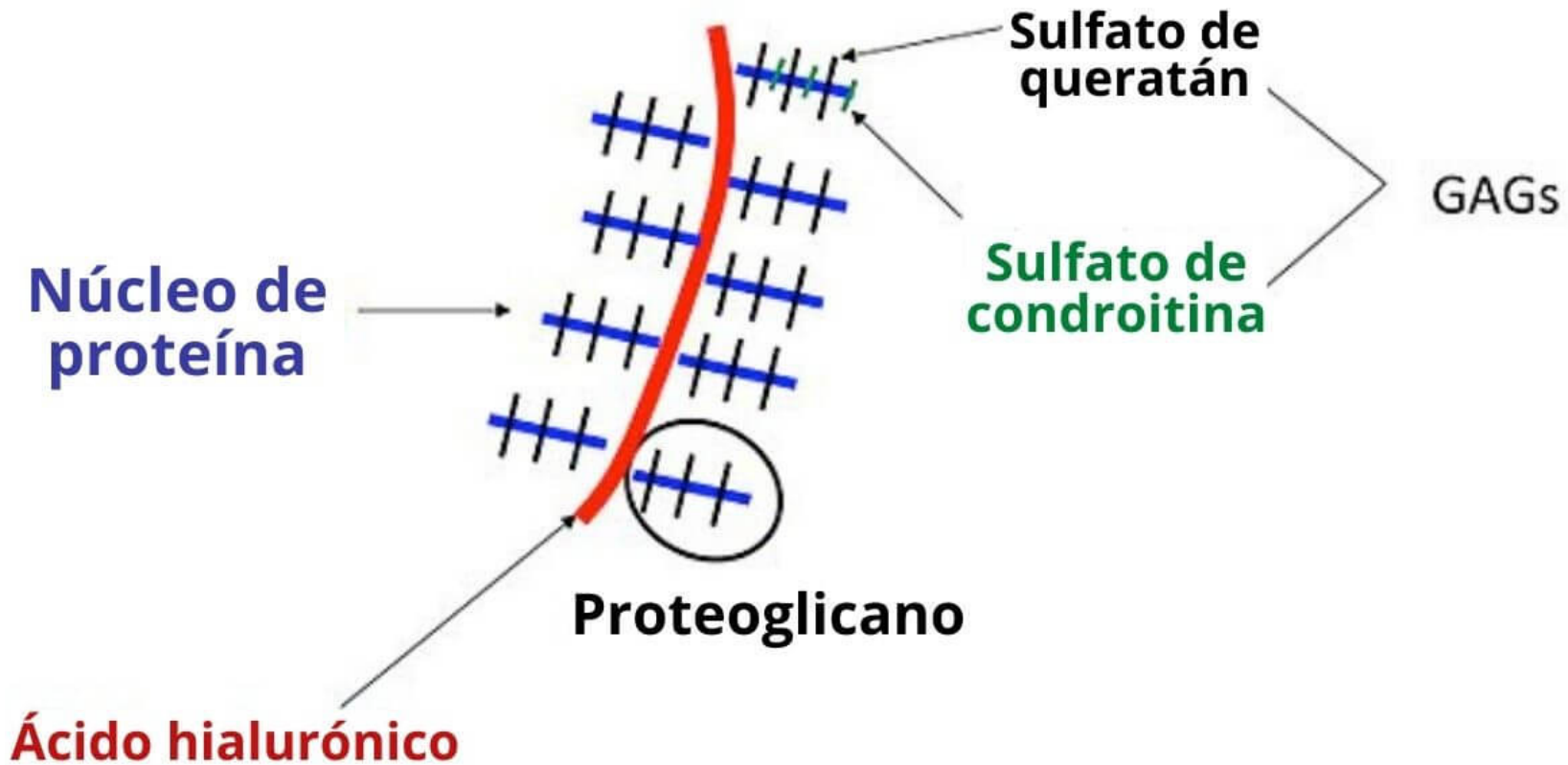
Glucosaminoglucano	Disacárido	Localización	Características
Condroitín sulfato	N-acetilgalactosamina + Ácido D-glucurónico	Cartílago Hueso Válvulas cardíacas	GAG más abundante
Ácido hialurónico	N-acetilglucosamina + Ácido D-glucurónico	Líquido sinovial Humor vítreo MEC de tejido conectivo laxo	Polímeros grandes y absorbentes.
Heparán sulfato	N-acetilglucosamina + Ácido D-glucurónico/L-idurónico	Membranas basales. Componentes de las superficies celulares	Contienen más glucosamina que la heparina
Queratán sulfato	N-acetilglucosamina + Galactosa	Tejidos vasculares Cornea Discos intervertebrales.	Amortiguador para absorber el shock mecánico.

Matriz extracelular: sustancia fundamental

Los **proteoglucanos (PG)** son complejos macromoleculares de GAG unidos de forma covalente a un núcleo proteico de longitud variable



Matriz extracelular: sustancia fundamental



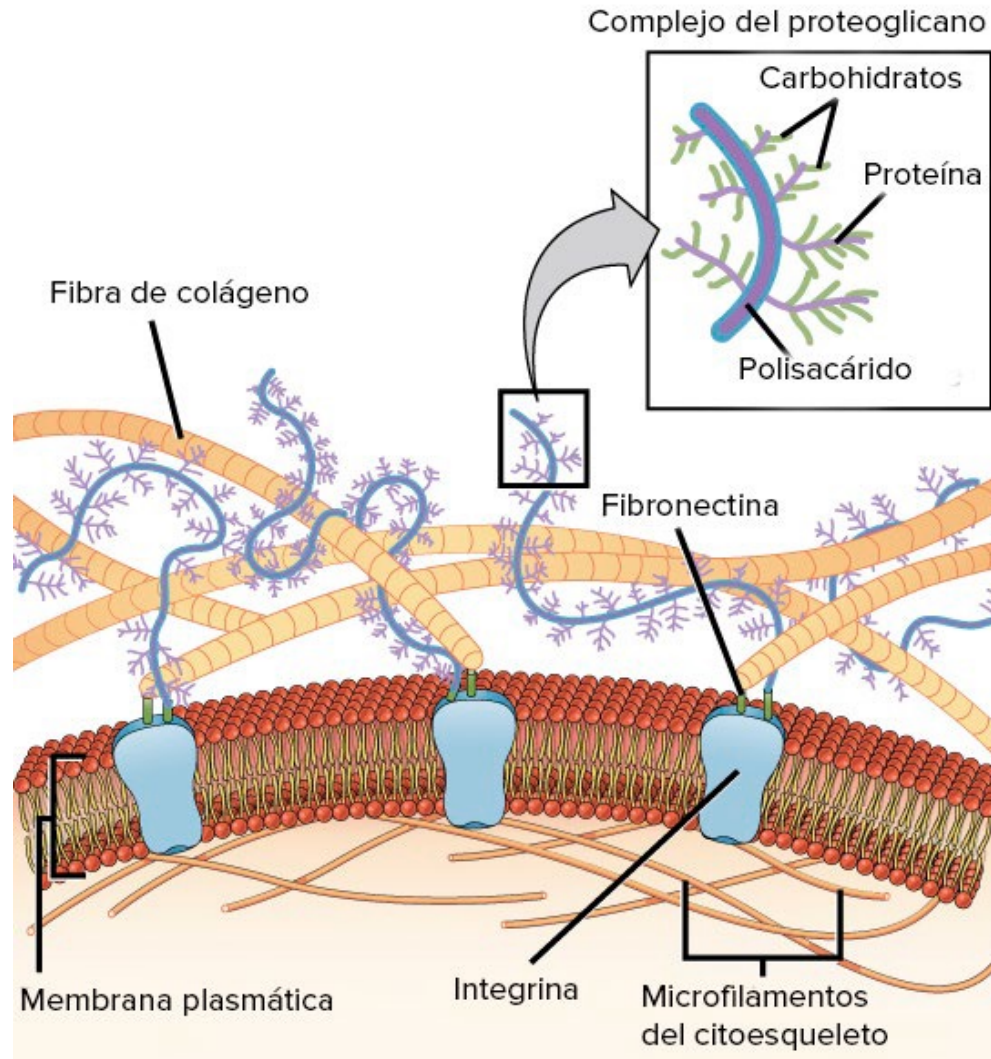
- Soporte mecánico.
- Resistencia a la compresión.
- Modulan la señalización uniéndose a factores de crecimiento.
- Barrera a la entrada de microorganismos.

Matriz extracelular: sustancia fundamental

Proteoglucanos	Localización	Composición
Agrecano	Abunda en cartílago	2326aa. Condritin sulfato, queratan sulfato y dermatan sulfato
Sindecano	Componente de la mp. Une factores de crecimiento	Heparan sulfato
Perlecan	Abunda en membranas basales	Heparan sulfato y a veces sulfato de cornitina
Decorina	Tejido conectivo	Condritin sulfato o dermantan sulfato
Versicano	Tejido conectivo	Condritin sulfato

Matriz extracelular: sustancia fundamental

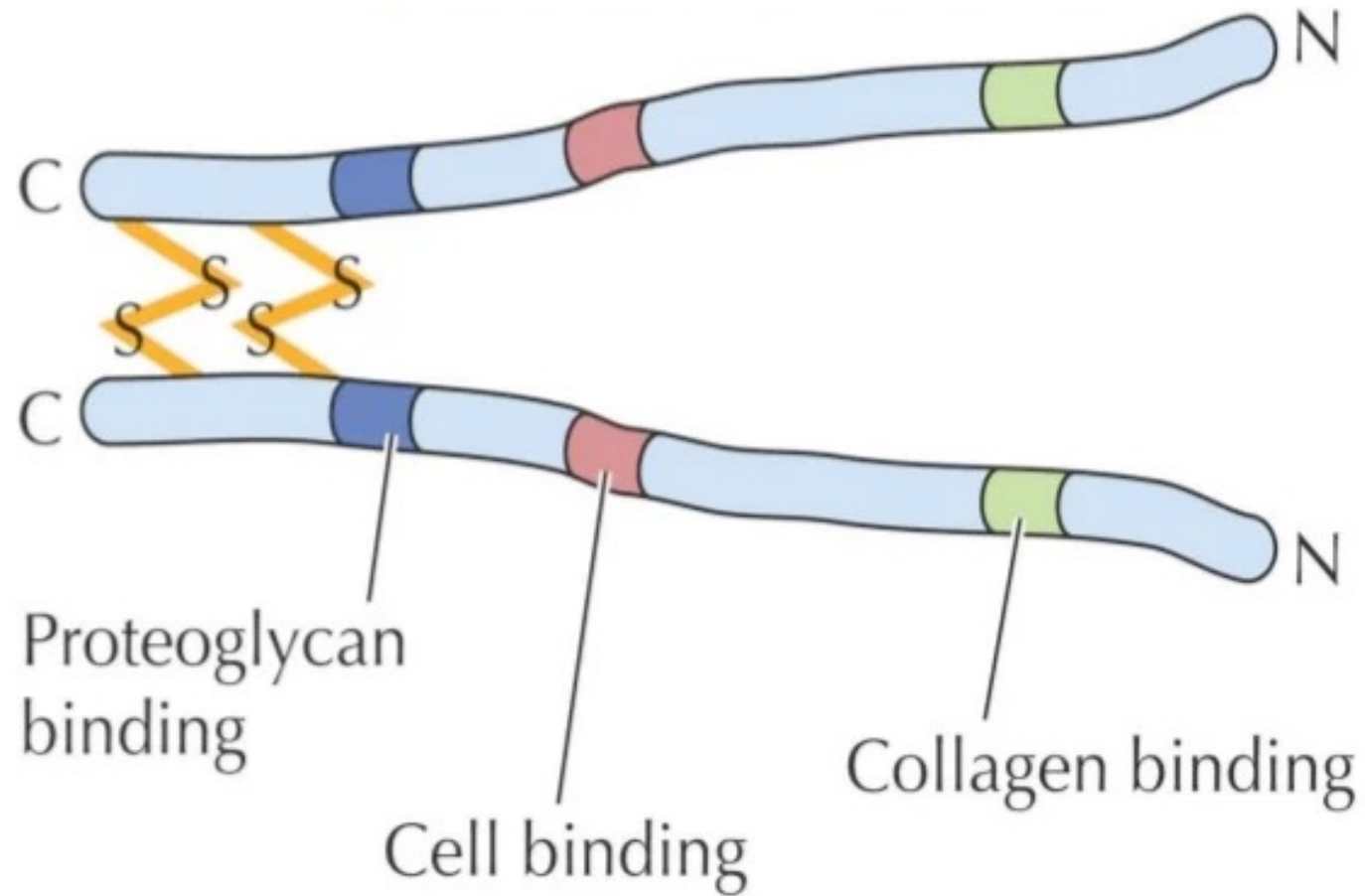
La capacidad de las células para adherirse a componentes de la MEC está mediada por **glucoproteínas adhesivas**



- **Fibronectina**
- **Laminina**
- **Entactina**
- **Tenascina**

Matriz extracelular: sustancia fundamental

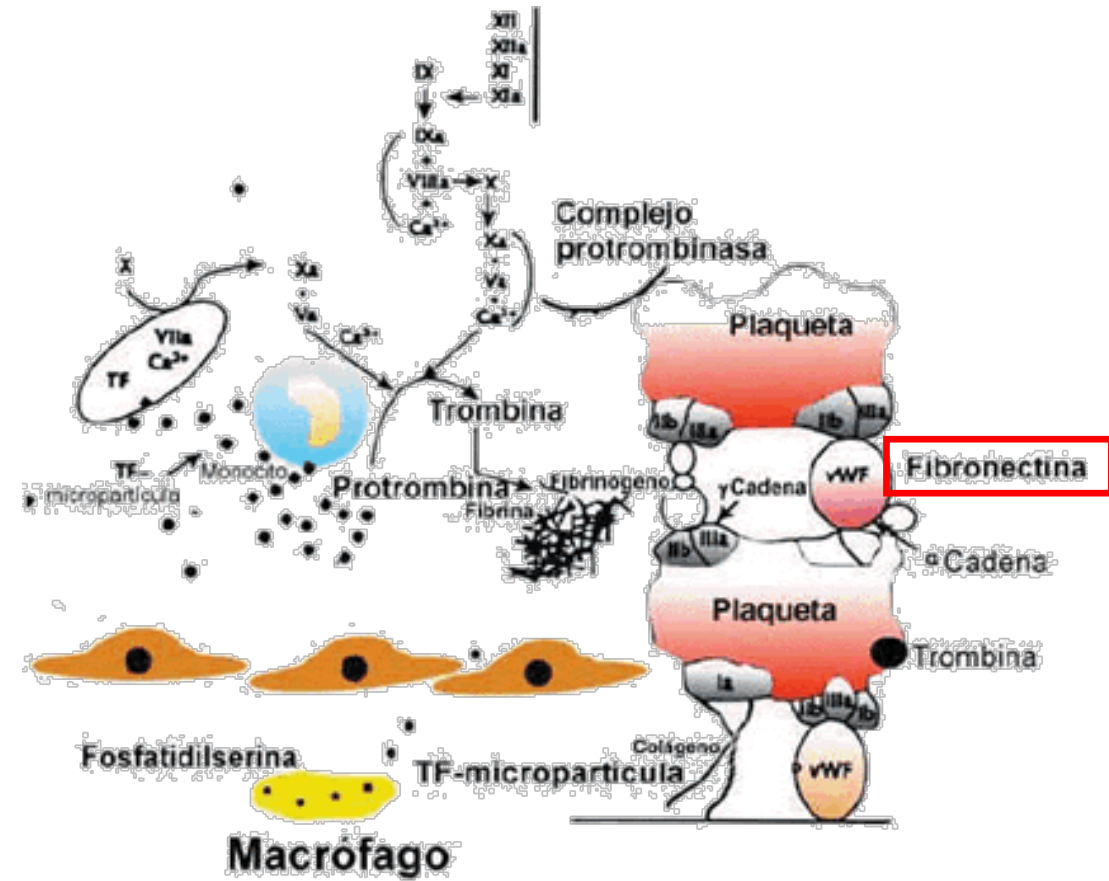
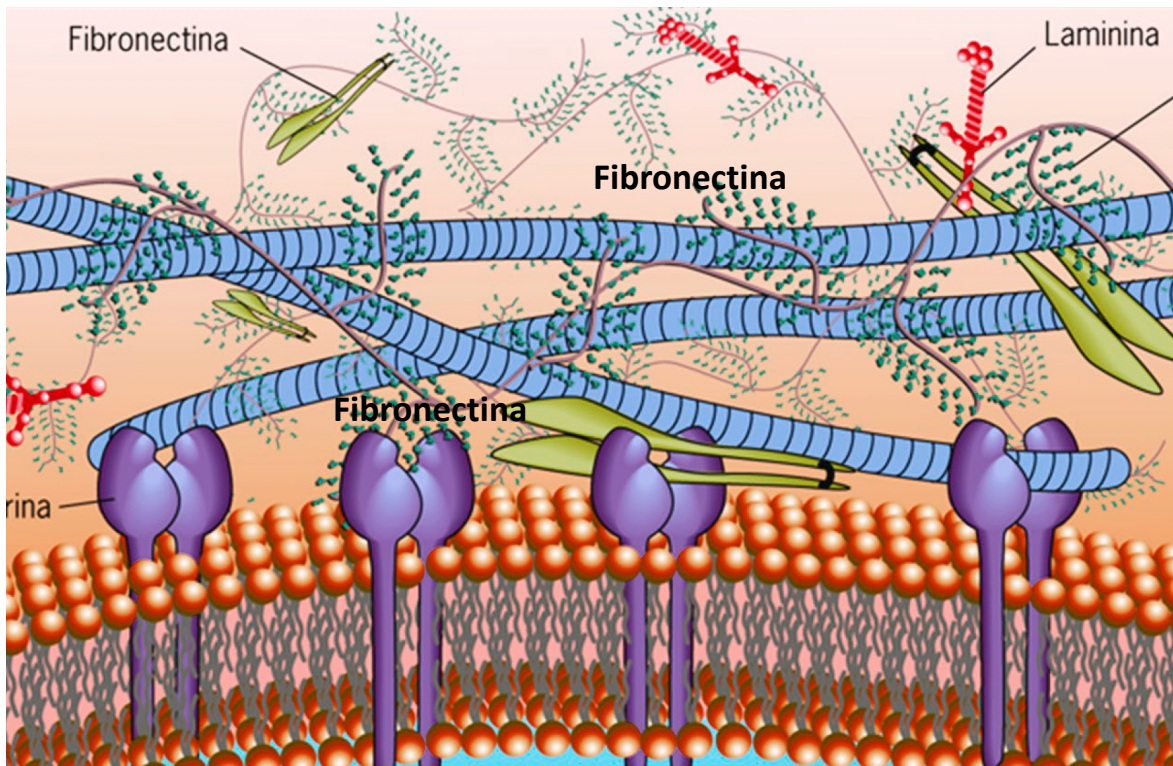
La **fibronectina** está compuesta por dos subunidades unidas entre sí por S-S



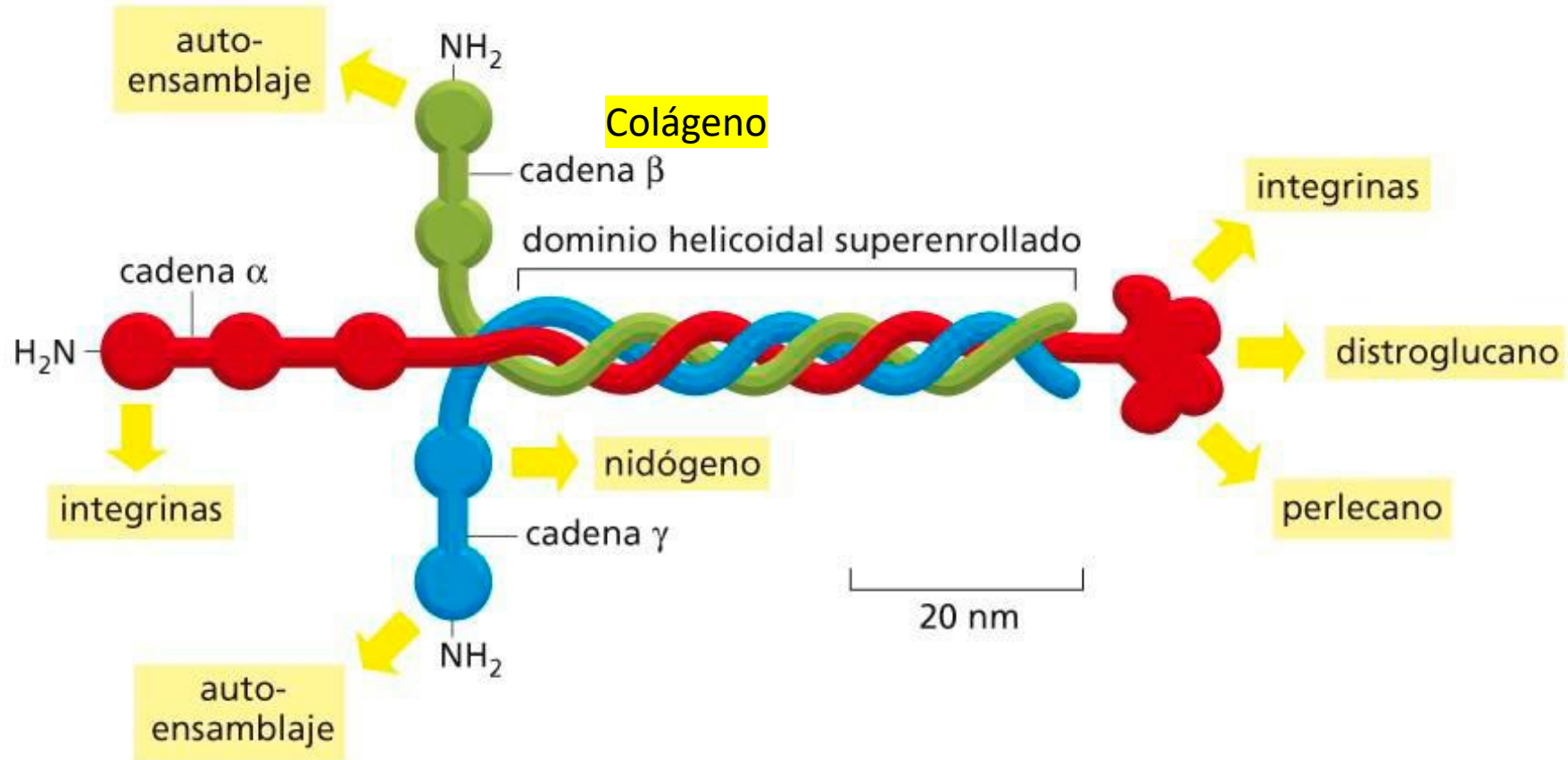
Fibroblastos, miofibroblastos, condrocitos, células de Schwann, astrocitos y células epiteliales y endoteliales

Matriz extracelular: sustancia fundamental

La **fibronectina** está compuesta por dos subunidades unidas entre sí por S-S



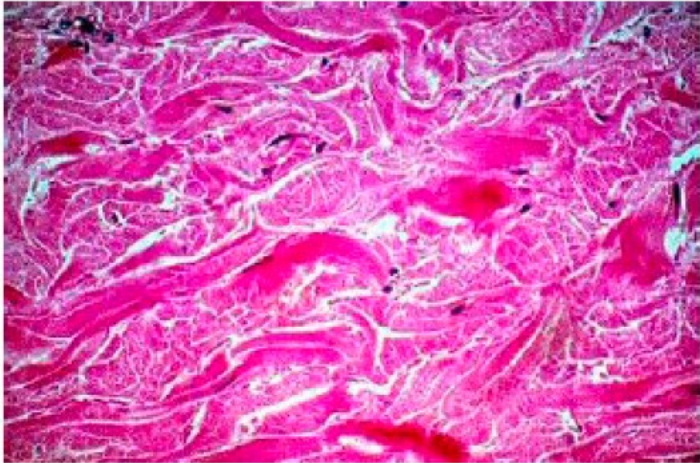
Matriz extracelular: sustancia fundamental



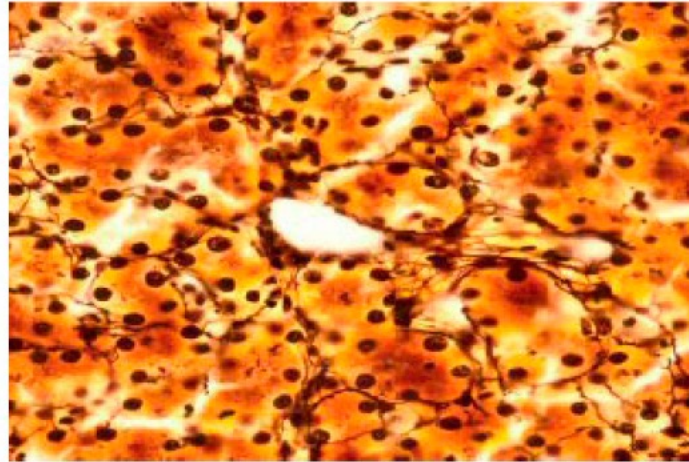
La laminina es una de las principales moléculas extracelulares de **unión entre las células y la MEC**

Matriz extracelular: fibras de la MEC

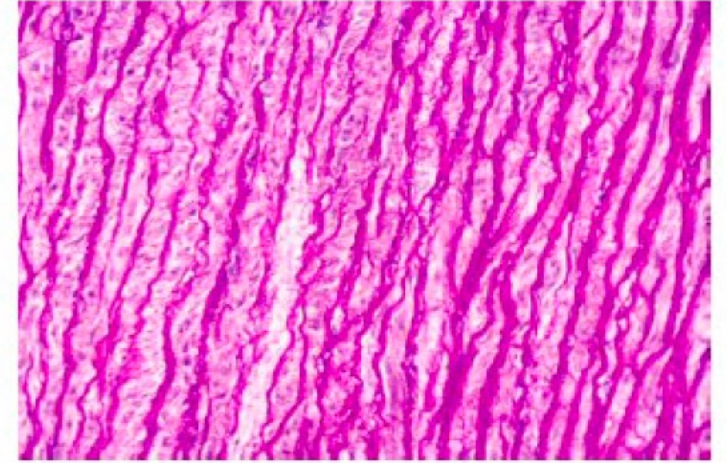
Están presentes en cantidades variables, según las necesidades estructurales y la función del tejido



Fibras de colágeno



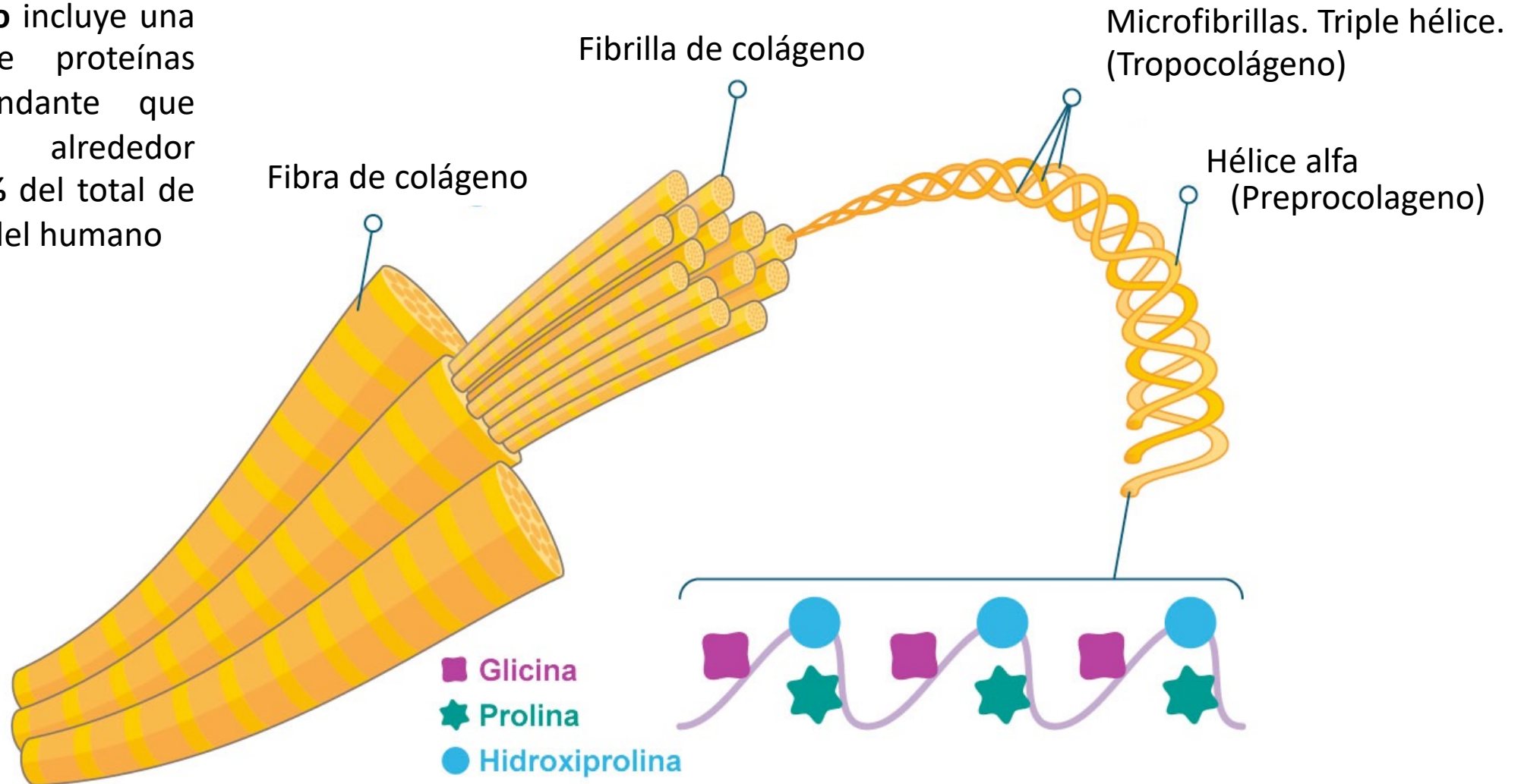
Fibras reticulares



Fibras elásticas

Matriz extracelular: fibras de la MEC

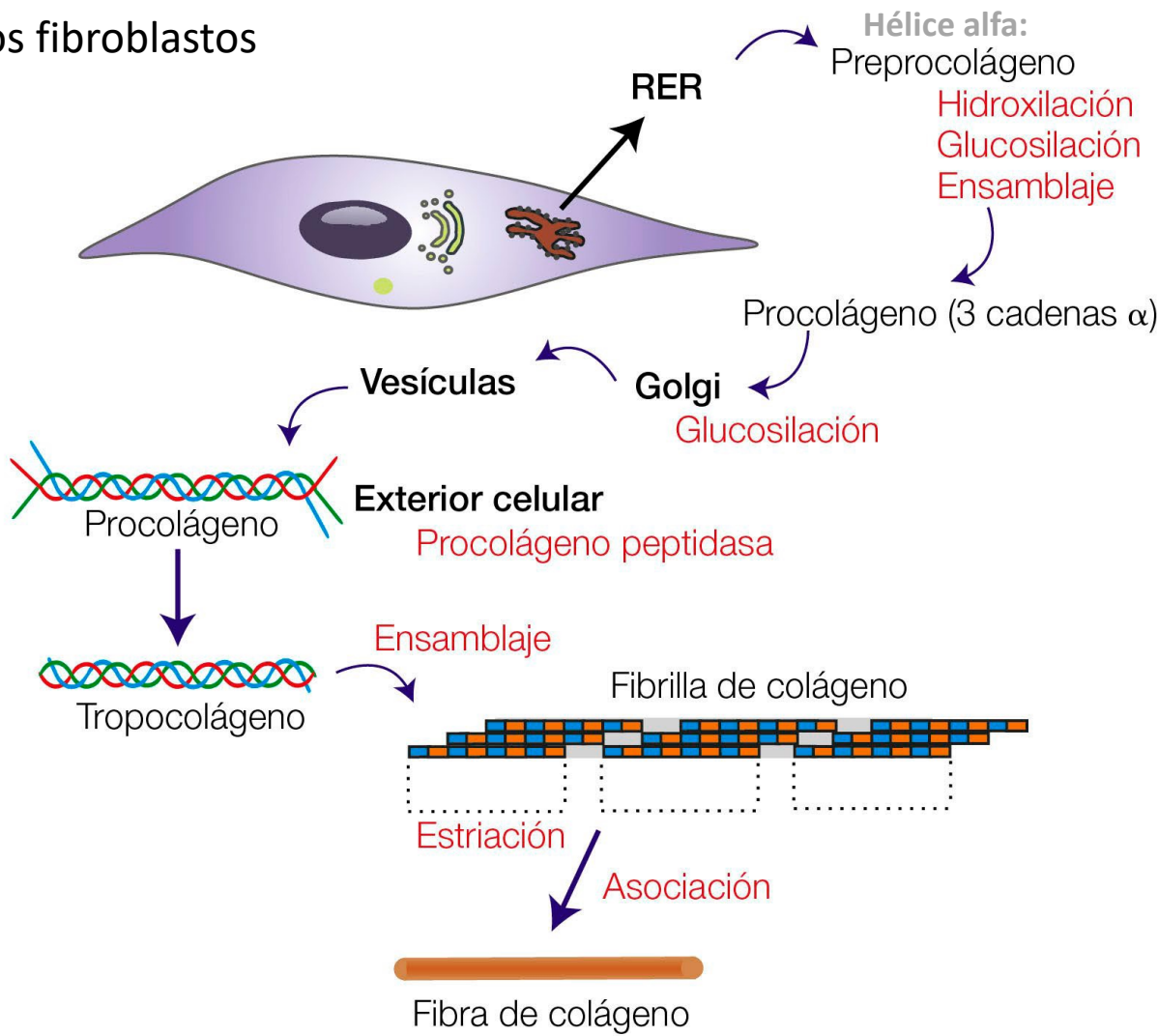
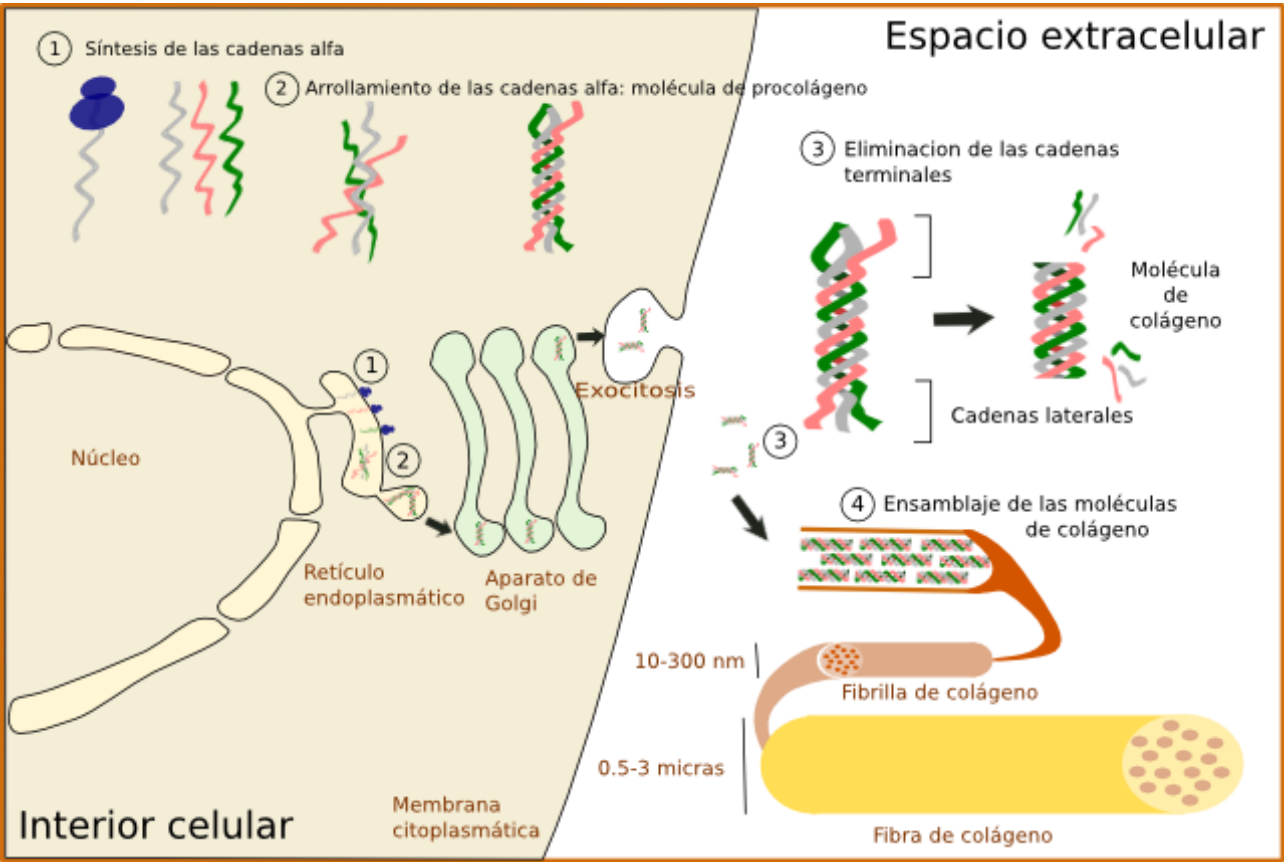
El **colágeno** incluye una familia de proteínas muy abundante que constituye alrededor del **20-25%** del total de proteínas del humano



Son fibras flexibles con una notable resistencia tensora en sentido longitudinal

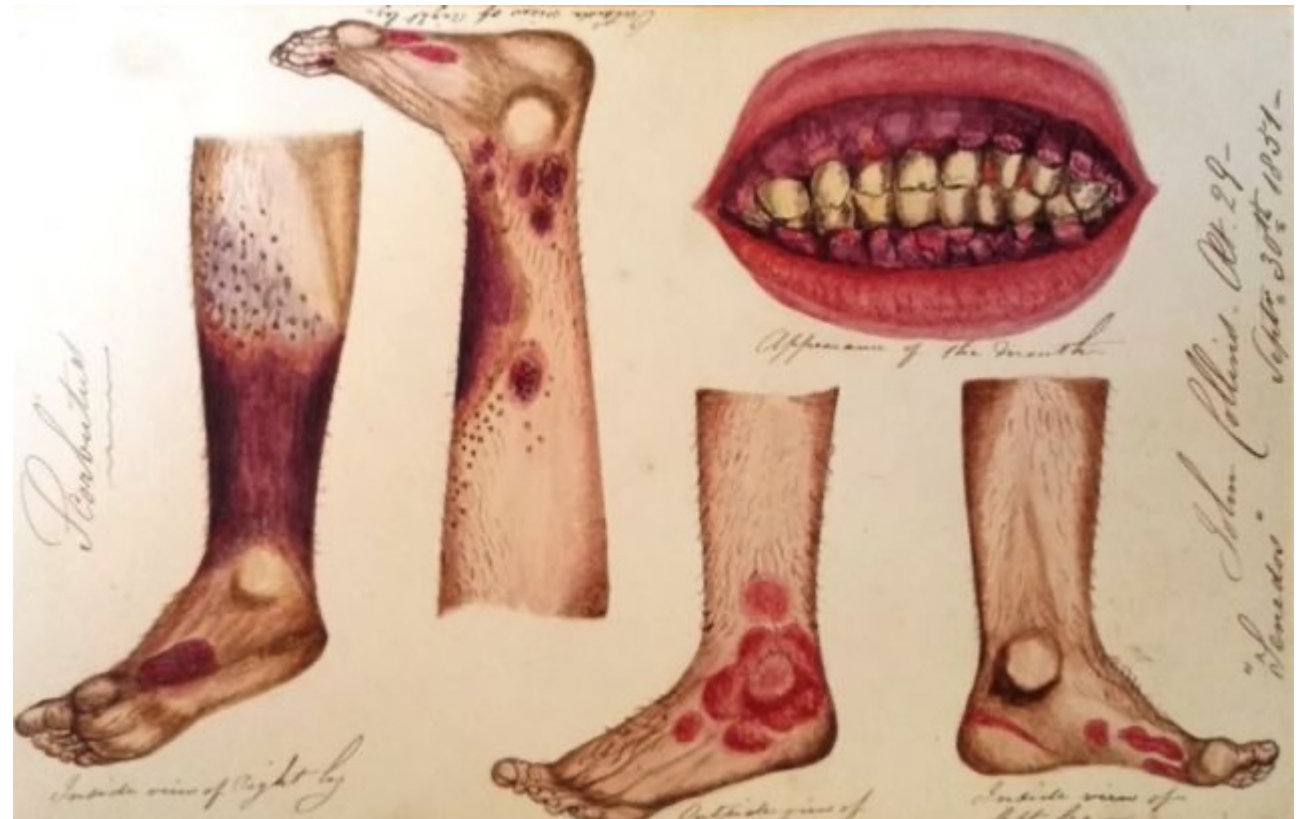
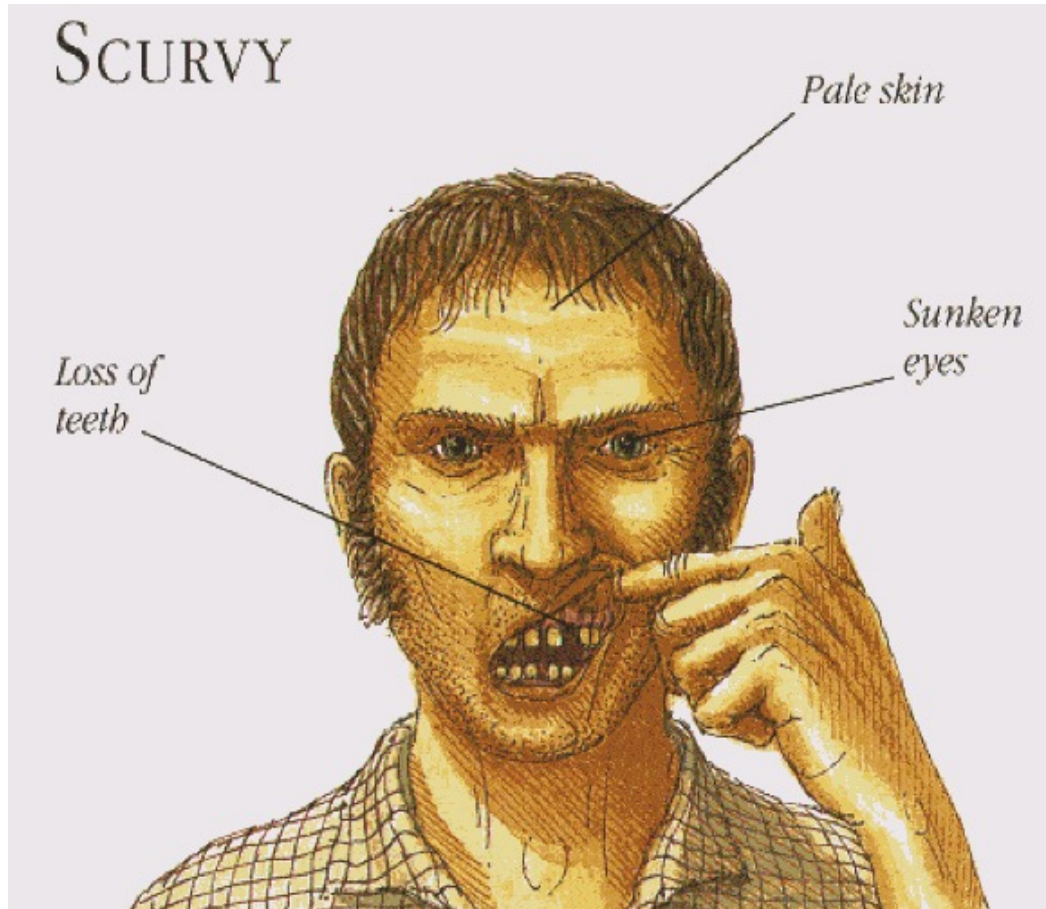
Matriz extracelular: fibras de la MEC

El colágeno se sintetiza en los fibroblastos



Matriz extracelular: fibras de la MEC

En el **escorbuto**, enfermedad producida por la carencia de vitamina C, no se forman fibras de colágeno normales



El a. ascórbico es necesario en la prolilhidroxilasa y la lisilhidroxilasa, **que catalizan la hidroxilación**

Matriz extracelular: fibras de la MEC

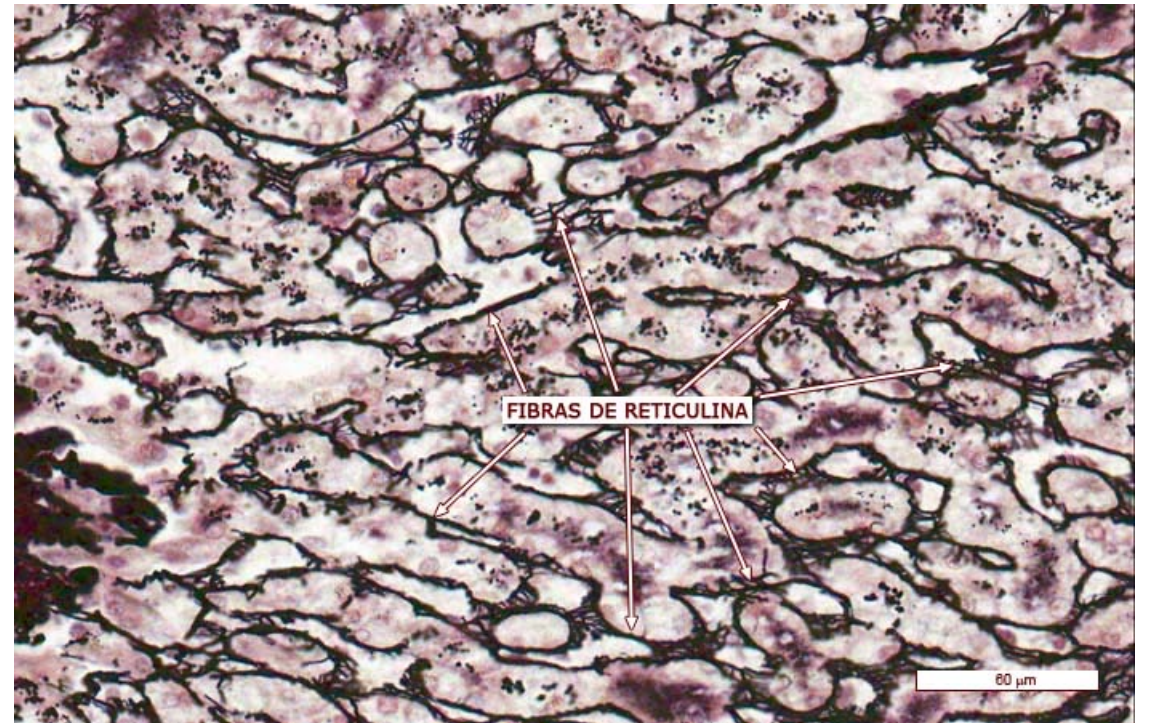
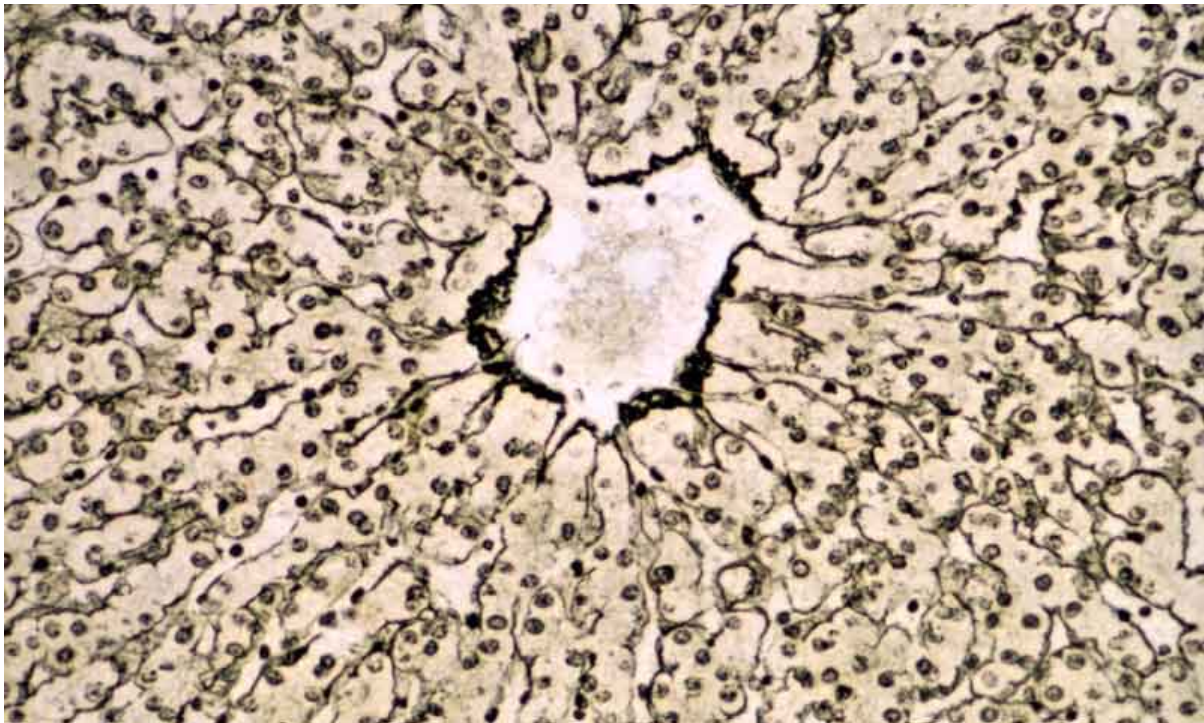
Tipo	I	II	III	IV	V
Morfología	Gran fibra de colágeno con bandas	Fibra de colágeno delgado sin banda	Fibras de colágeno delgado con bandas	Capas aplanadas	Fibras delgadas
Distribución	Dermis, Tendón, Hueso, Ligamentos, Fascias, Cartilago Fibroso, Córnea, Tejido fibroso laxo	Cartilago hialino y Elástico, Discos vertebrales, Vítreo del ojo	Vasos sanguíneos de órganos parenquimatosos, Médula ósea, Tejidos linfoides, Músculo liso, Nervios, Pulmón, piel del feto	Membranas basales, Láminas externas, Cápsula del cristalino	Membrana basal de la placenta, Músculo liso y esquelético

Matriz extracelular: fibras de la MEC

Tipo	VI	VII	VIII	XI	X
Morfología	Fibrillas delgadas	Fibrillas estriadas cortas	Cadenas y redes	fibrilla	Cadena corta
Distribución	ubicuo	Fibrillas de anclaje en la membrana basal de piel y el annios	endotelio	cartílago	Cartíago en mineralización

Matriz extracelular: fibras de la MEC

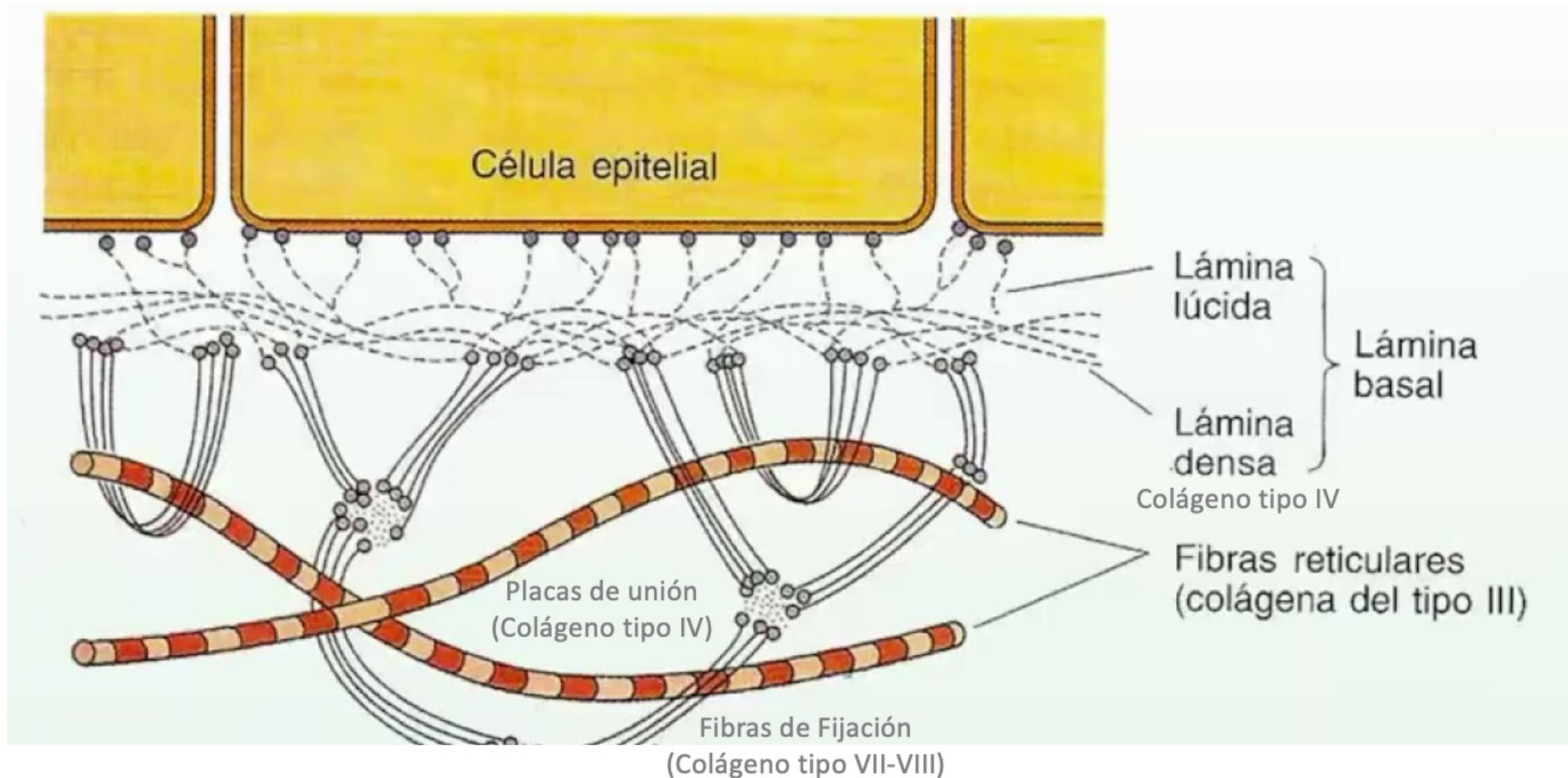
Las **fibras reticulares** se disponen en red (no en paralelo), están **formadas principalmente por fibrillas de COLAGENO TIPO III**



Se localizan en el tejido adiposo, membranas basales, órganos linfoides, entre otros.

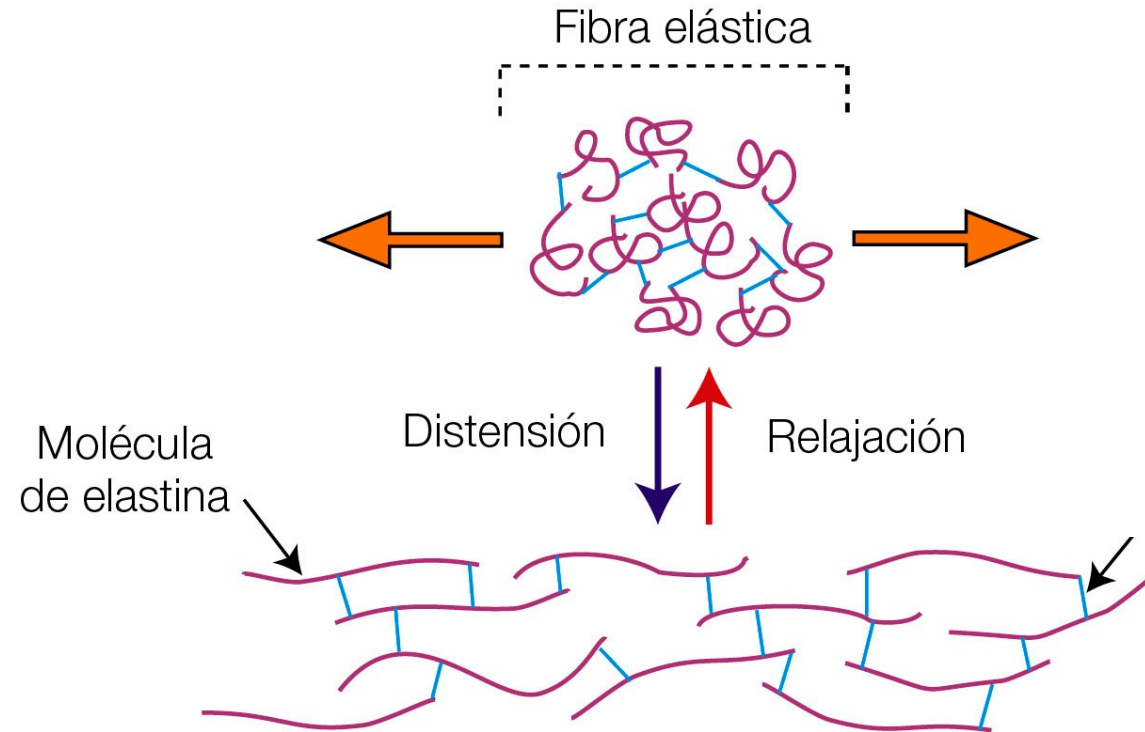
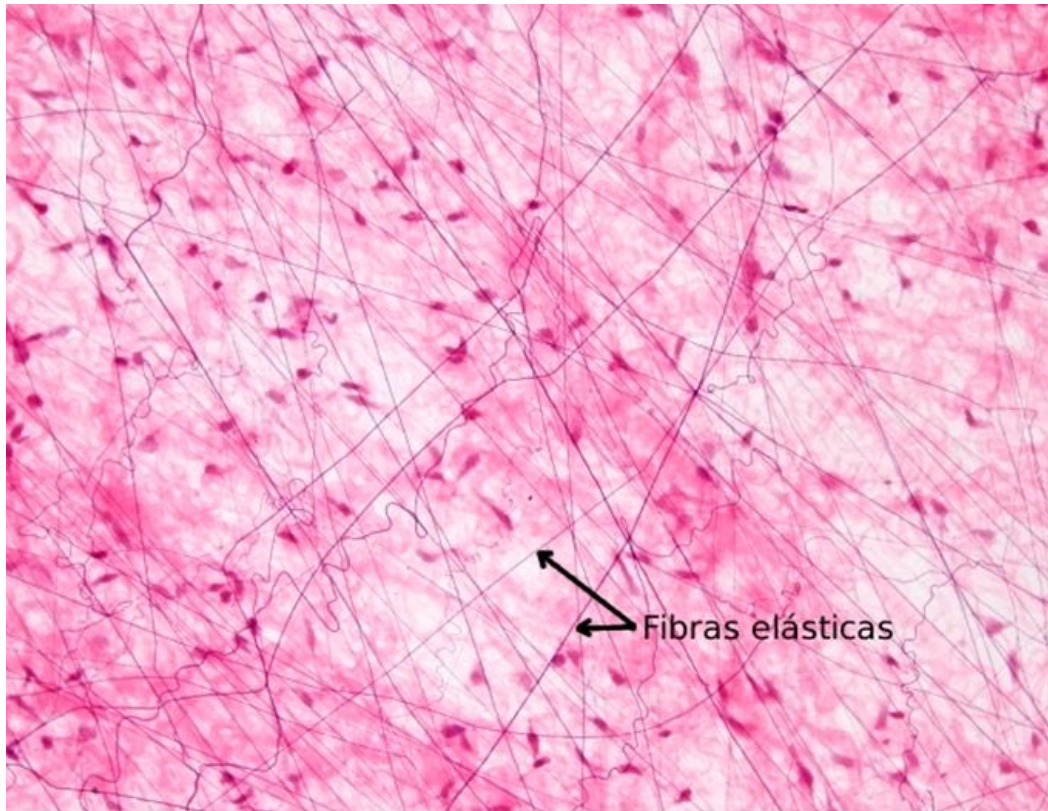
Matriz extracelular: fibras de la MEC

Las **fibras reticulares** se disponen en red (no en paralelo), están **formadas principalmente por fibrillas de COLAGENO TIPO III**



Matriz extracelular: fibras de la MEC

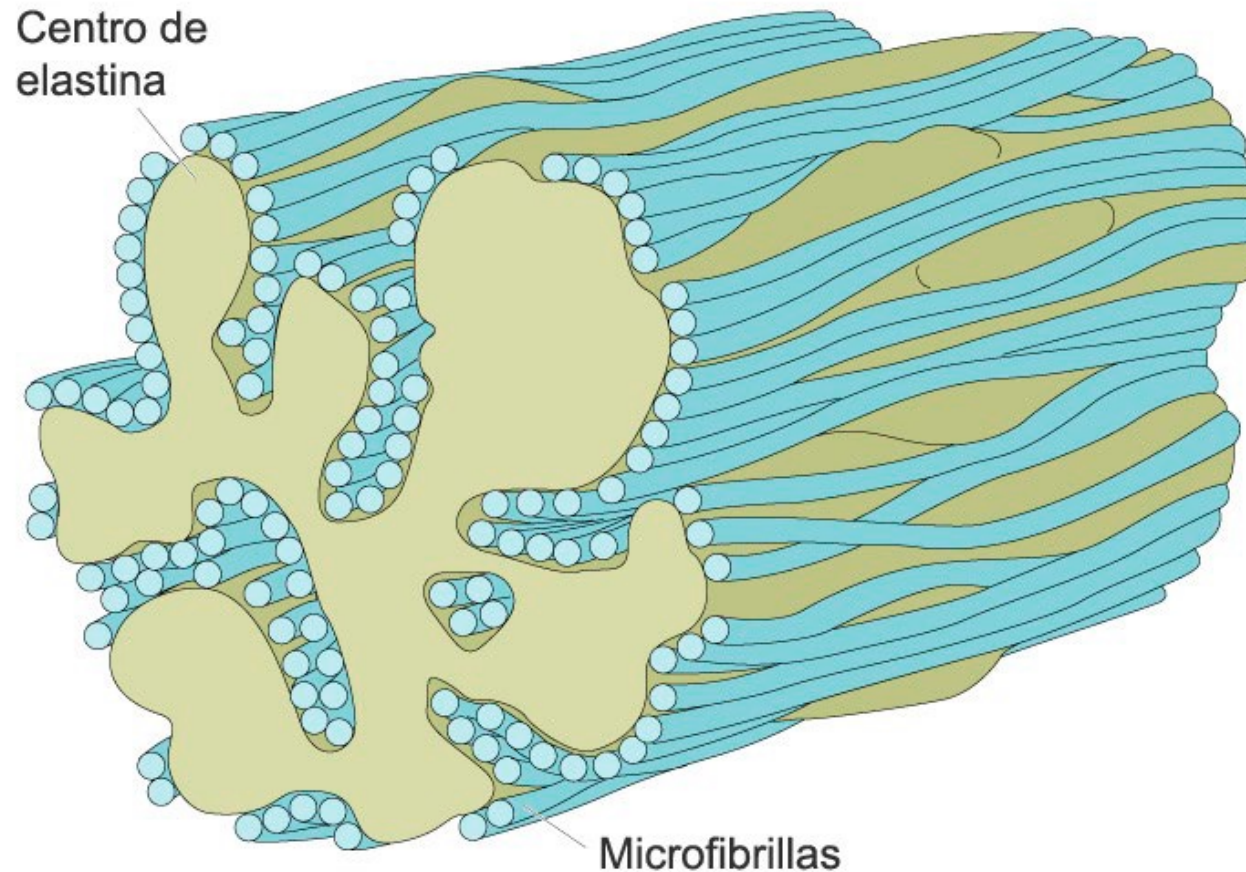
Las **fibras elásticas** son, típicamente más delgadas que las fibras de colágeno y se organizan en una red tridimensional



Son abundantes en órganos sometidos a fuerzas de estiramiento como ligamentos, arterias elásticas, vejiga, piel o vías aéreas

Matriz extracelular: fibras de la MEC

Las fibras elásticas tienen dos elementos: un centro amorfo con **ELASTINA** y una región externa y agosta con **MICROFIBRILLAS**



FIBRILINA

Fig. 4-11. Esquema de una fibra elástica. Las microfibrillas rodean la elastina amorfa.

Matriz extracelular: fibras de la MEC

Los pacientes con **Síndrome de Marfan** presentan mutaciones en el gen que codifica a la **fibrilina**

A



B



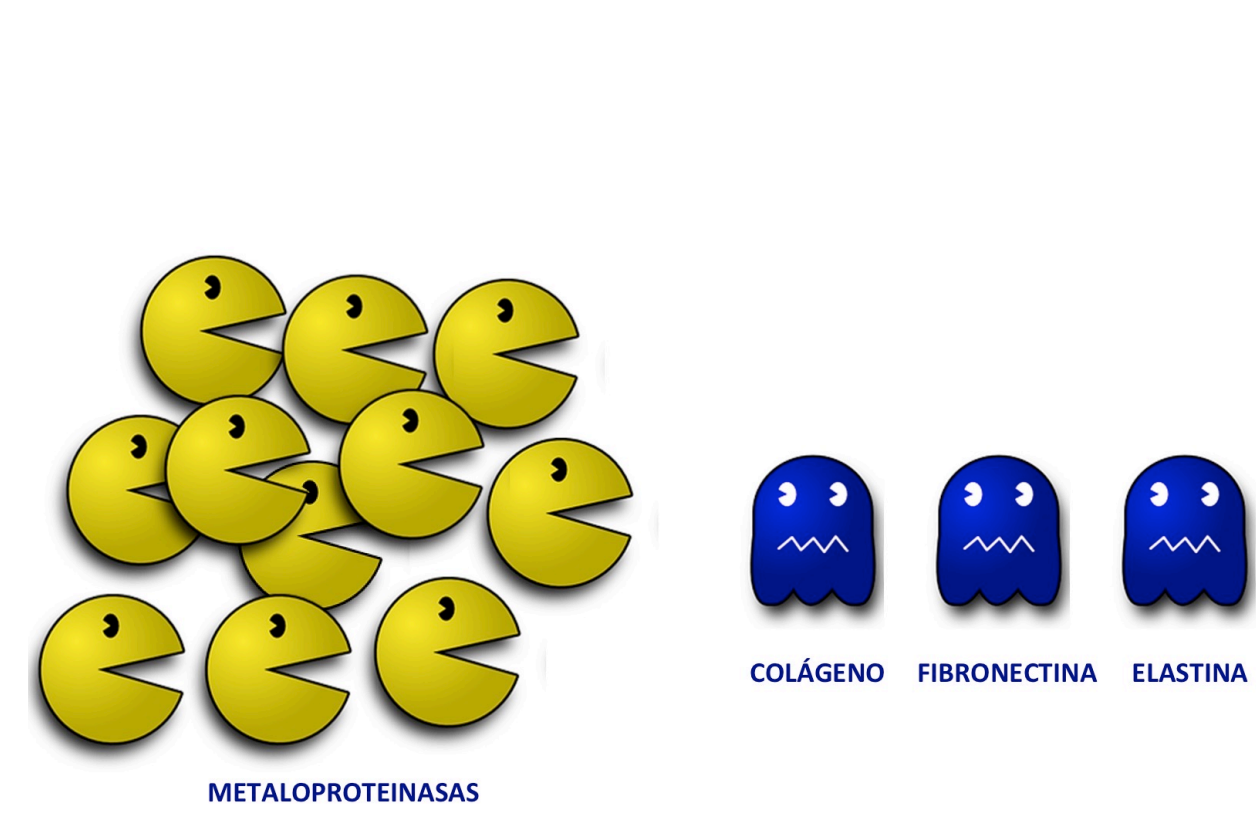
Matriz extracelular: fibras de la MEC

CUTIS LAXA O ELASTOLISIS



Remodelación de la matriz extracelular

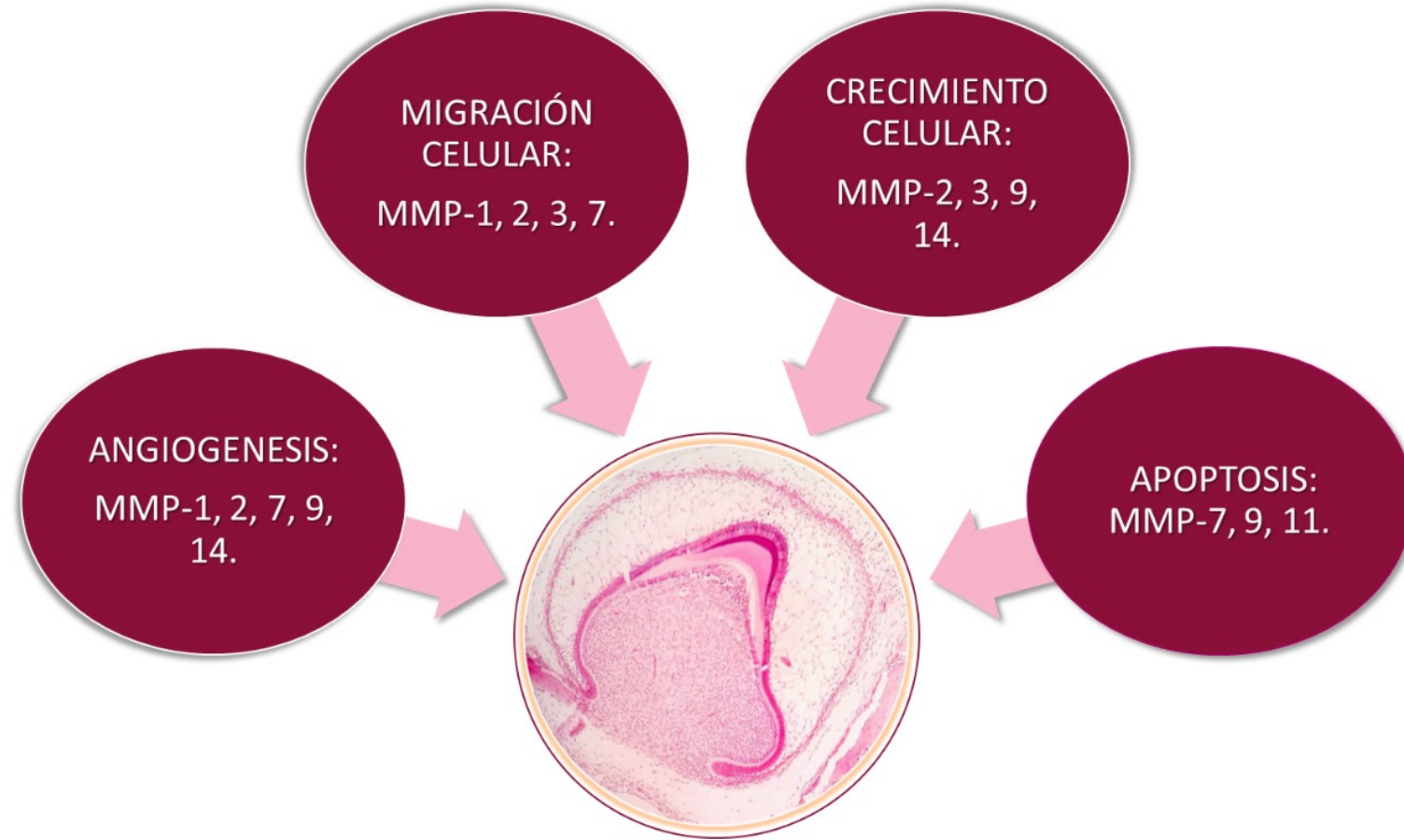
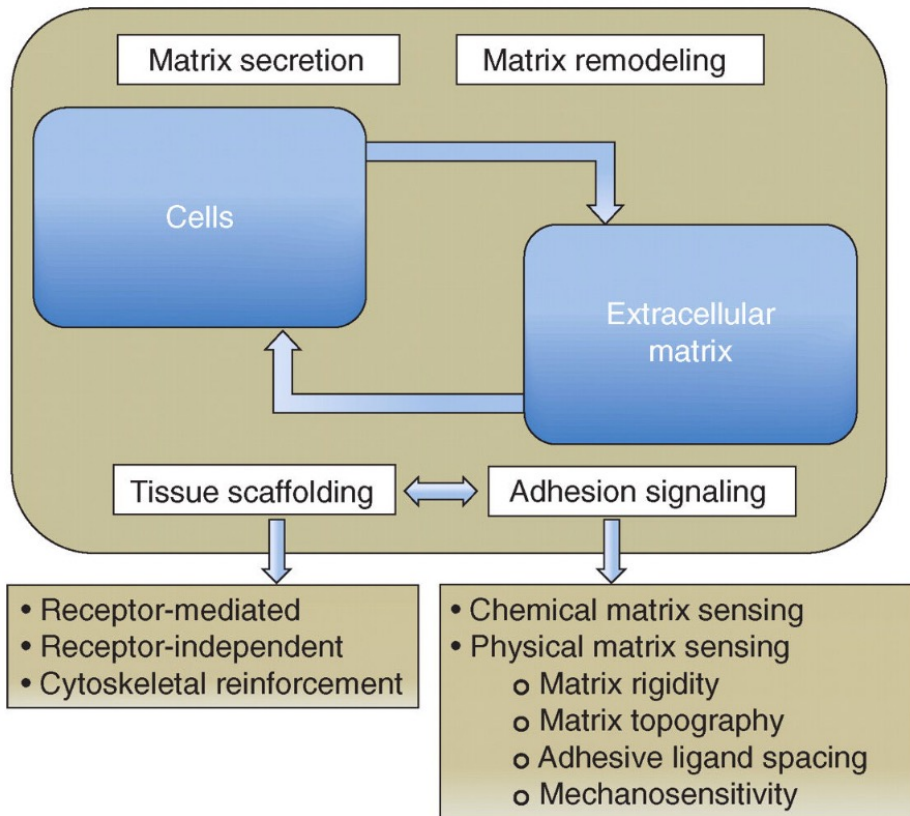
Está en constante remodelación mediante la degradación de componentes y la producción de otros nuevos por parte de las células: **METALOPROTEINASAS**



Grupo	Tipos	Sustratos
Colagenasas	1, 8, 13, 18	Colágenos I, II, II Otras
Gelatinasas	2, 9	Colágenos IV
Estromalisinas	3 y 10	Fibronectina Laminina Gelatinas I, III, IV, V Fibras colágeno Proteoglicanos
Matrilisinas	7, 26	Fibronectina Gelatinas Plasminógeno
Asociadas a membrana		
Transmembrana	14, 15, 16, 24	Colágeno I, II, III Otros
Unidas a membrana	17, 25	

Fibroblastos, células epiteliales, condrocitos, osteoclastos, leucocitos...

Remodelación de la matriz extracelular





Universidad de Valladolid

La célula y su entorno

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

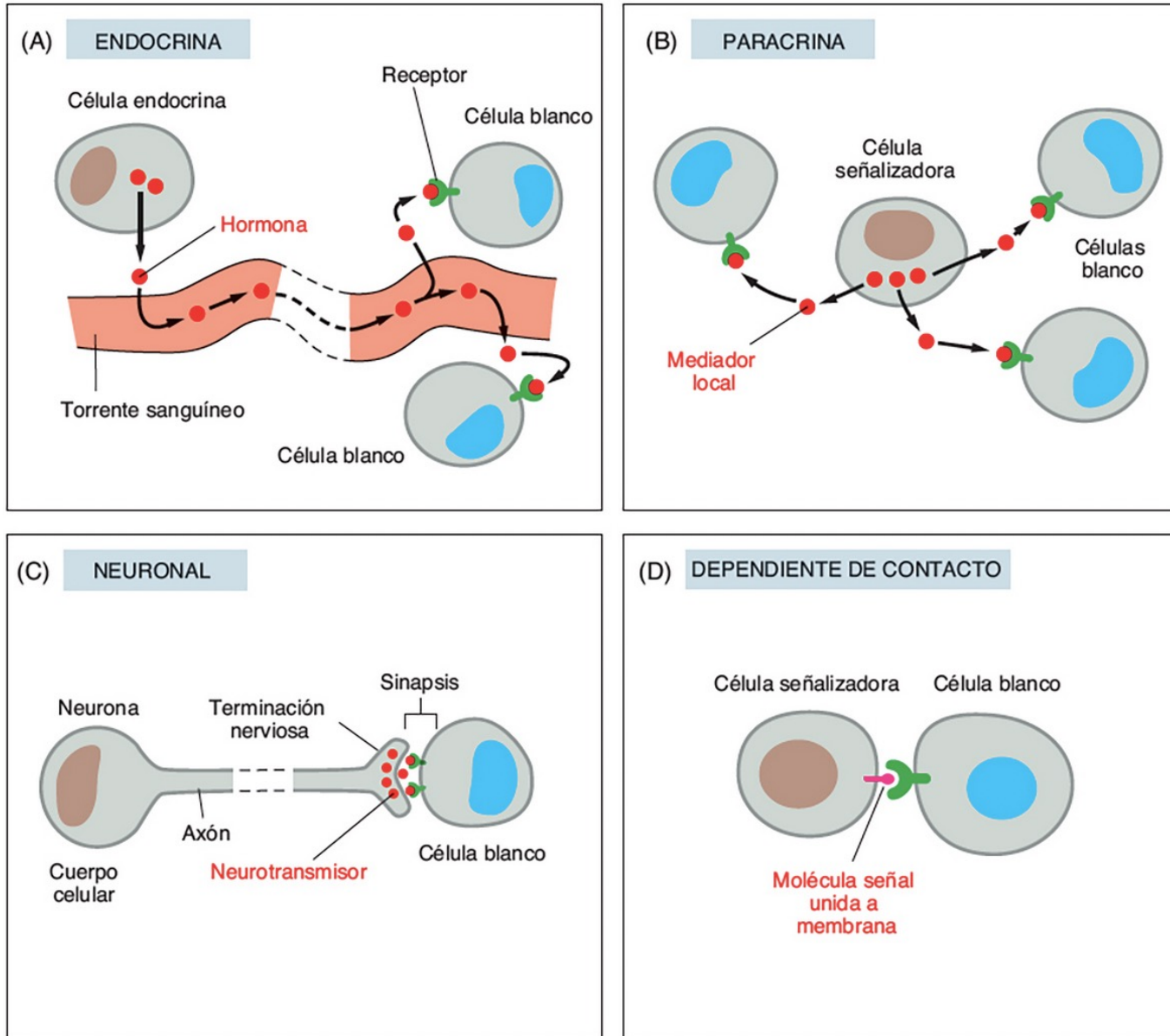
Mecanismos de señalización celular

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

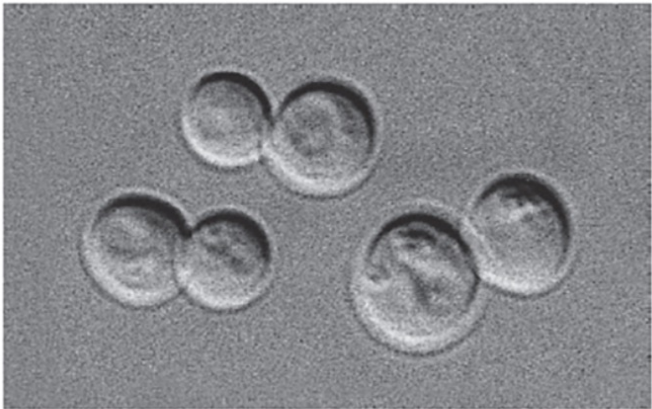
ricardo.usategui@uva.es

La comunicación celular se basa en moléculas extracelulares



Señalización celular

Molécula señal	Sitio de origen	Carácter químico	Algunas acciones
Hormonas			
Adrenalina (epinefrina)	Glándula suprarrenal	Derivado del aminoácido tirosina	Aumenta la presión arterial, la frecuencia cardíaca y el metabolismo
Cortisol	Glándula suprarrenal	Esteroides (derivado del colesterol)	Afecta al metabolismo de las proteínas, los hidratos de carbono y los lípidos en la mayoría de los tejidos
Estradiol	Ovario	Esteroides (derivado del colesterol)	Induce y mantiene las características sexuales secundarias femeninas
Insulina	Células β del páncreas	Proteína	Estimula la captación de glucosa, la síntesis proteica y la síntesis de lípidos en diversos tipos celulares
Testosterona	Testículo	Esteroides (derivado del colesterol)	Induce y mantiene las características sexuales secundarias masculinas
Hormona tiroidea (tiroxina)	Glándula tiroides	Derivado del aminoácido tirosina	Estimula el metabolismo en muchos tipos celulares
Mediadores locales			
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	Diversas células	Proteína	Estimula la proliferación de células epidérmicas y muchos otros tipos celulares
Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)	Diversas células, incluidas las plaquetas sanguíneas	Proteína	Estimula la proliferación de muchos tipos celulares
Factor de crecimiento nervioso (NGF)	Diversos tejidos innervados	Proteína	Promueve la supervivencia de ciertas clases de neuronas y el crecimiento de sus axones
Histamina	Mastocitos	Derivado del aminoácido histidina	Dilata y permeabiliza los vasos sanguíneos, lo que contribuye a la inflamación
Óxido nítrico (NO)	Células nerviosas; células endoteliales que revisten los vasos sanguíneos	Gas disuelto	Causa relajación del músculo liso; regula la actividad de células nerviosas
Neurotransmisores			
Acetilcolina	Terminaciones nerviosas	Derivado de la colina	Neurotransmisor excitador en numerosas sinapsis nervio-músculo y en el sistema nervioso central
Ácido γ -aminobutírico (GABA)	Terminaciones nerviosas	Derivado del aminoácido ácido glutámico	Neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central
Moléculas señal dependientes de contacto			
Delta	Futuras neuronas; otros tipos celulares en desarrollo	Proteína transmembrana	Inhibe la especialización de células vecinas del mismo modo que la célula señalizadora



(A)



(B)

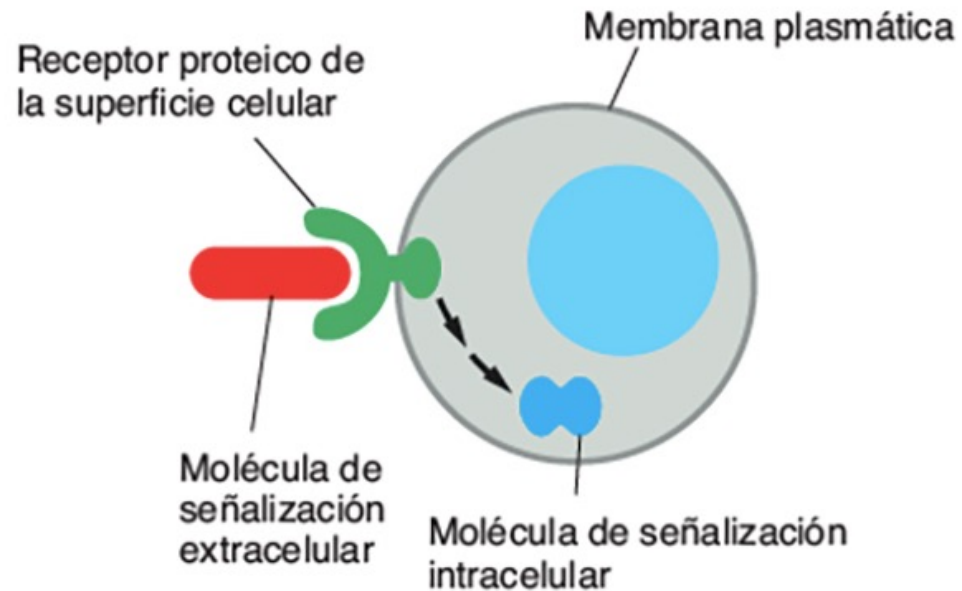
10 μ m

Las moléculas se unen a receptores

La respuesta de una célula a una molécula señal depende, en primer lugar, **de que posea un receptor**

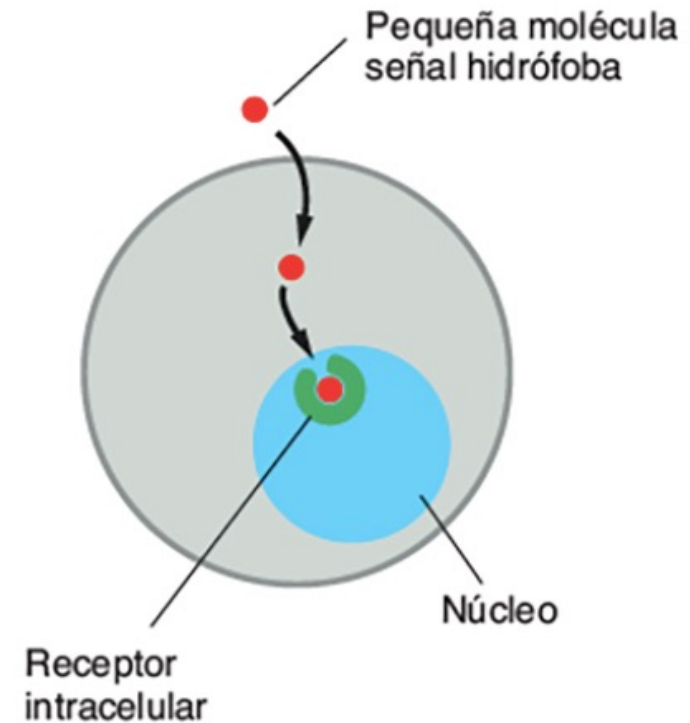
(A)

RECEPTORES DE LA SUPERFICIE CELULAR



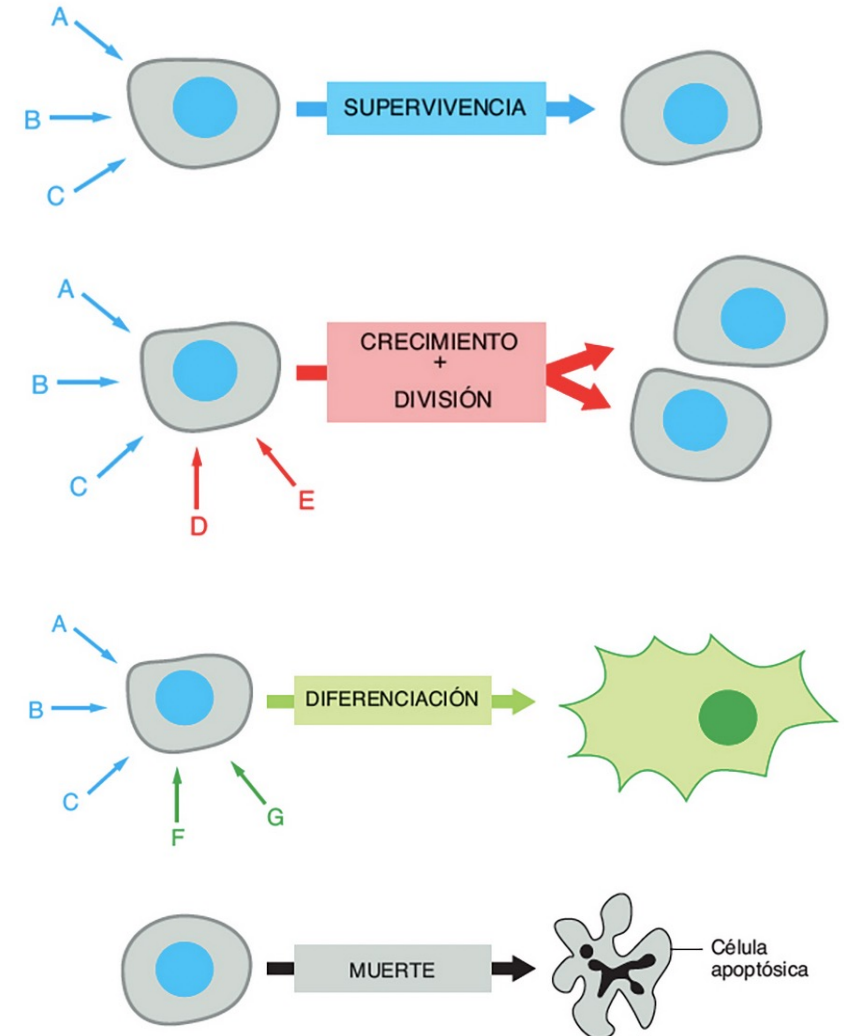
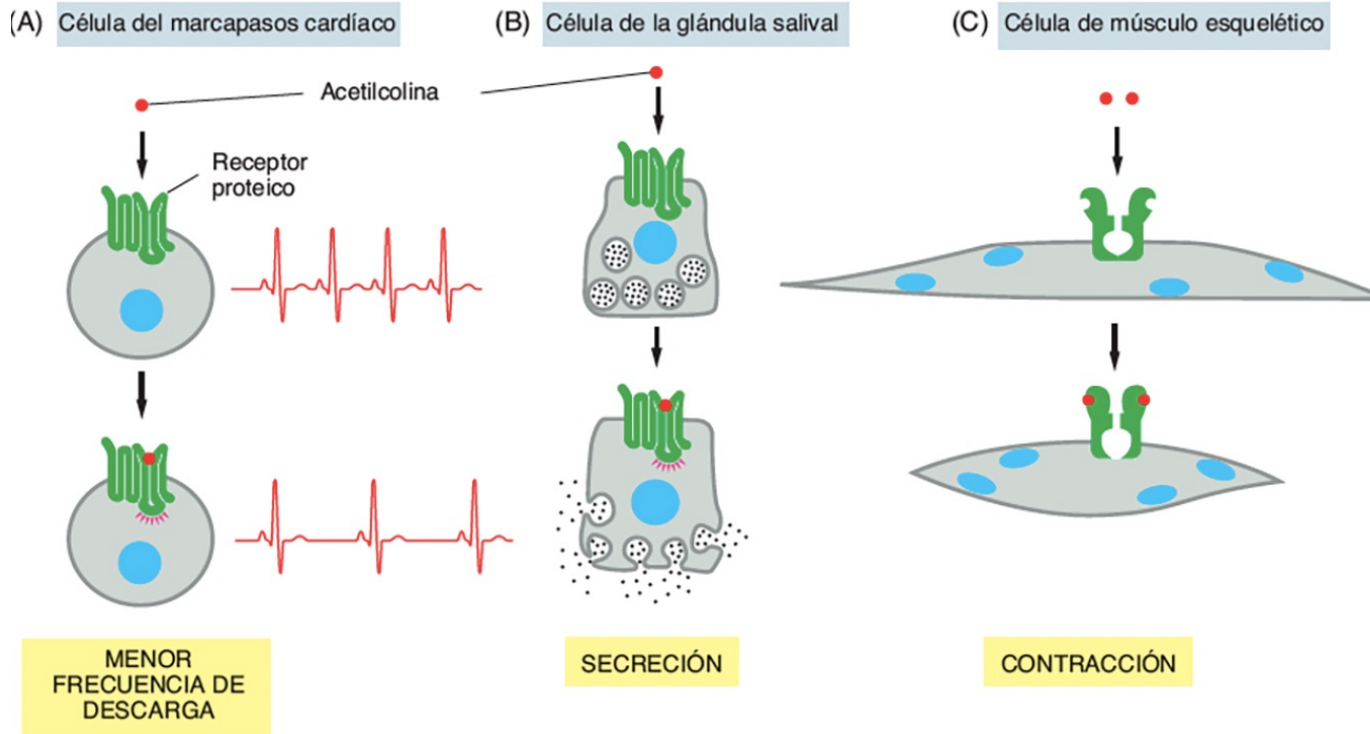
(B)

RECEPTORES INTRACELULARES



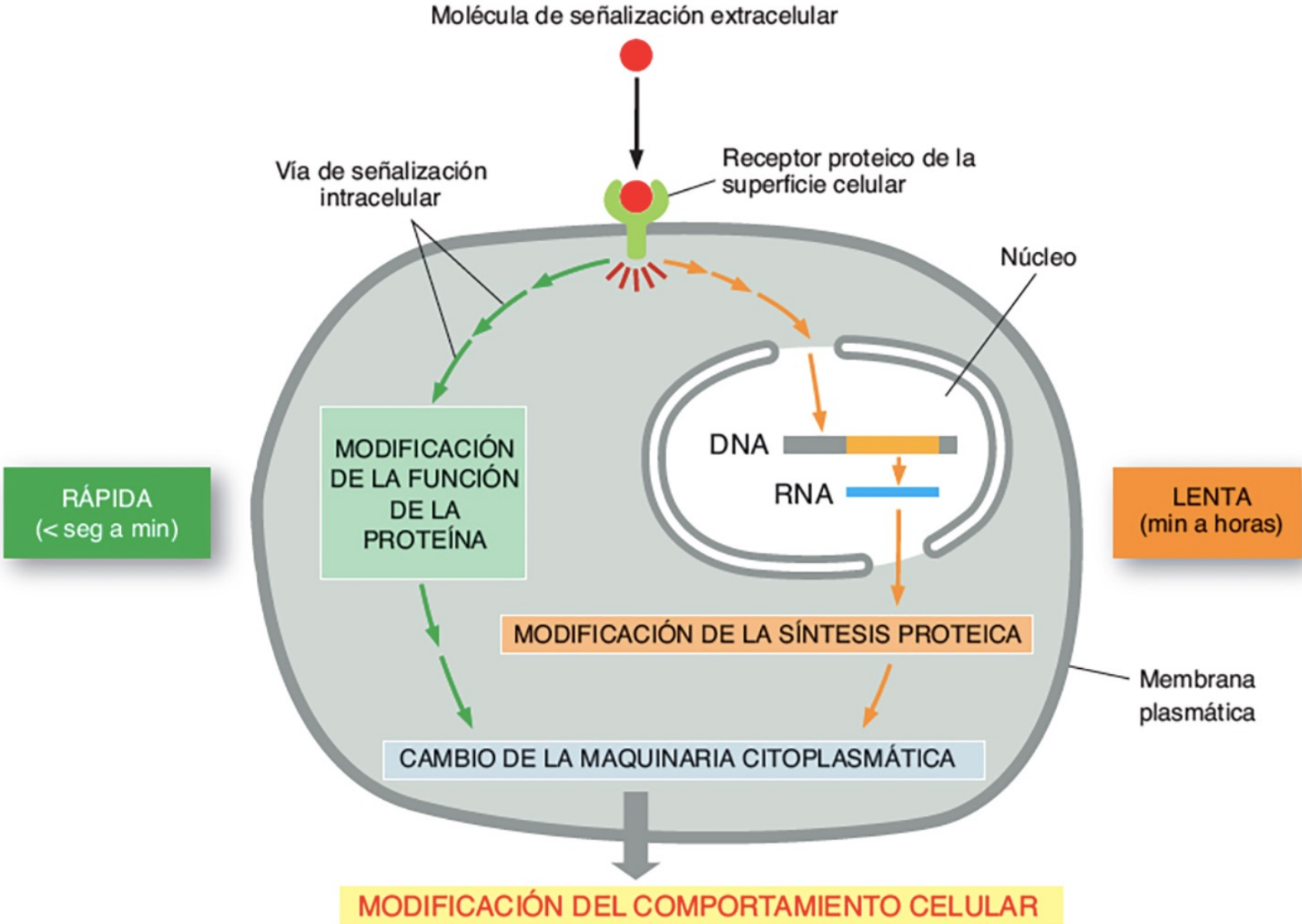
Una molécula, diferentes respuestas

La misma molécula señal puede inducir respuestas en diferentes células blanco

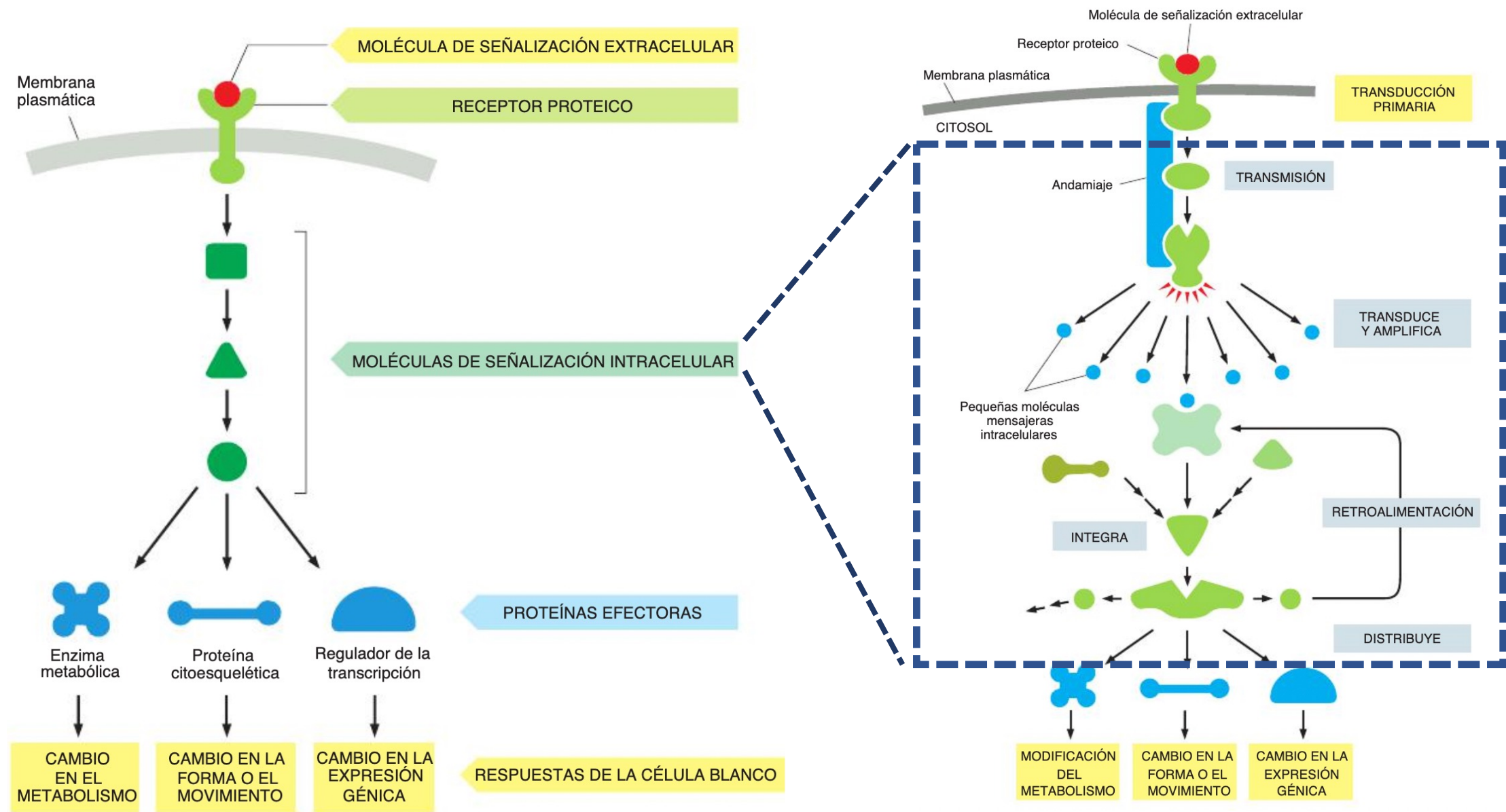


Las moléculas señal actúan en combinación para regular el comportamiento de la célula

Respuesta rápida vs. respuesta lenta

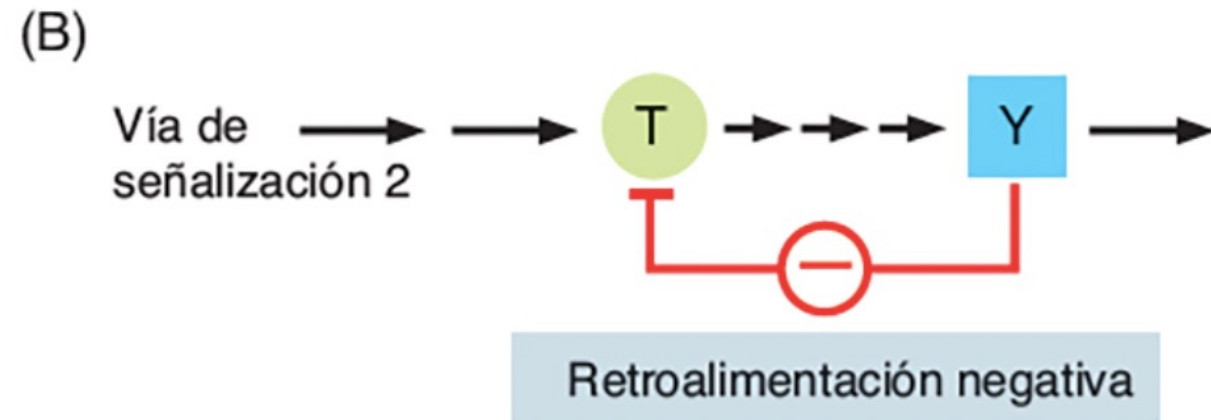
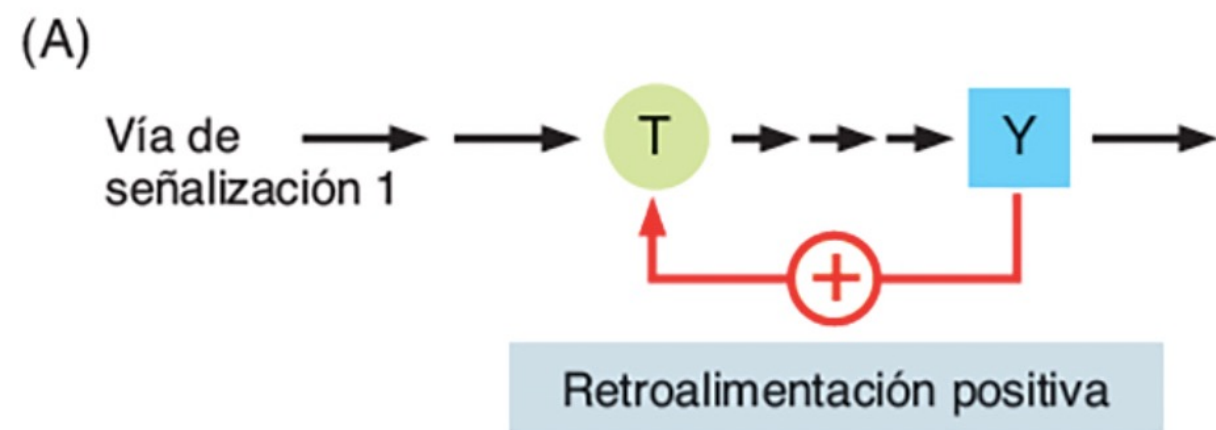


Los receptores de superficie y vías intracelulares



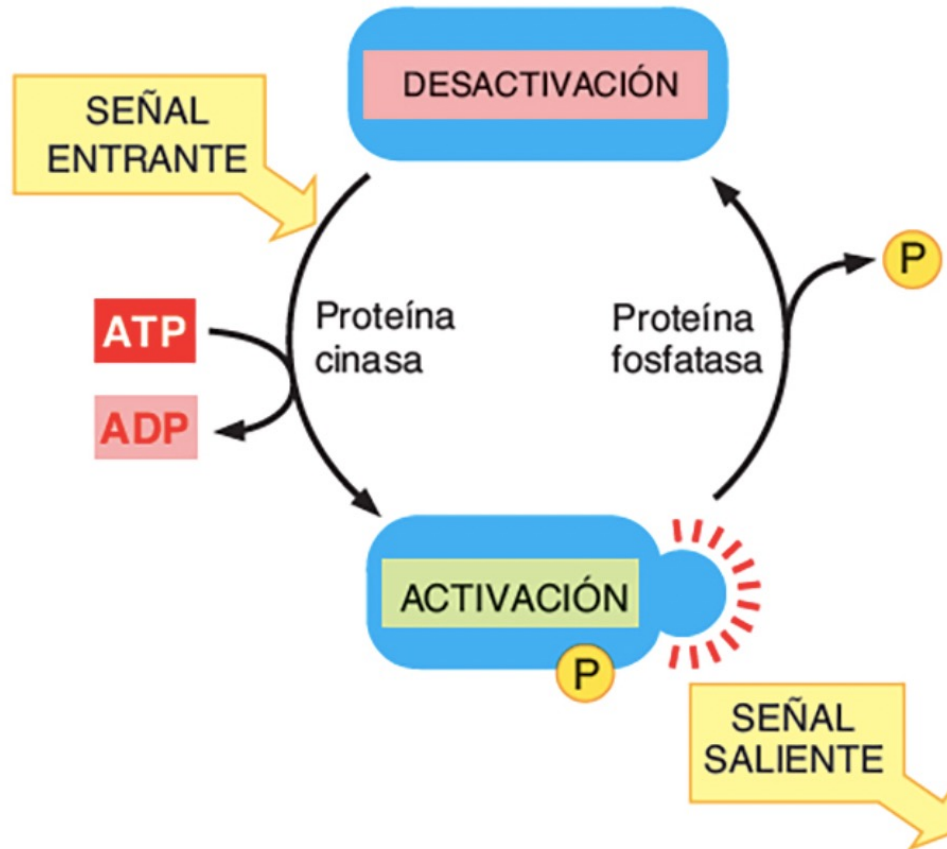
Los receptores de superficie y vías intracelulares

La regulación por retroalimentación dentro de una vía de señalización intracelular **puede adaptar la respuesta a una señal extracelular.**

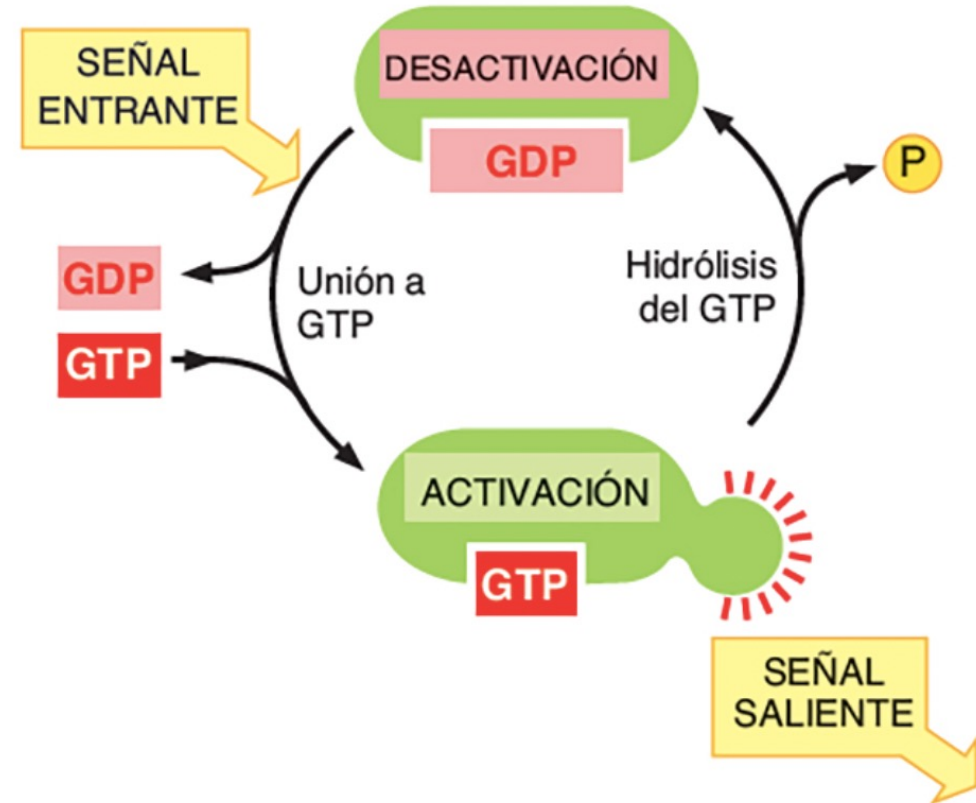


Proteínas como interruptores moleculares

La recepción de una señal las hace pasar de un estado inactivo a un estado activo



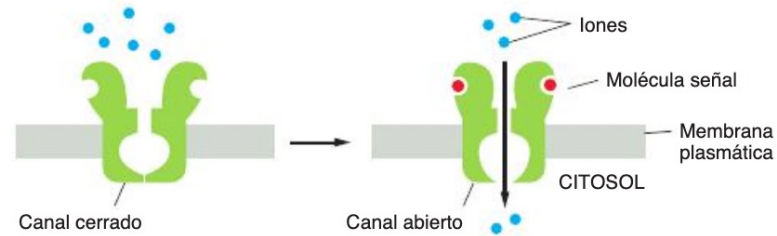
(A) SEÑALIZACIÓN POR FOSFORILACIÓN DE PROTEÍNAS



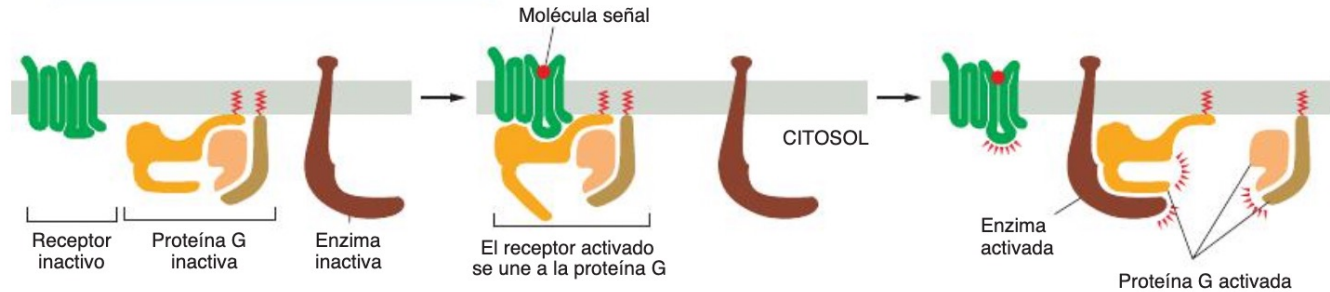
(B) SEÑALIZACIÓN POR PROTEÍNAS DE UNIÓN A GTP

Existen tres clases principales de receptores de la superficie celular

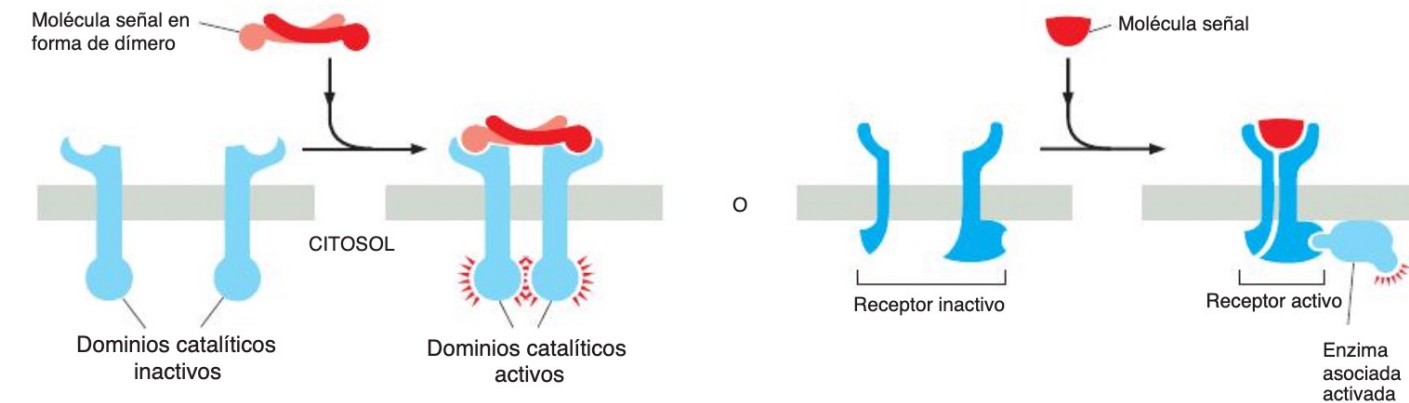
(A) RECEPTORES ACOPLADOS A CANALES IÓNICOS



(B) RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNAS G

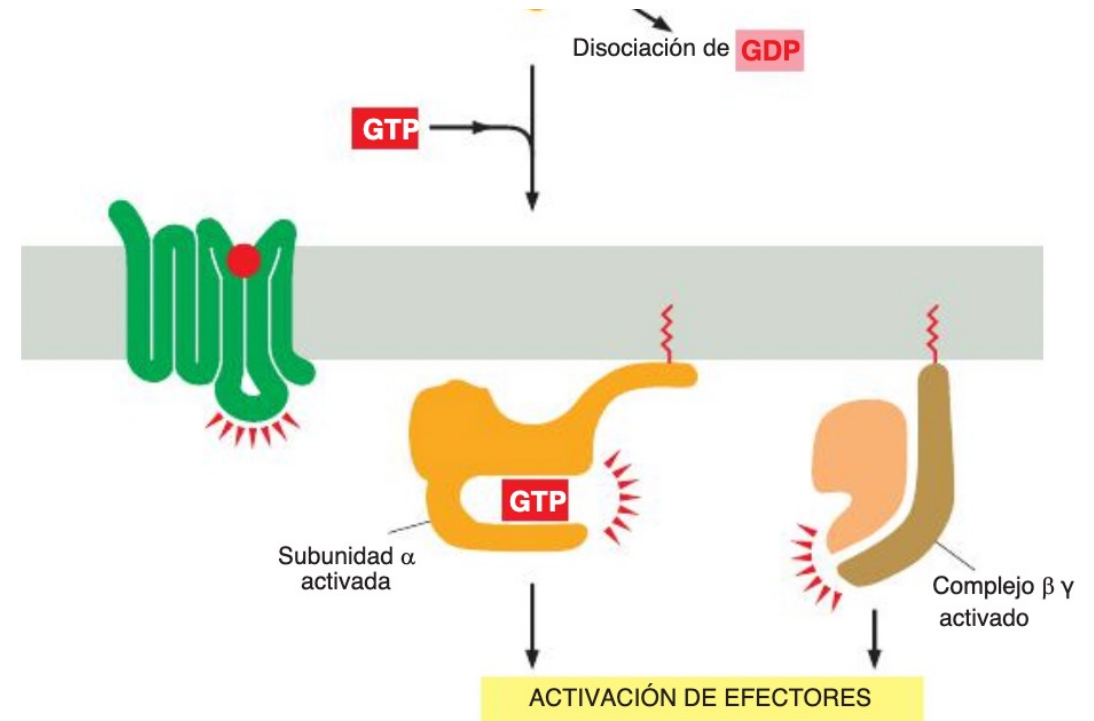
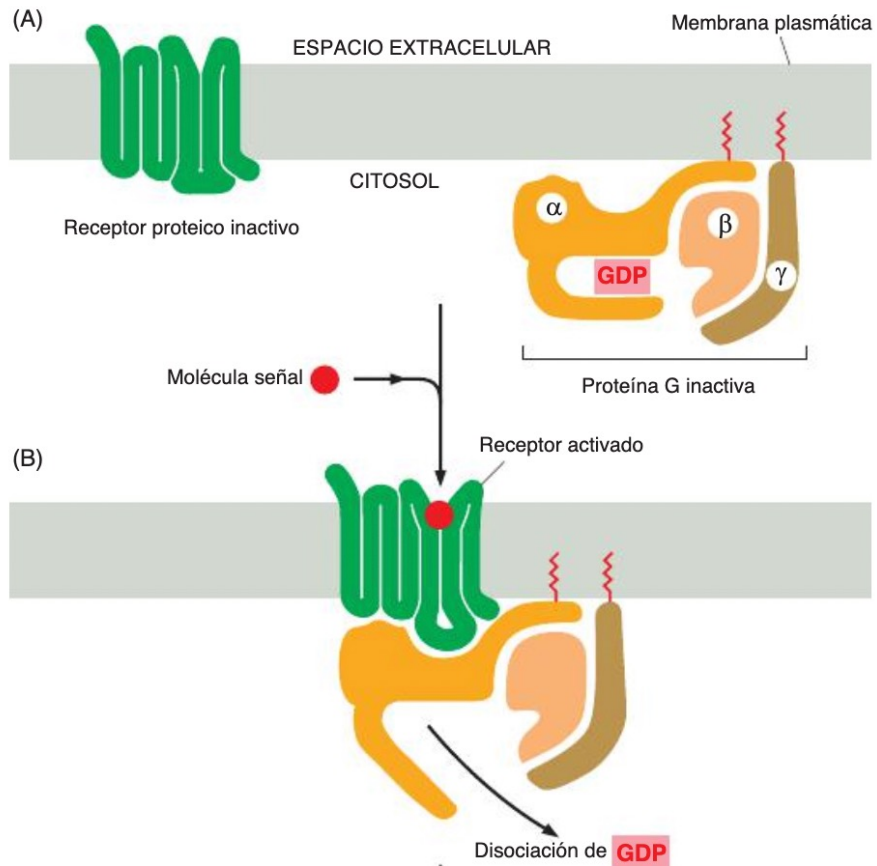


(C) RECEPTORES ACOPLADOS A ENZIMAS



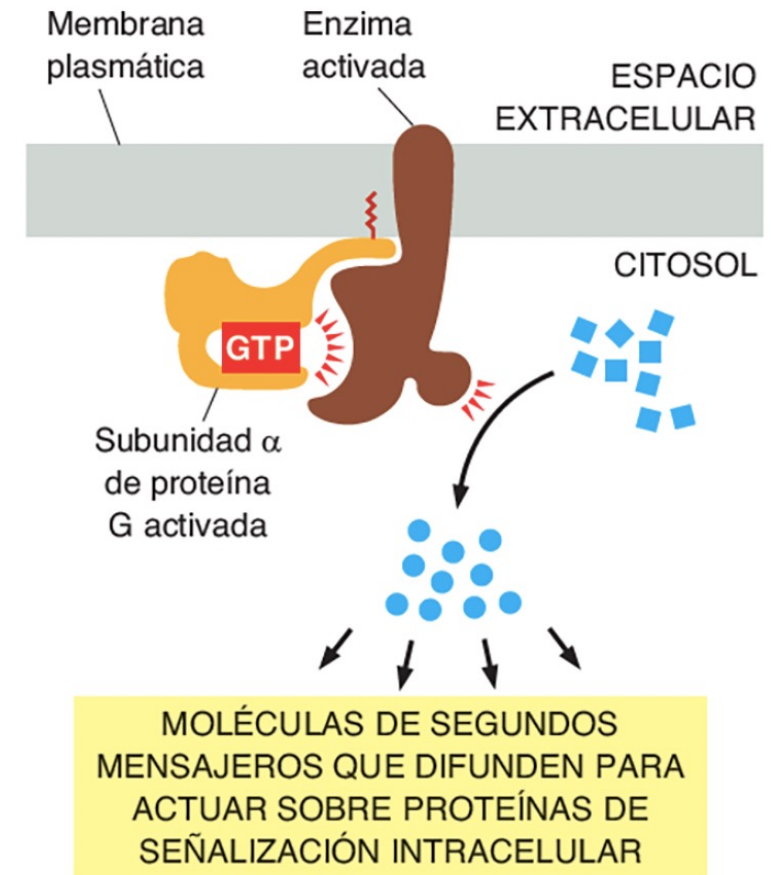
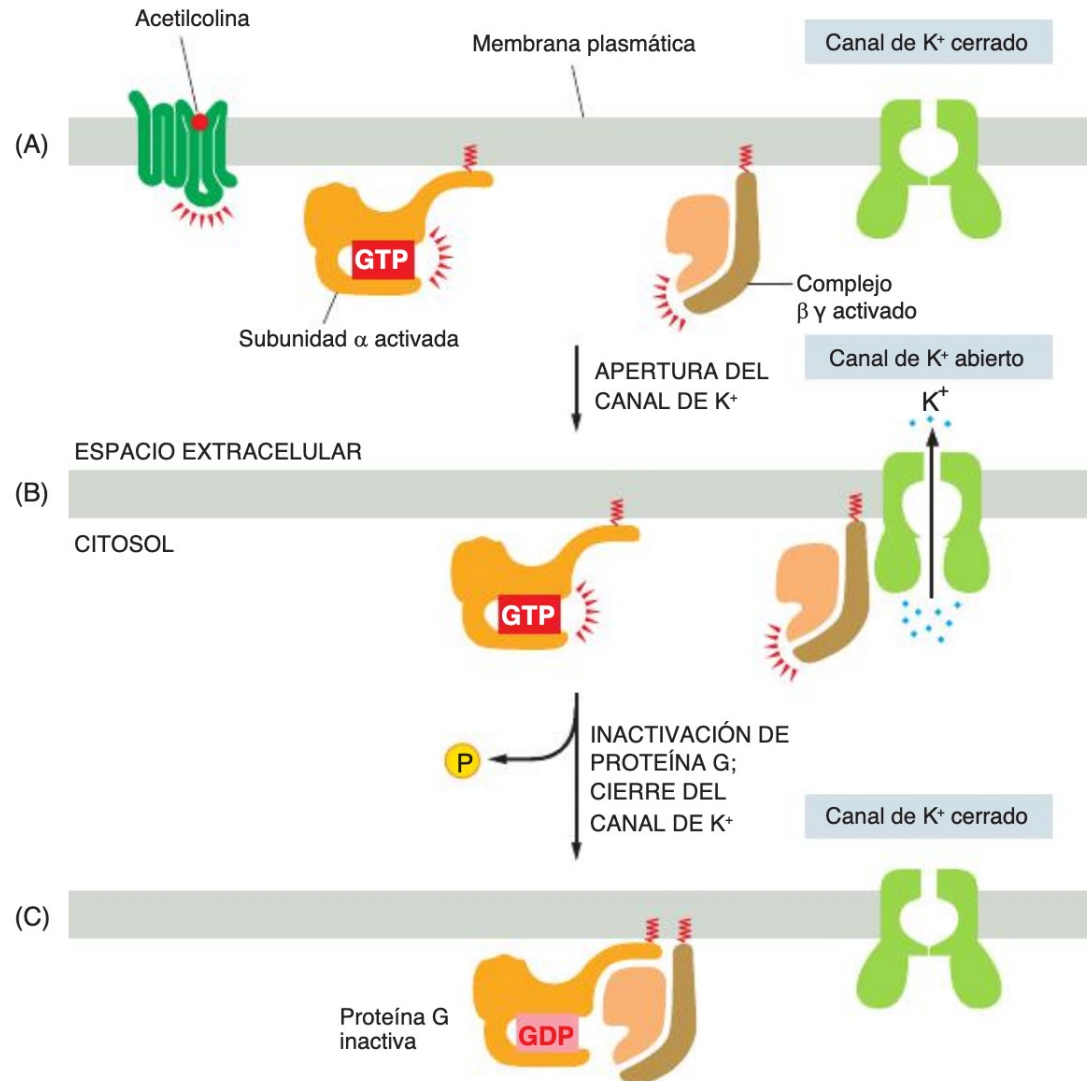
Receptores acoplados a proteínas G

Un GPCR activado activa las proteínas G, estimulando la expulsión de su GDP y la captación de GTP por la subunidad alfa

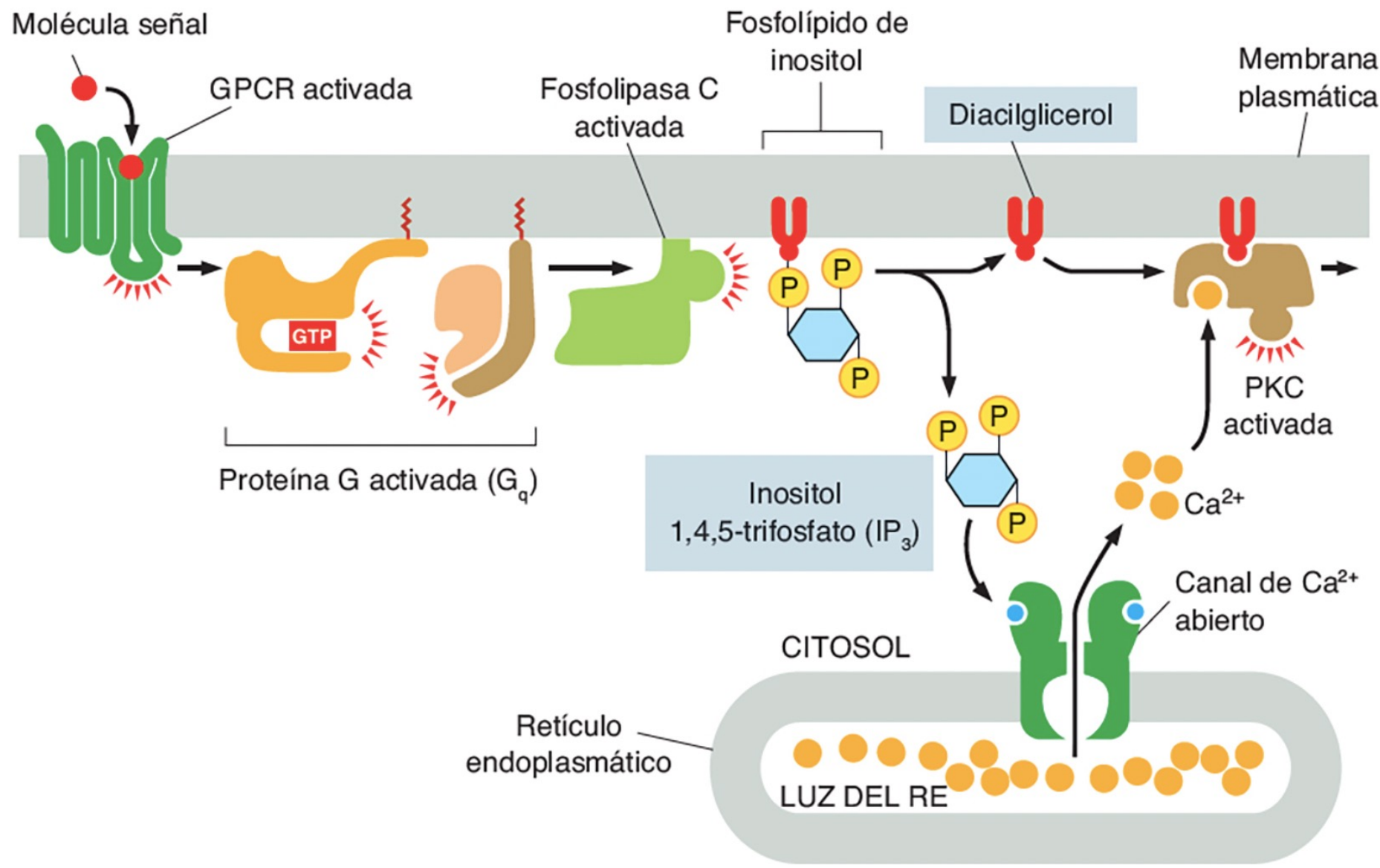


Receptores acoplados a proteínas G

Algunas proteínas G regulan **canales iónicos de manera directa o activan enzimas**

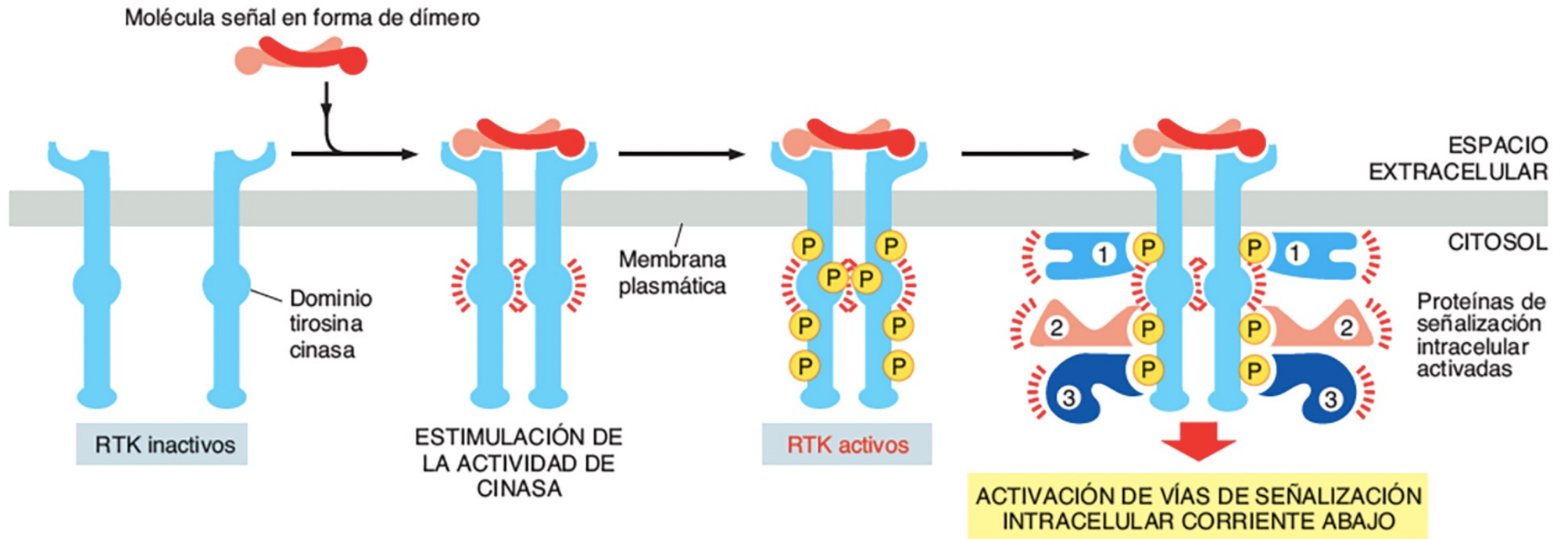


Receptores acoplados a proteínas G



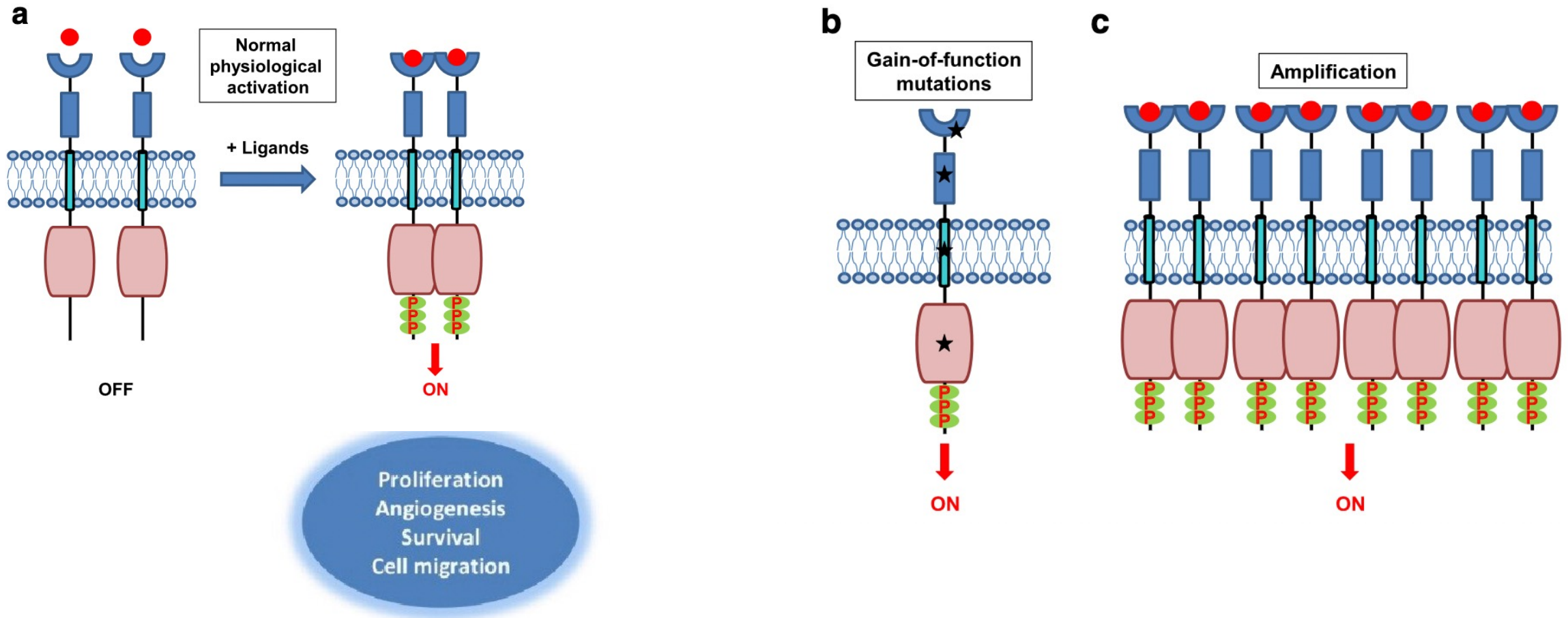
Receptores acoplados a enzimas

1. Receptores de tirosín kinasa
2. Receptores asociados a tirosín kinasa
3. Receptores de serin/treonin kinasa
4. Receptores asociados a histidina kinasa
5. Receptores de guanilato kinasa
6. Receptores de tirosín fosfatasa



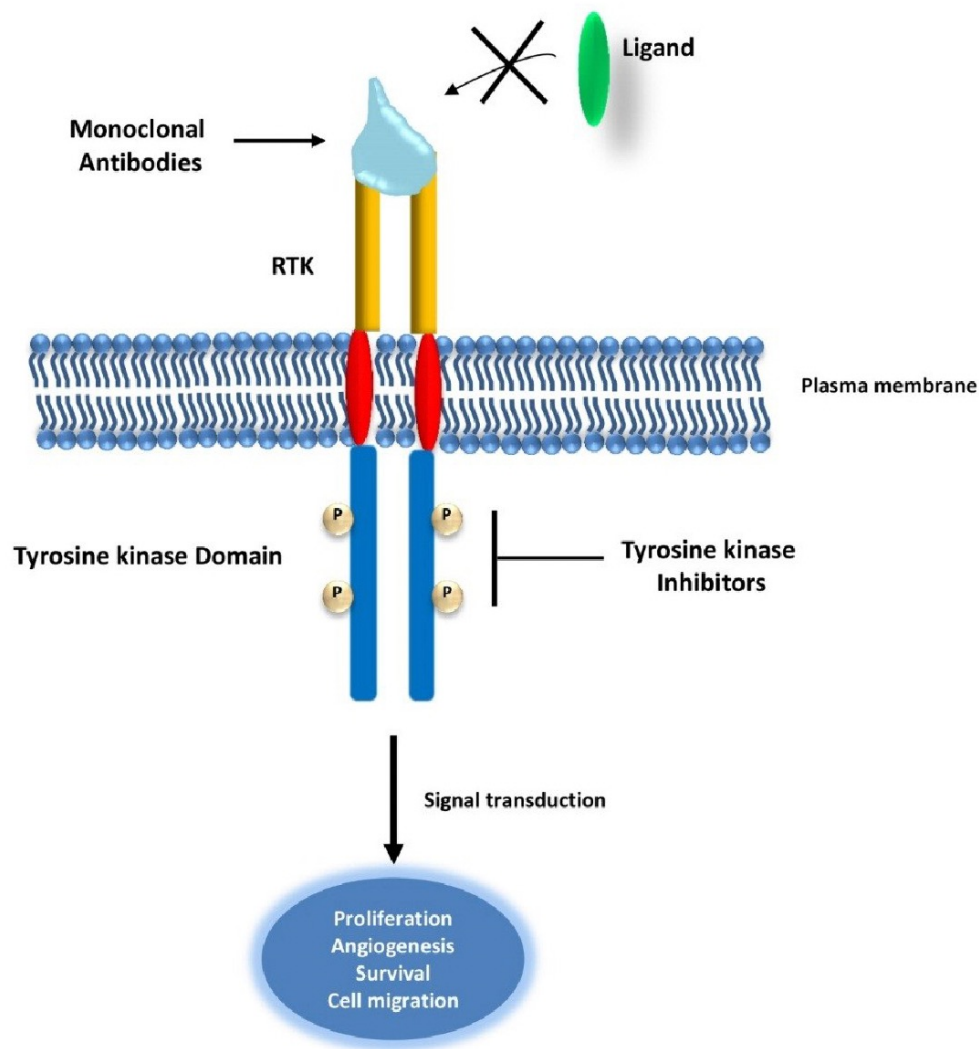
Receptores acoplados a enzimas

Alteraciones en los receptores RTK se asocian con la fisiopatología de ciertos tipos de cáncer



Receptores acoplados a enzimas

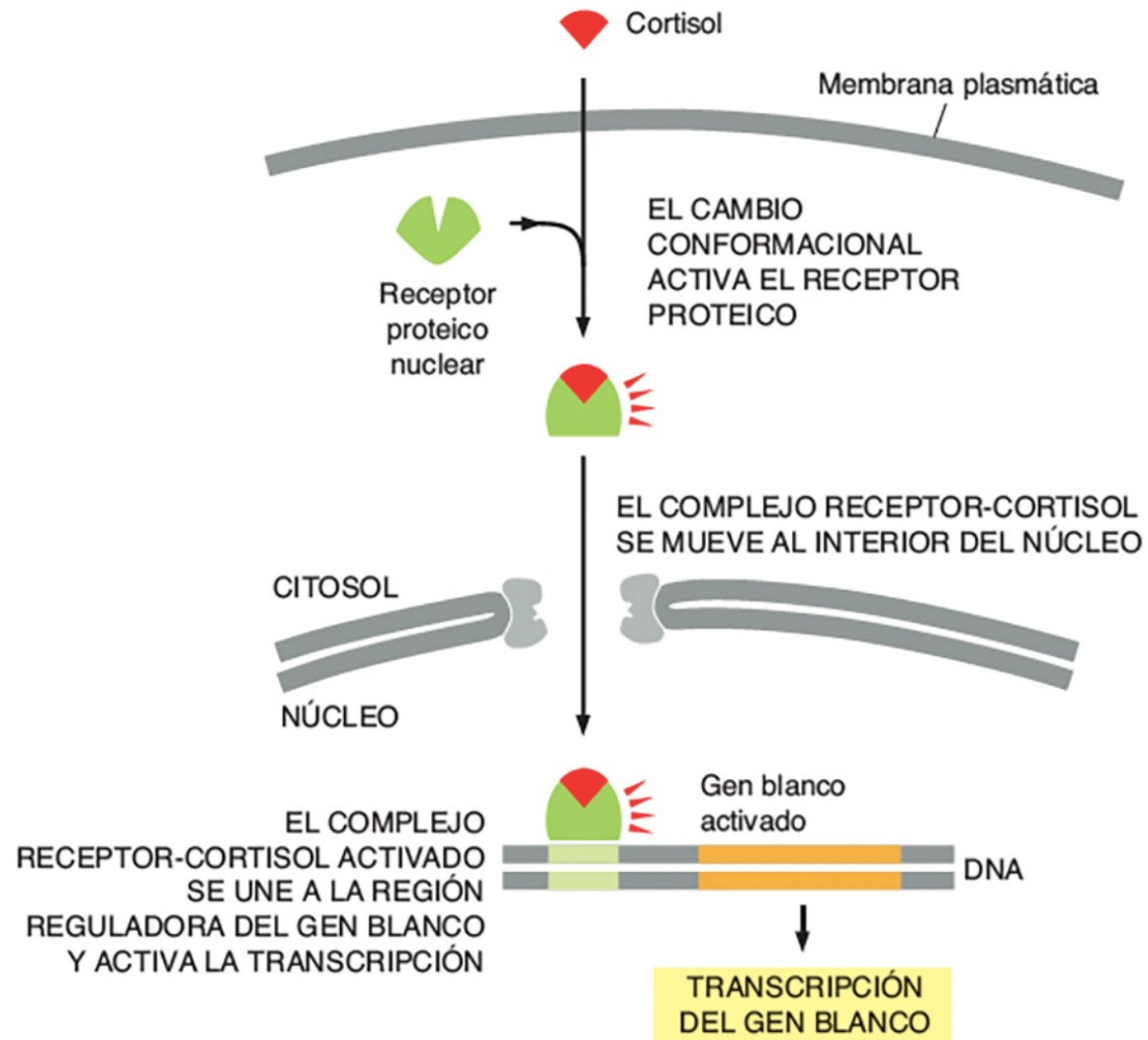
Alteraciones en los receptores RTK se asocian con la fisiopatología de ciertos tipos de cáncer



Target	Compound	Cancer
EGFR family		
HER2	Trastuzumab (Herceptin)	HER2-positive breast cancer
EGFR	Cetuximab (Erbix)	Metastatic colorectal cancer (RAS wild type) Metastatic non-small-cell lung cancer
	Panitumumab (Vectibix)	
	Gefitinib (Iressa)	
	Erlotinib (Tarceva)	
EGFR and HER2	Lapatinib (Tykerb)	HER2-positive breast cancer (Trastuzumab-resistant)
	Afatinib	NSCLC
		HER2-positive breast cancer
VEGFR	Sorafenib (Nexavar)	Renal, liver and thyroid cancer
	Sunitinib (Sutent)	Renal cell cancer
	Bevacizumab (Avastin)	Gastrointestinal stromal tumor (GIST)
		Metastatic colorectal carcinoma
PDGFR	Imatinib (Gleevec)	GIST (KIT+)
PDGFR and VEGFR	Sunitinib	Angiogenesis
	Soratinib	
	Pazopanib	
	Nilotinib	
	Brivanib (BMS-540215)	
FGFR and VEGFR		Human hepatocellular carcinoma model
VEGFR, PDGFR, FLT-3, c-KIT and FGFR	CHIR-258 (TKI-258)	Multiple myelomas
MET	SGX523	MDCK and A549 cells and GTL16 xenograft models
C-KIT	Imatinib (Gleevec)	GIST

Receptores intracelulares

Algunas moléculas de señalización extracelular cruzan la membrana plasmática y se unen a receptores intracelulares





Universidad de Valladolid

Mecanismos de señalización celular

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

El citoesqueleto

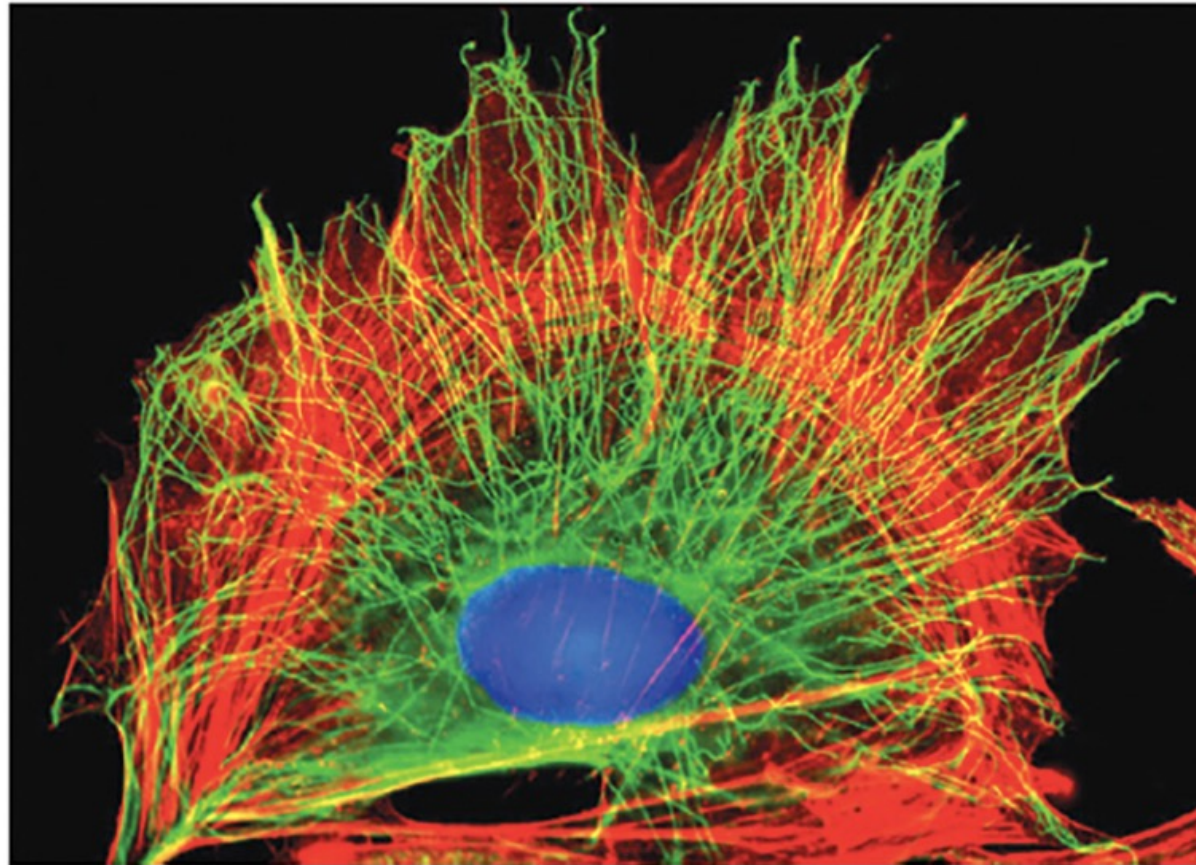
Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es

Red de filamentos proteicos que se extiende por todo el citoplasma

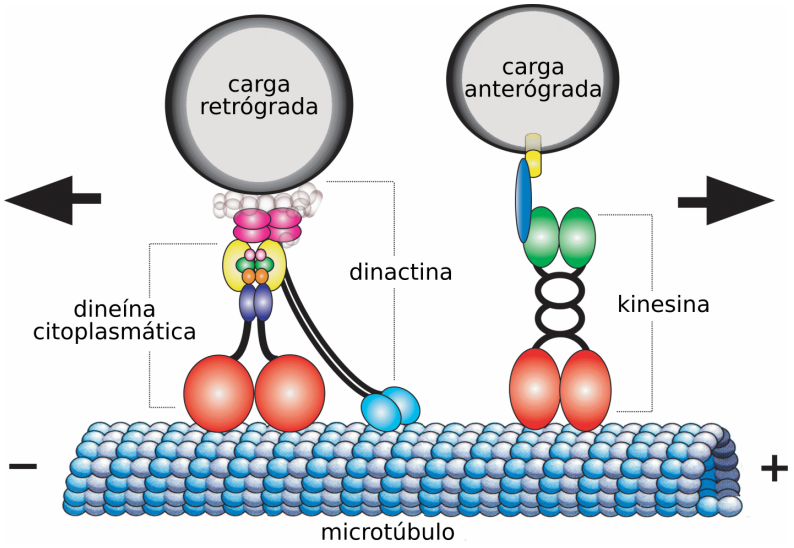
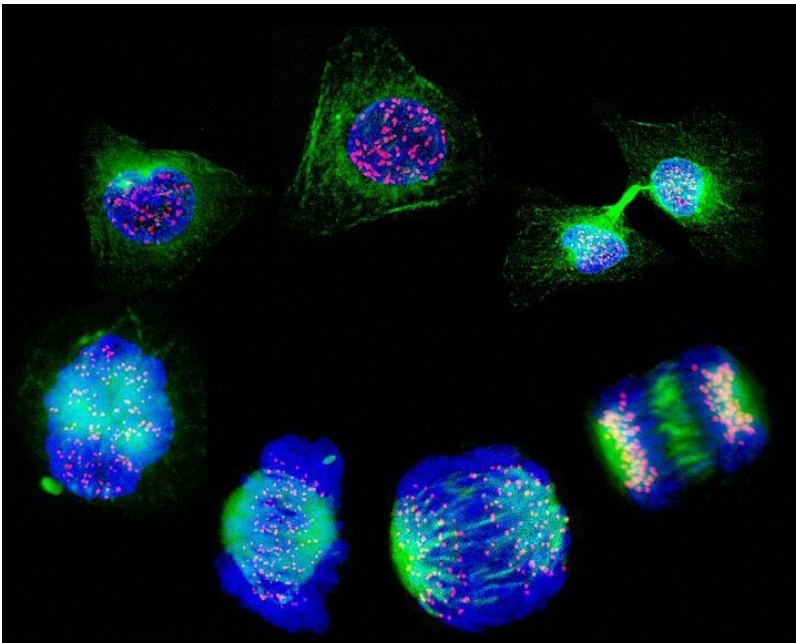
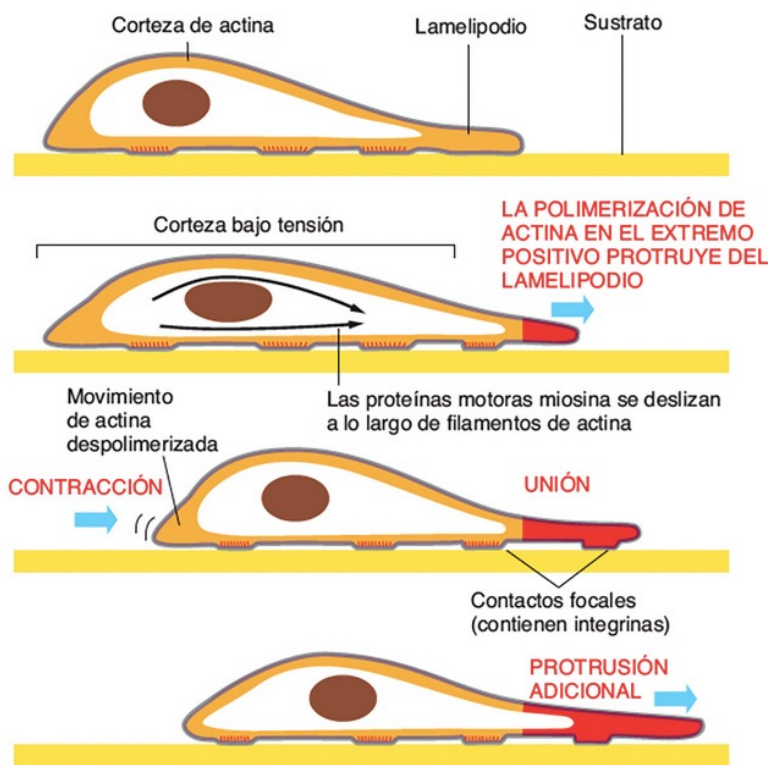
Red de polímeros proteicos



10 μm

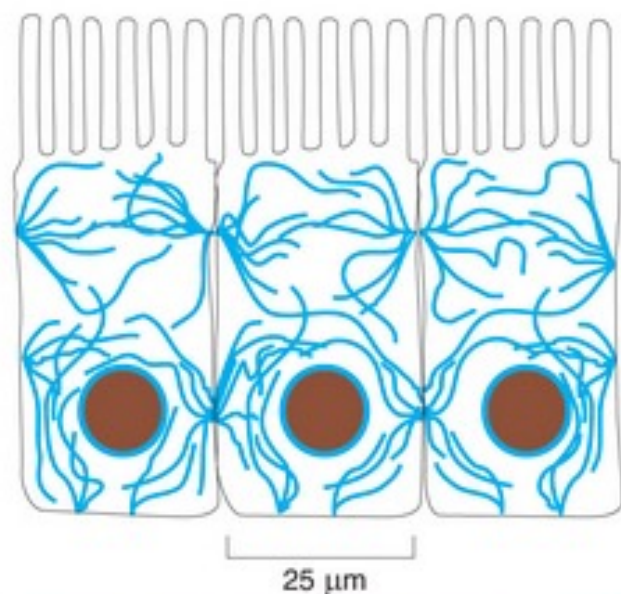
Red de filamentos proteicos que se extiende por todo el citoplasma

Red de polímeros proteicos

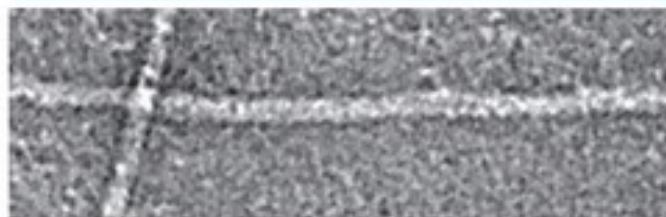


Otorga a la célula su forma, le permite organizar sus componentes internos, moverse y dividirse

Red de filamentos proteicos que se extiende por todo el citoplasma

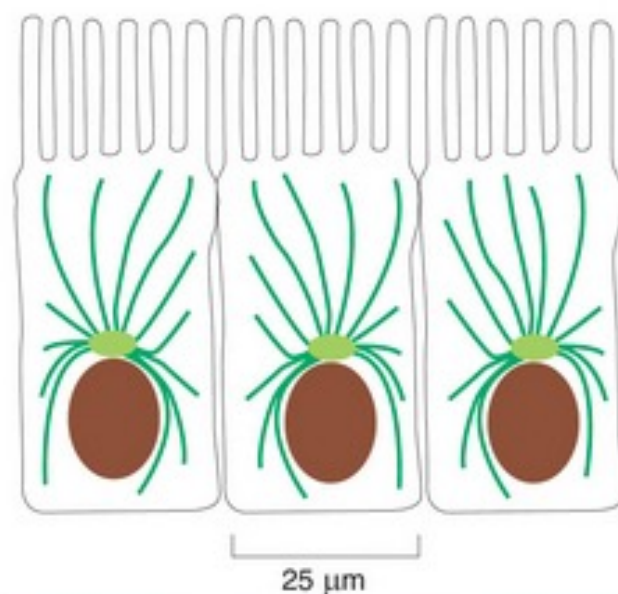


FILAMENTOS INTERMEDIOS



25 nm

10 nm de diámetro

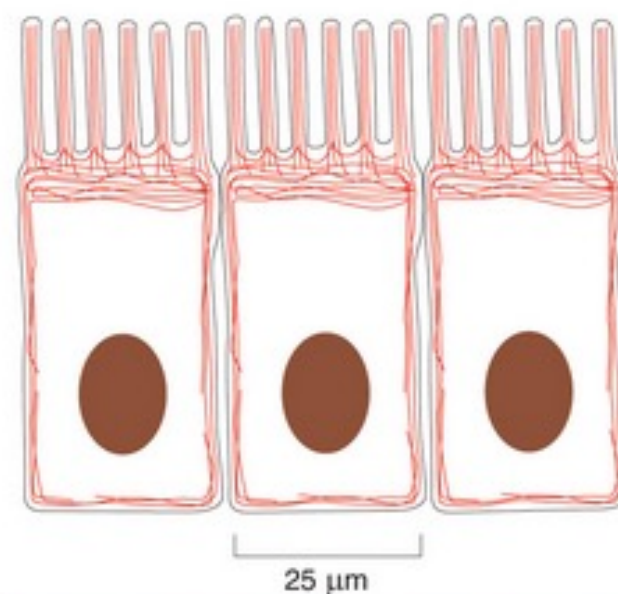


MICROTÚBULOS

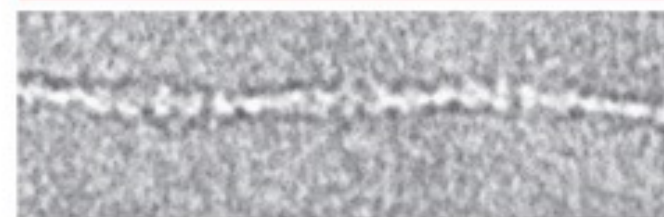


25 nm

25 nm de diámetro



FILAMENTOS DE ACTINA

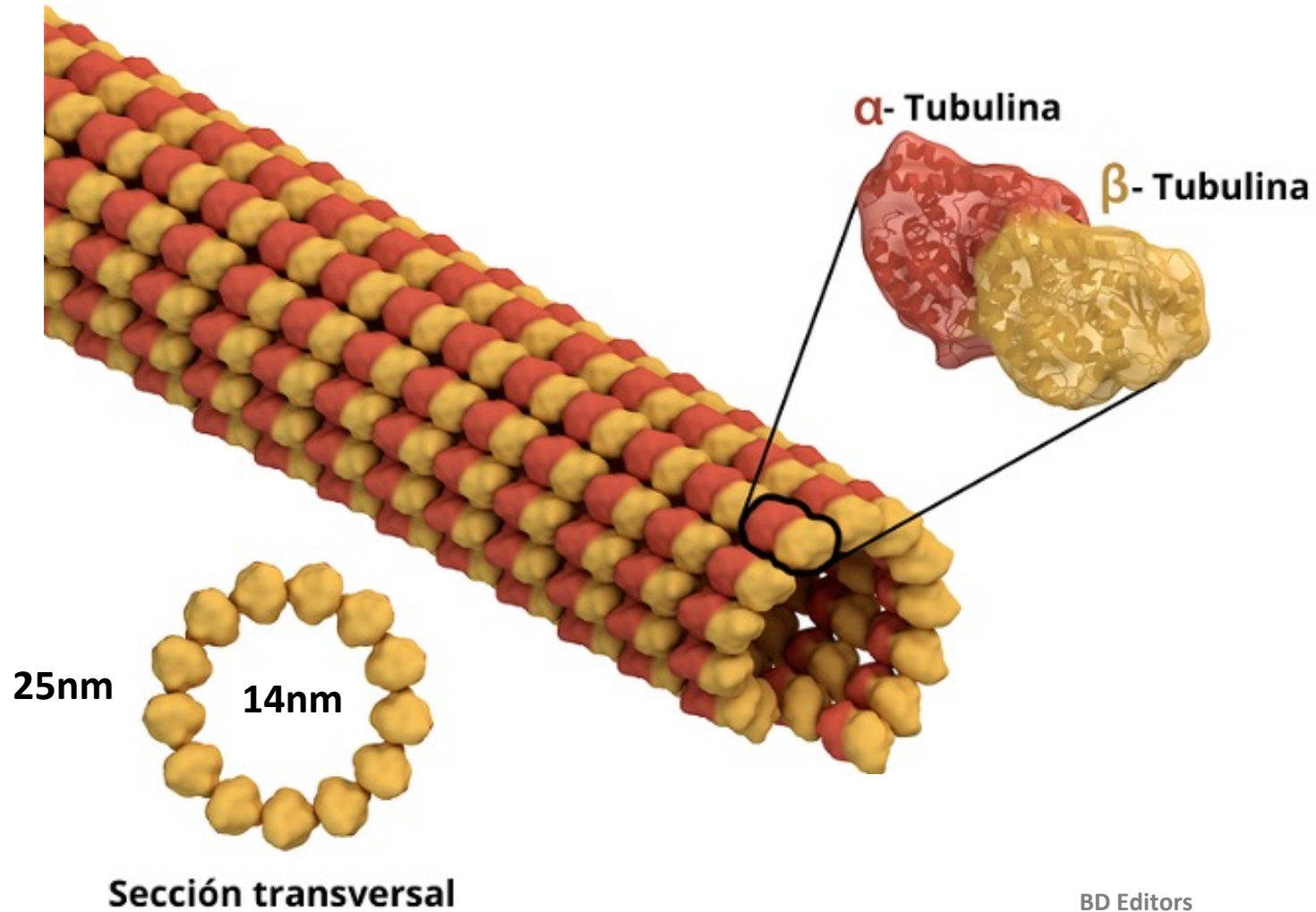


25 nm

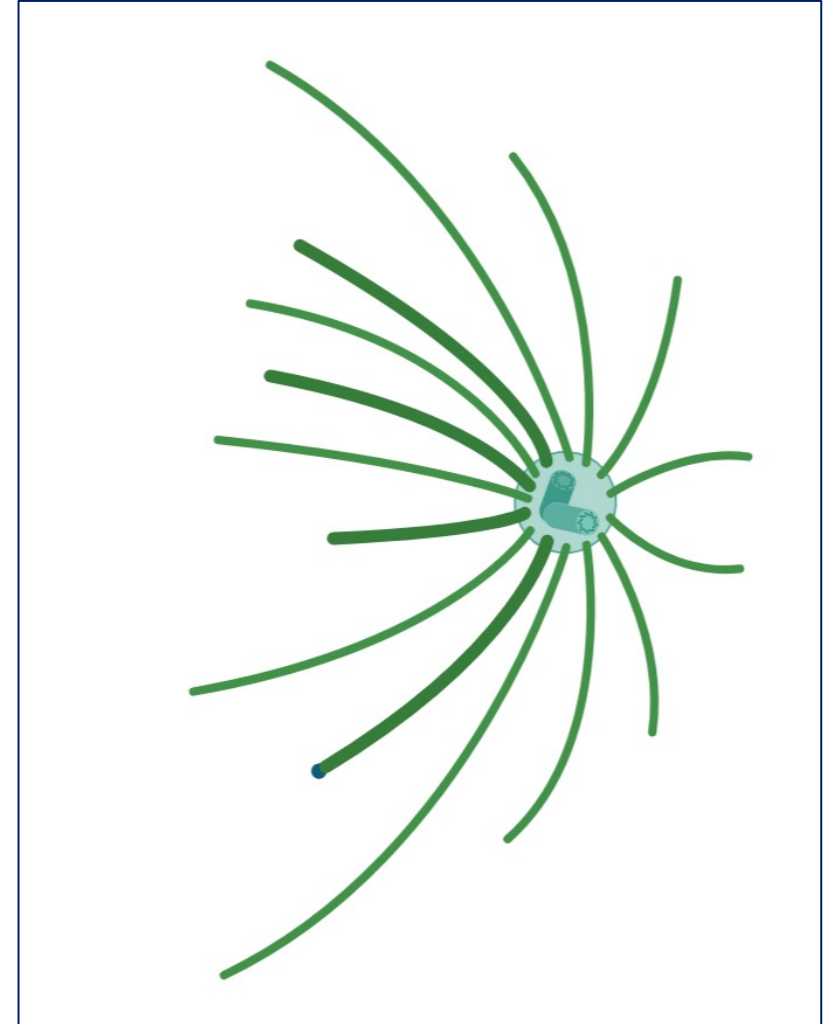
7 nm de diámetro

Microtúbulos

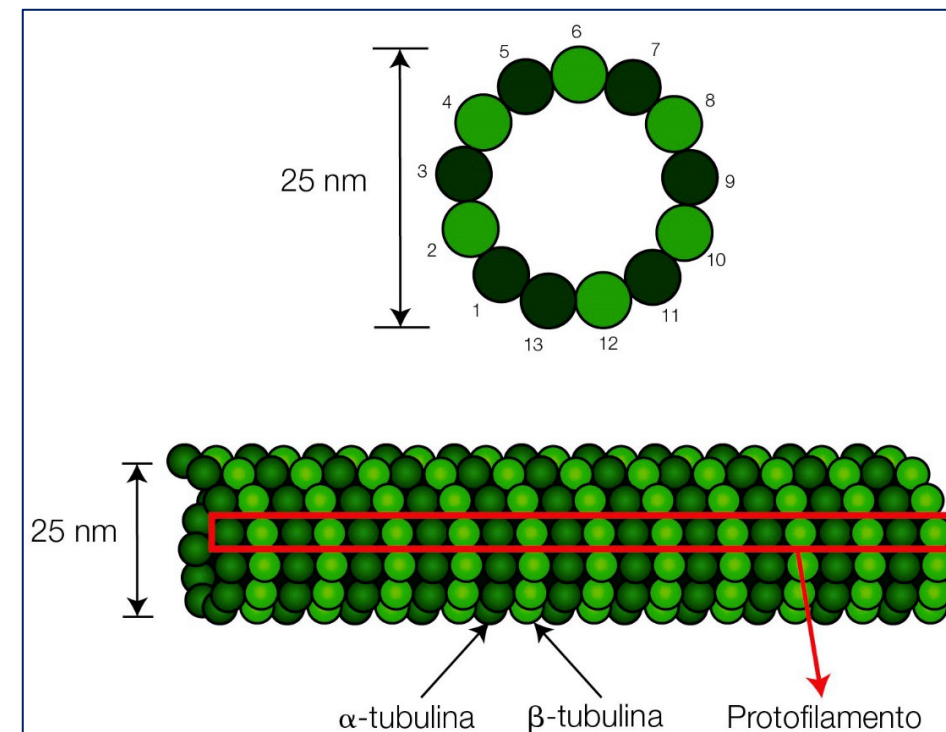
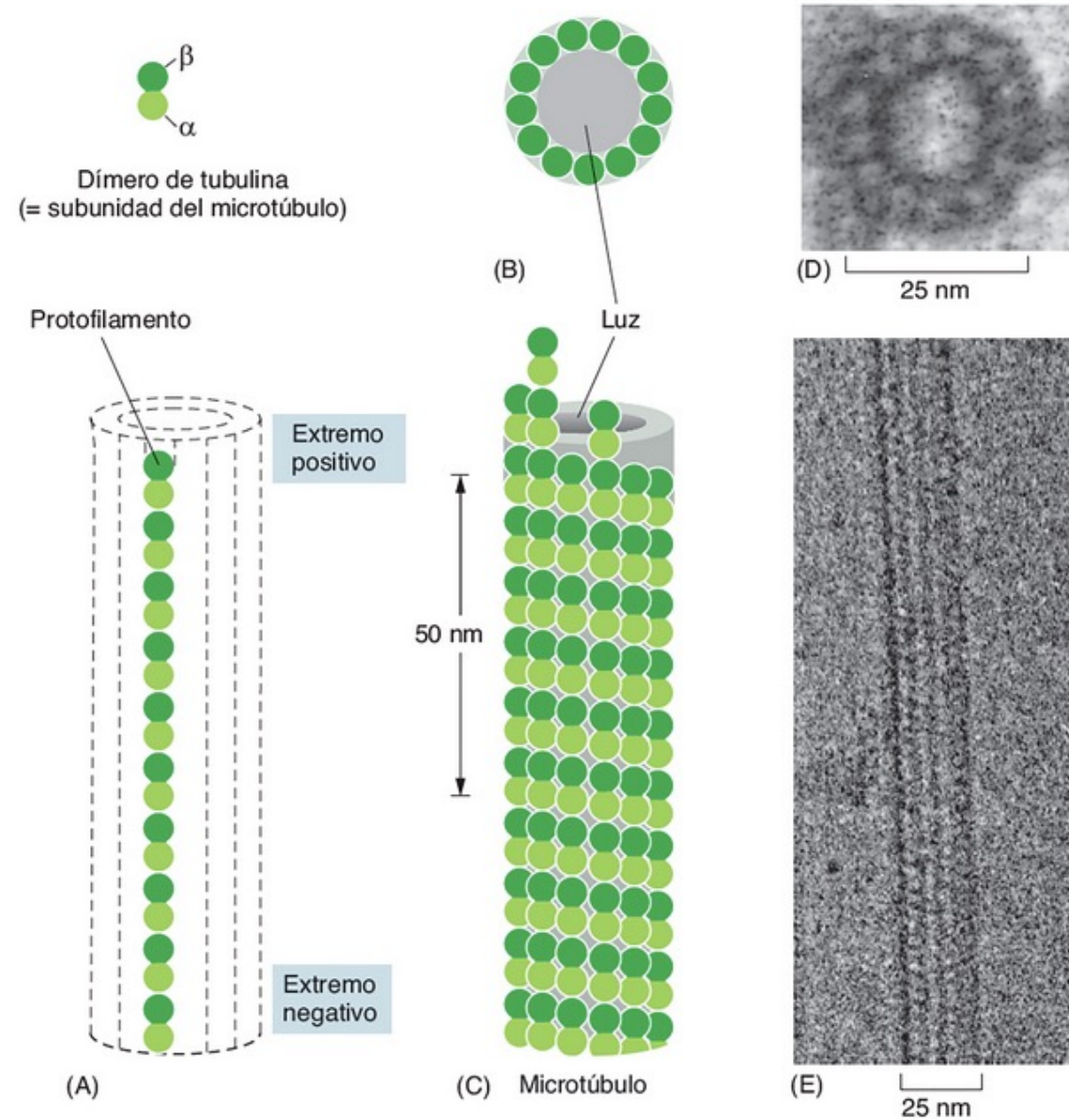
Son tubos de proteínas, largos, rígidos y lábiles



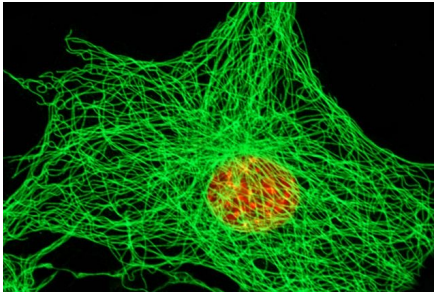
BD Editors



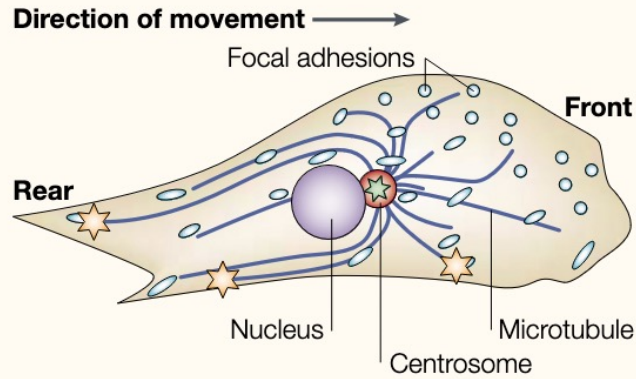
Microtúbulos



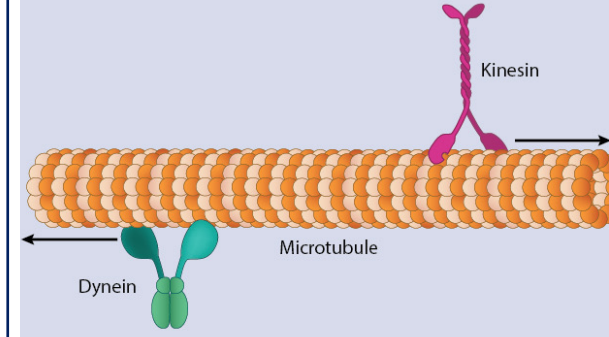
Su correcto funcionamiento es crucial



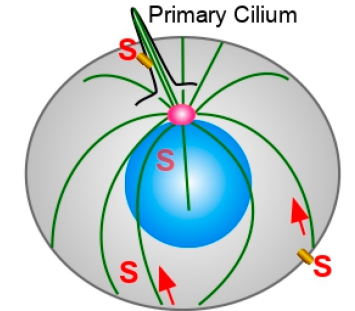
Forma celular



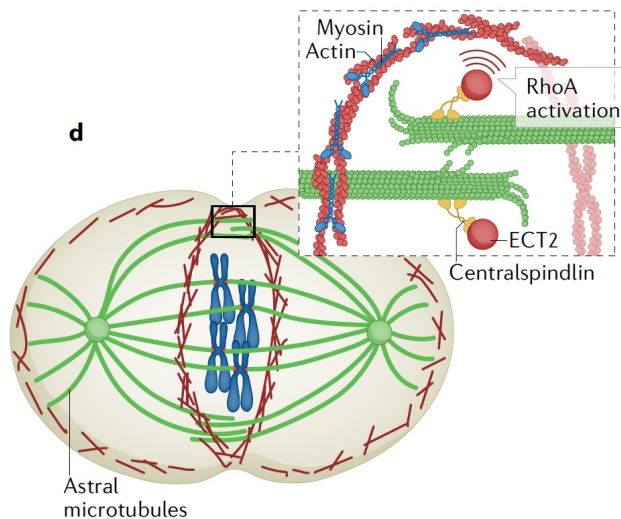
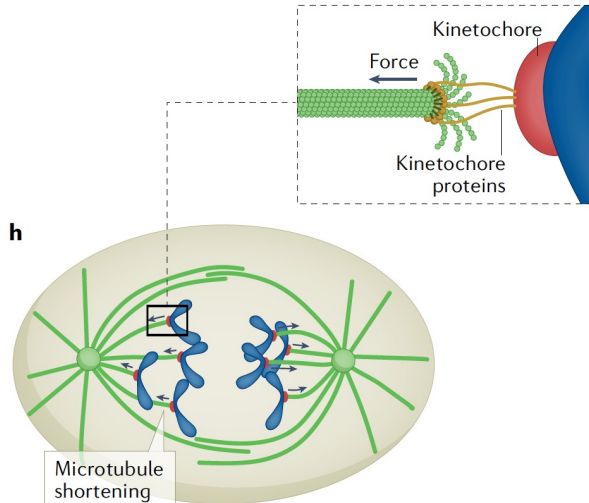
Movimiento celular



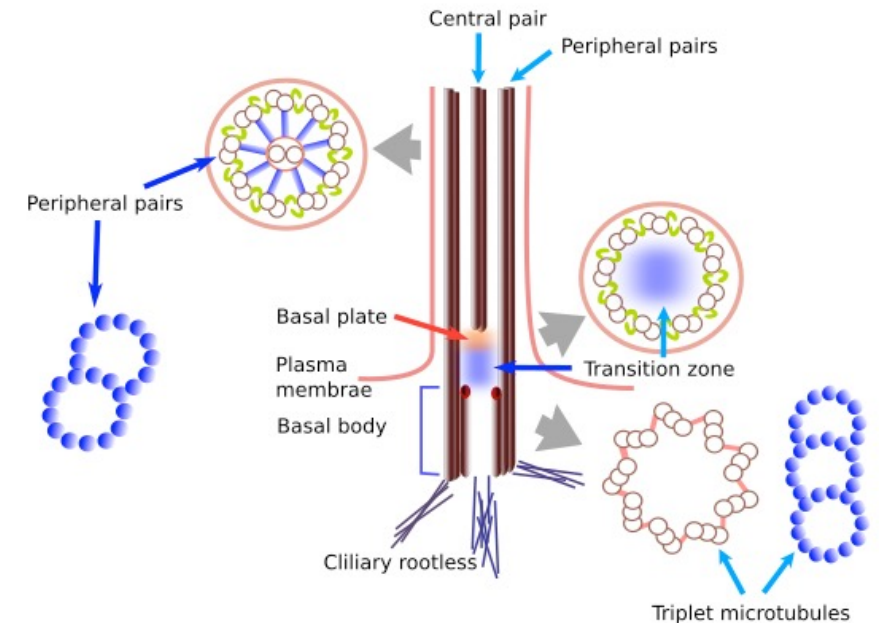
Transporte



Señalización



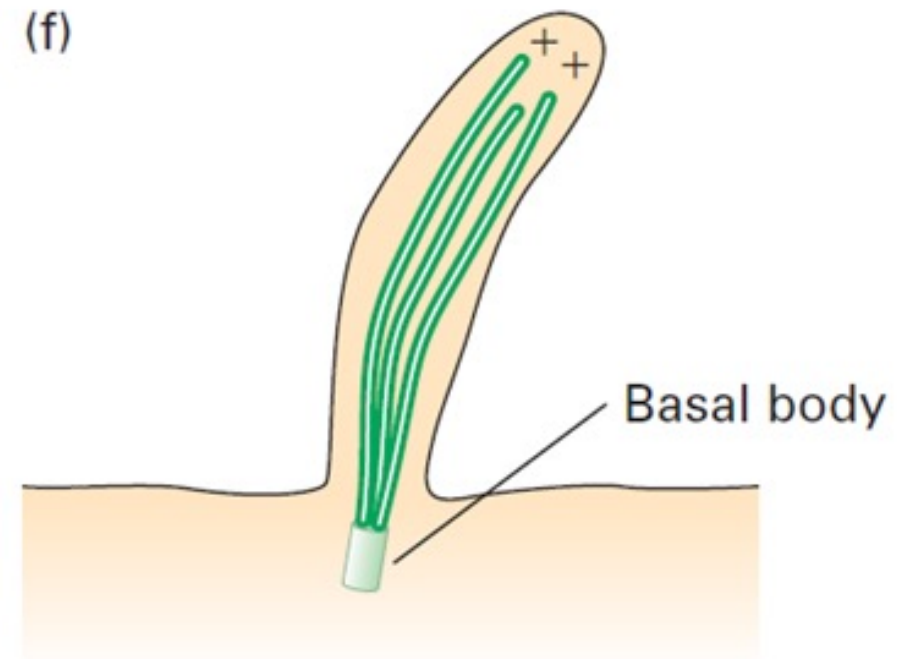
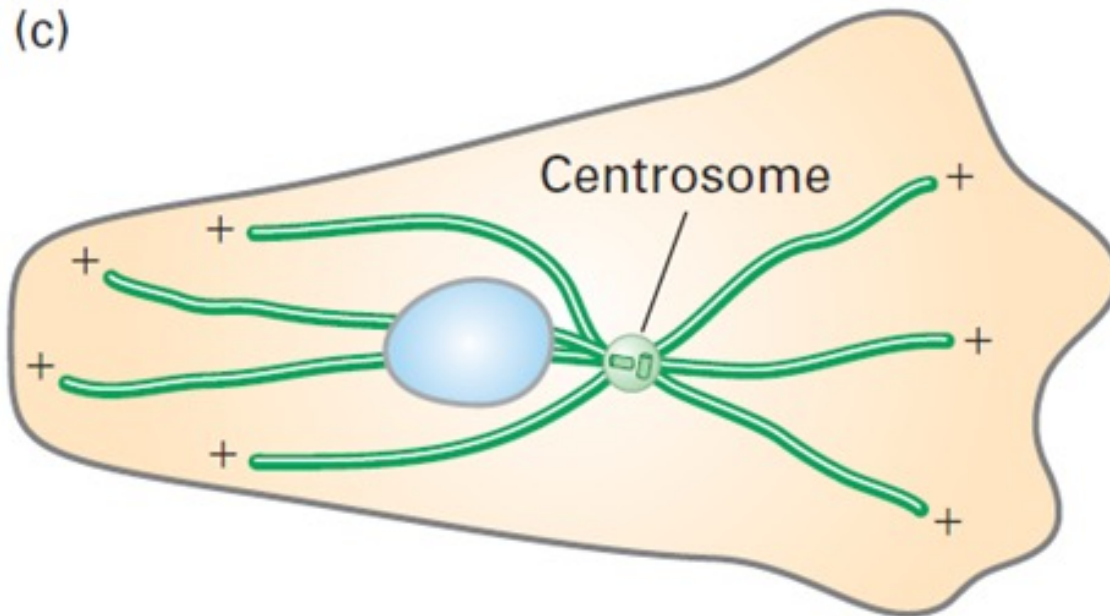
Mitosis y meiosis



Agrupaciones complejas

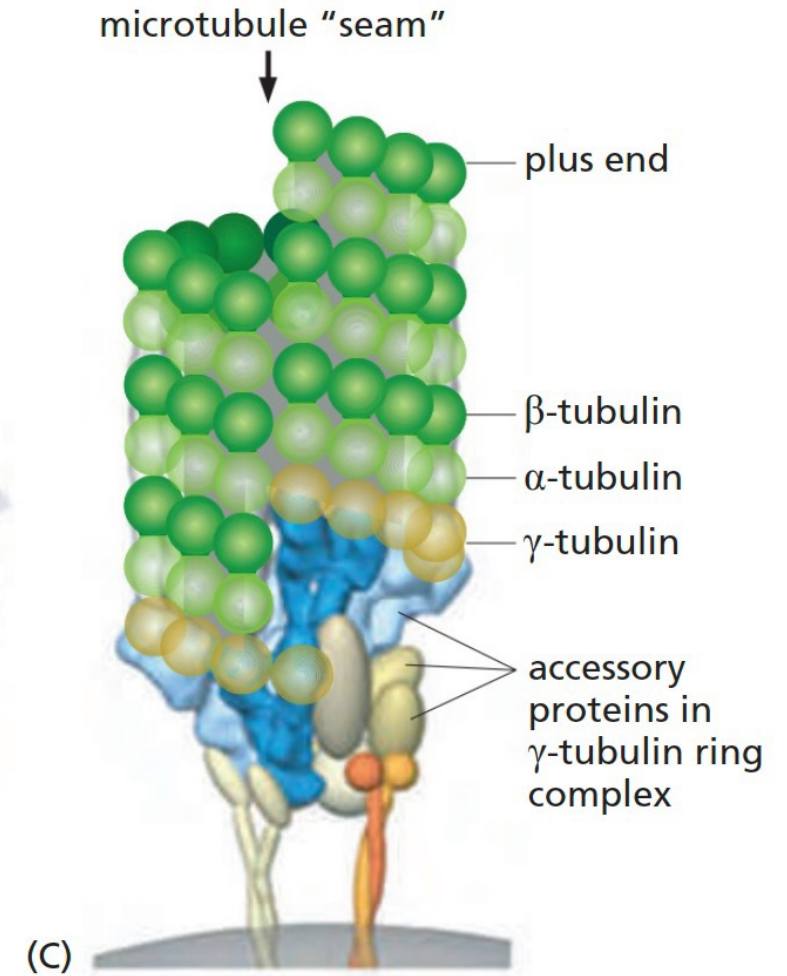
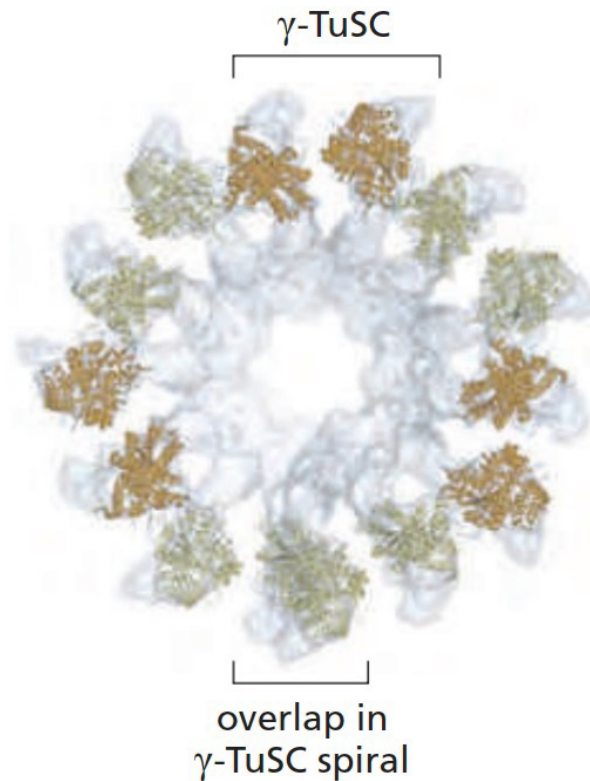
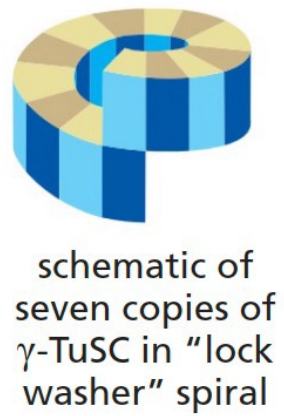
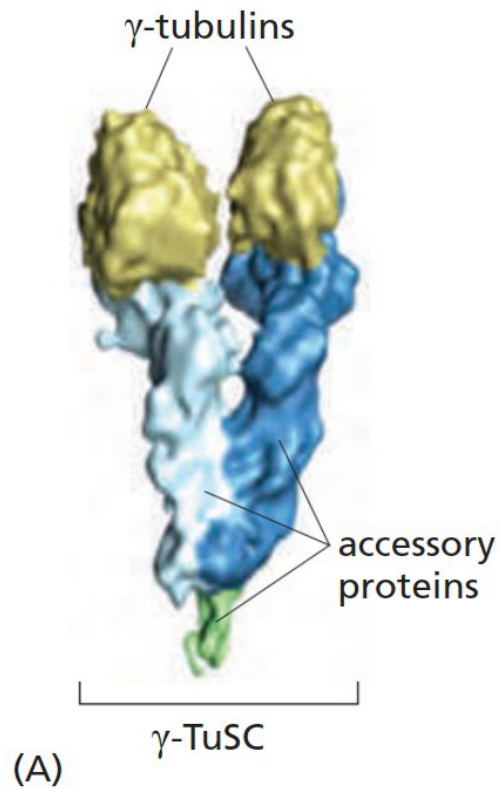
Centros organizadores de microtúbulos

La génesis de nuevos microtúbulos depende de los MTOC

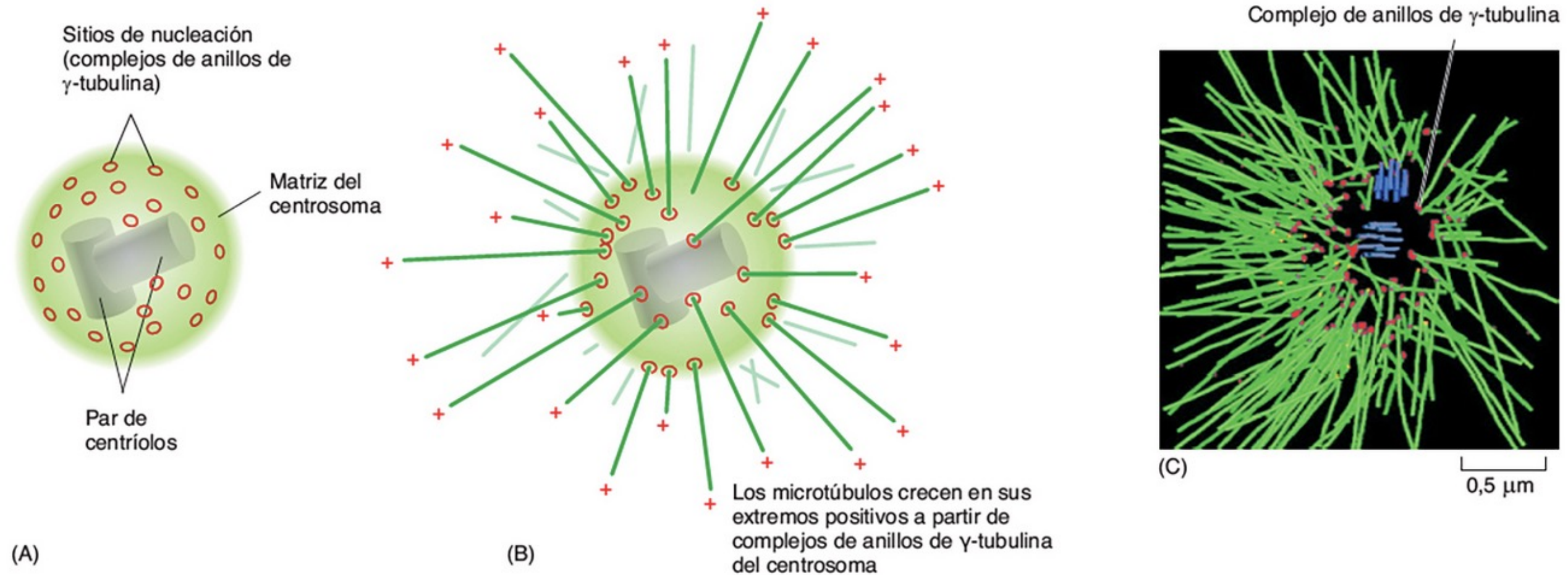


Se localiza la γ -tubulina

Centros organizadores de microtúbulos

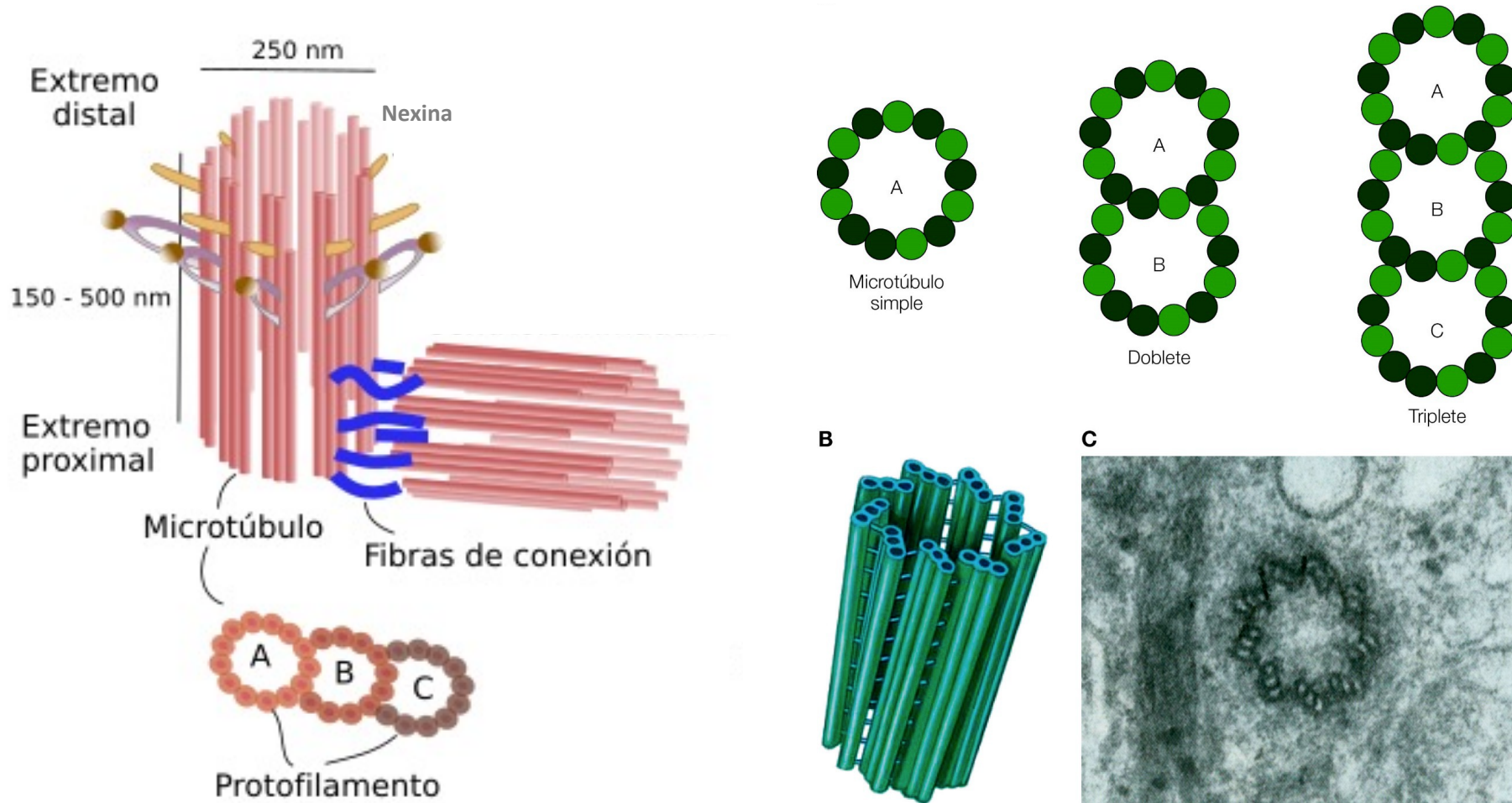


El centrosoma es el principal centro organizador de microtúbulos



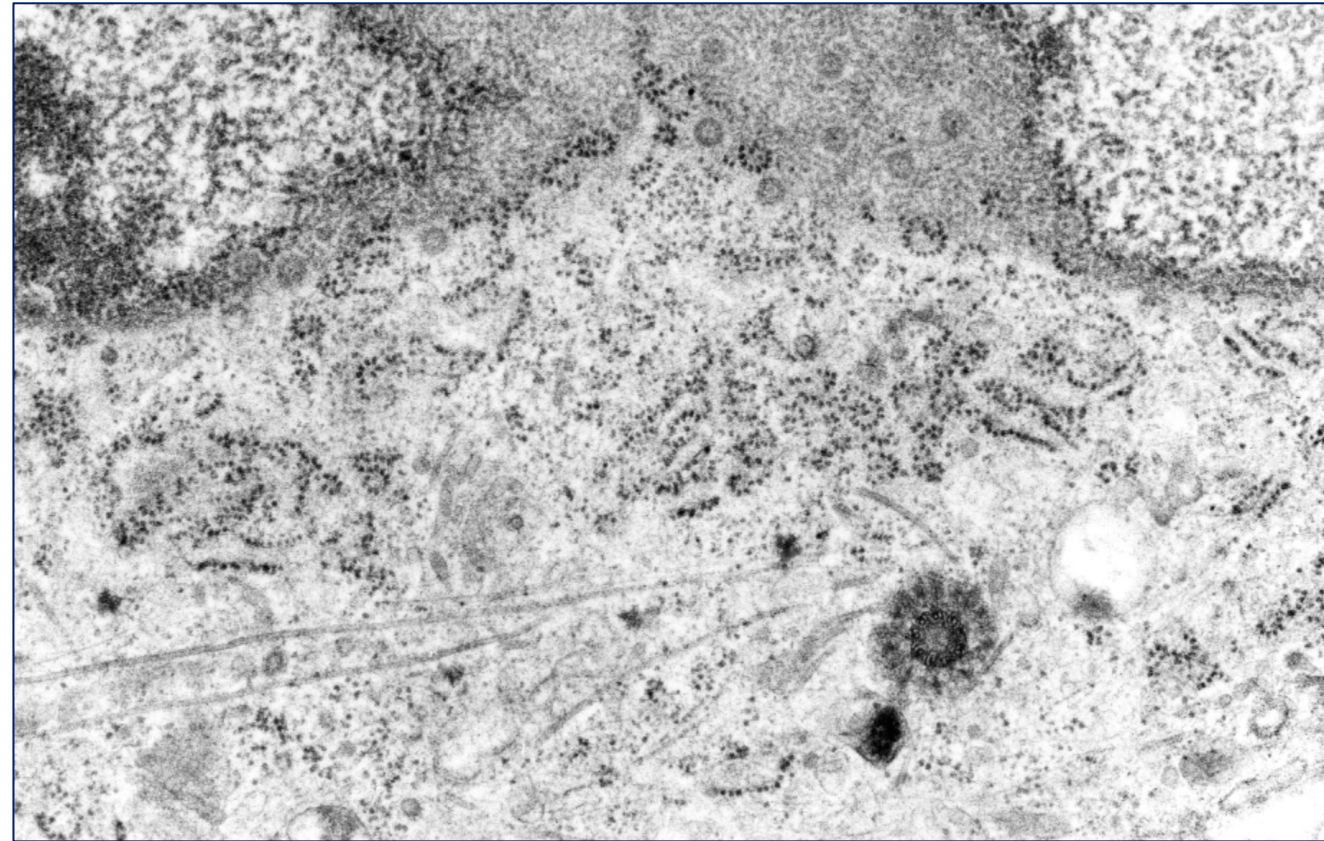
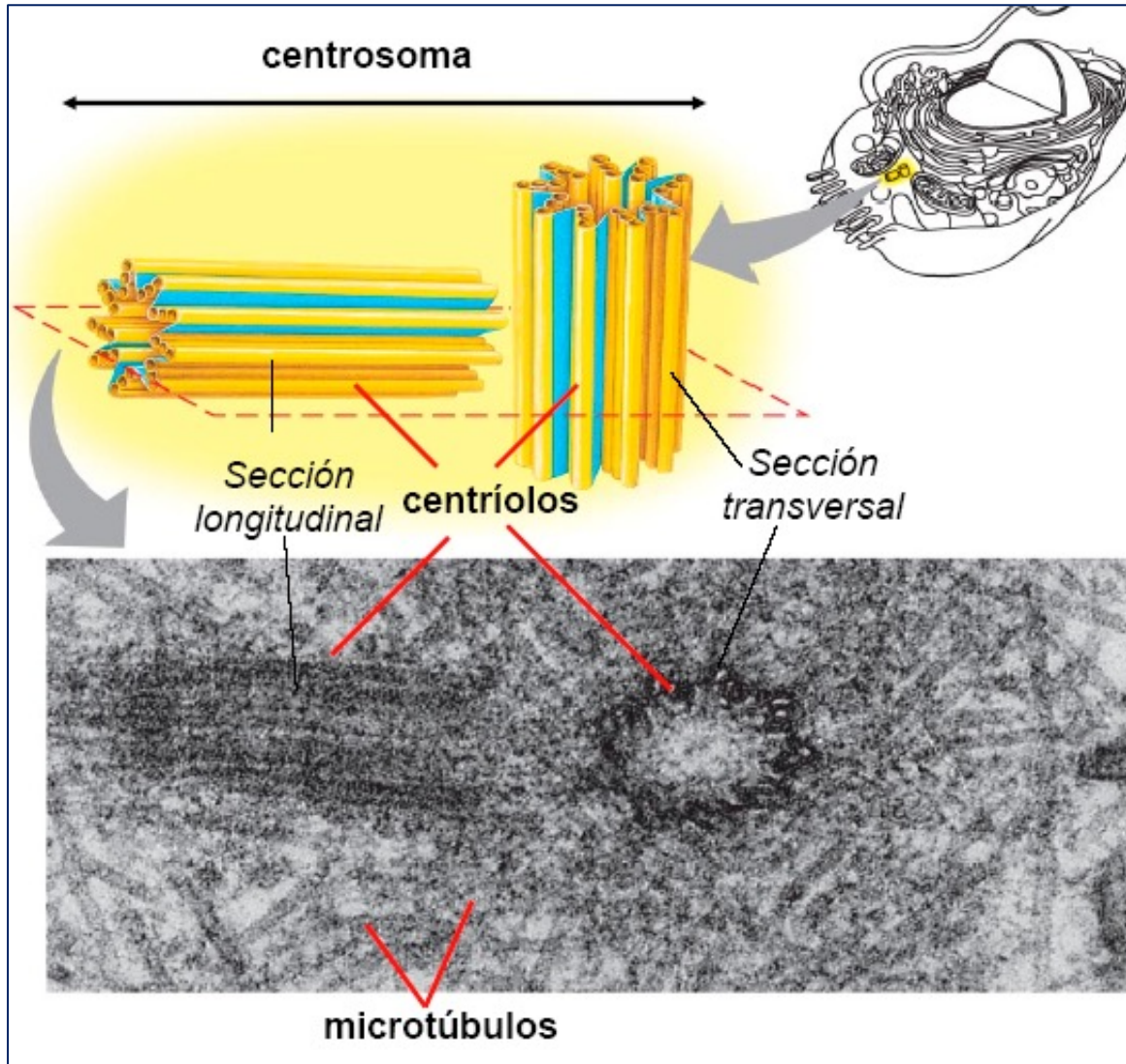
El centrosoma es el principal centro organizador de microtúbulos

Los centriolos están constituidos por 9 triplete de microtúbulos (9_3+0)

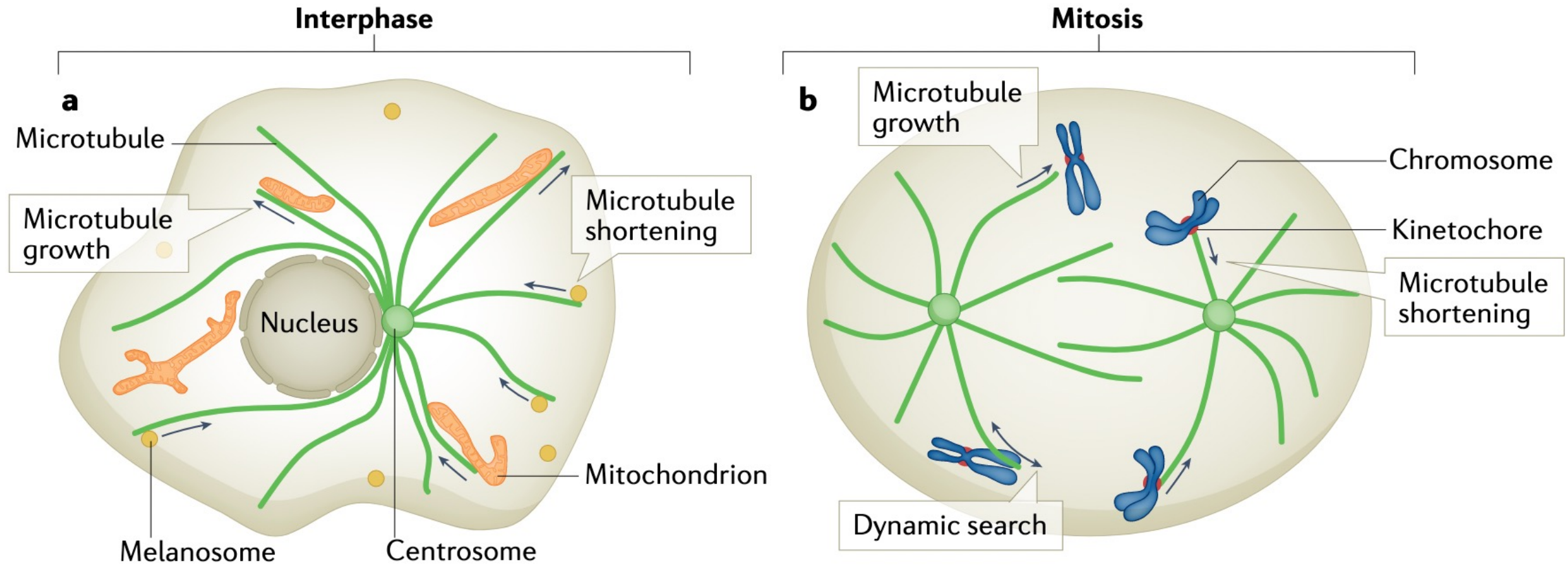


No son nucleadores de microtúbulos

El centrosoma es el principal centro organizador de microtúbulos

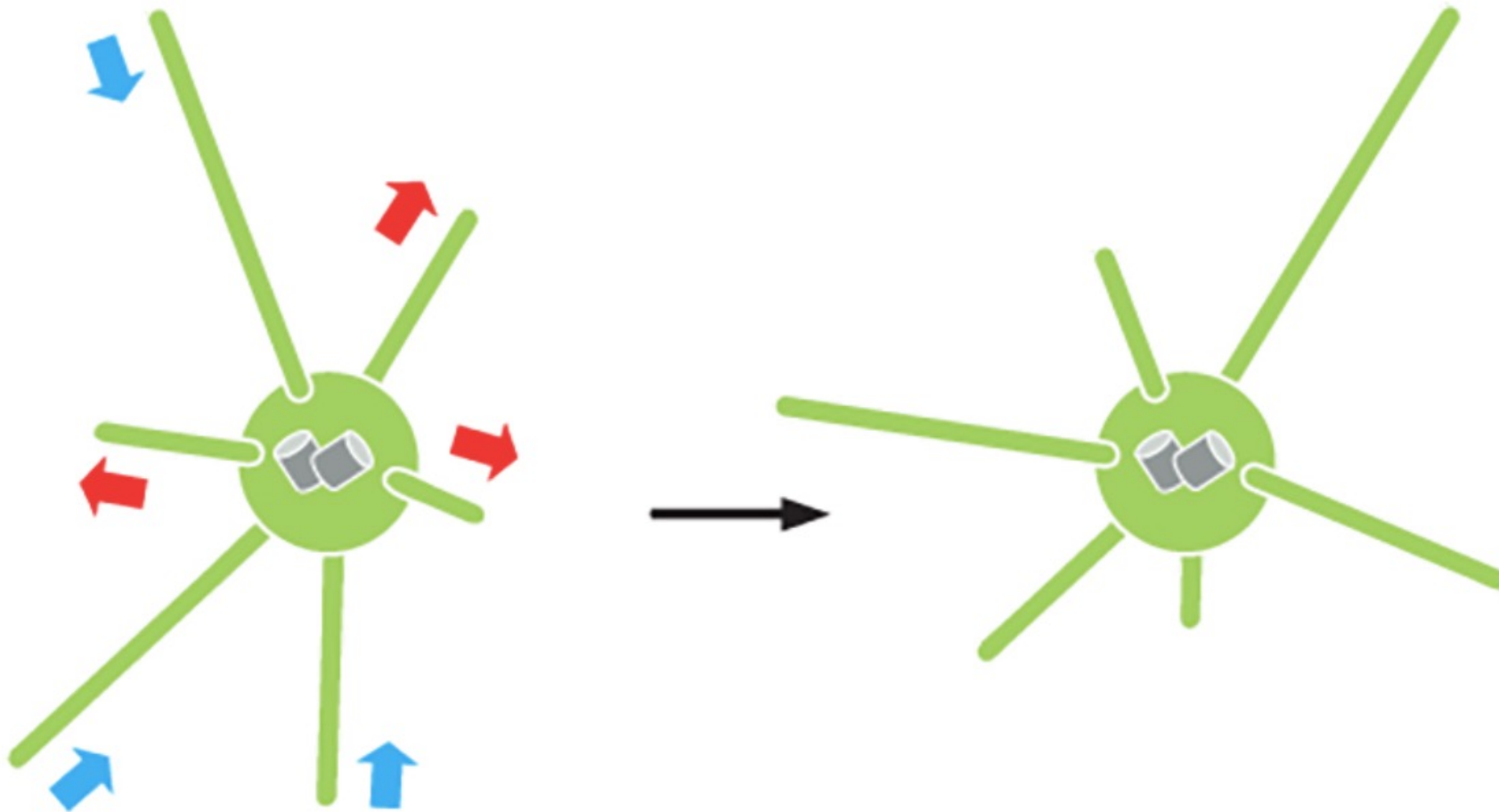


El centrosoma es el principal centro organizador de microtúbulos



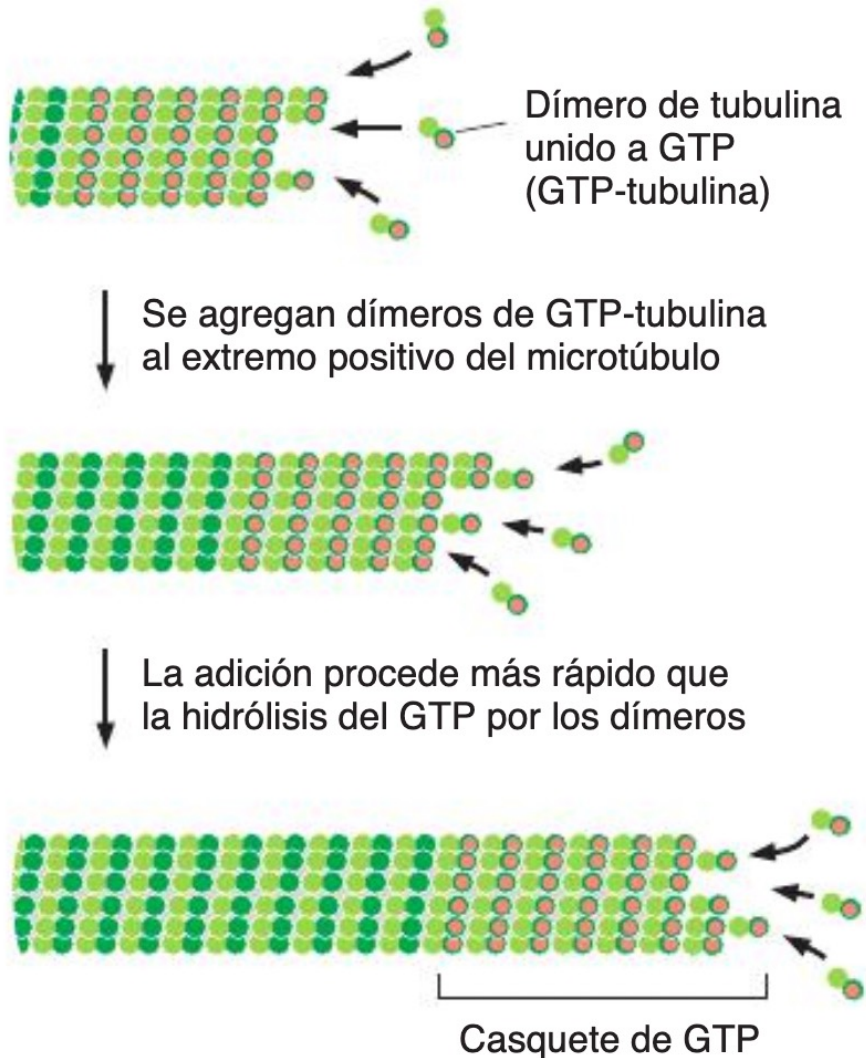
Los microtúbulos presentan inestabilidad dinámica

Polimerización y despolimerización: tienen un remodelado rápido

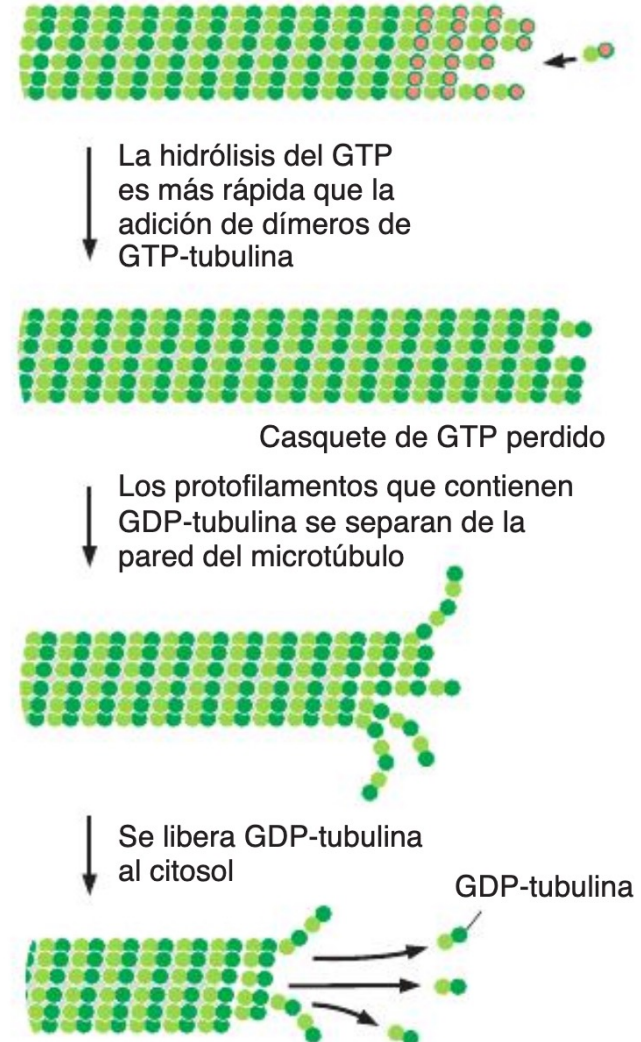


La hidrólisis del GTP controla la inestabilidad dinámica de los microtúbulos

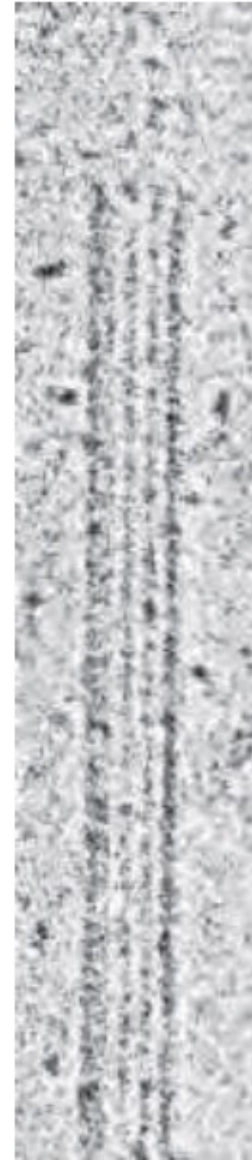
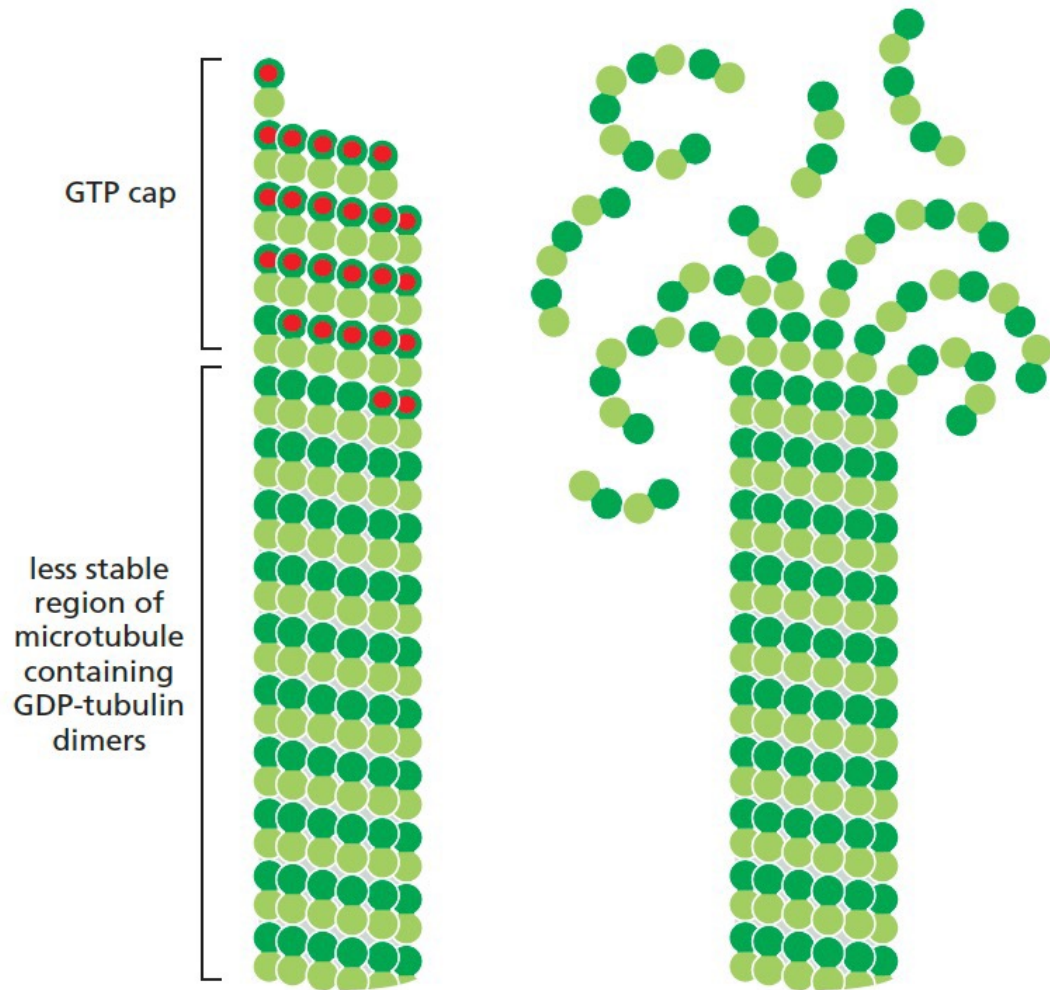
(A) MICROTÚBULO EN CRECIMIENTO



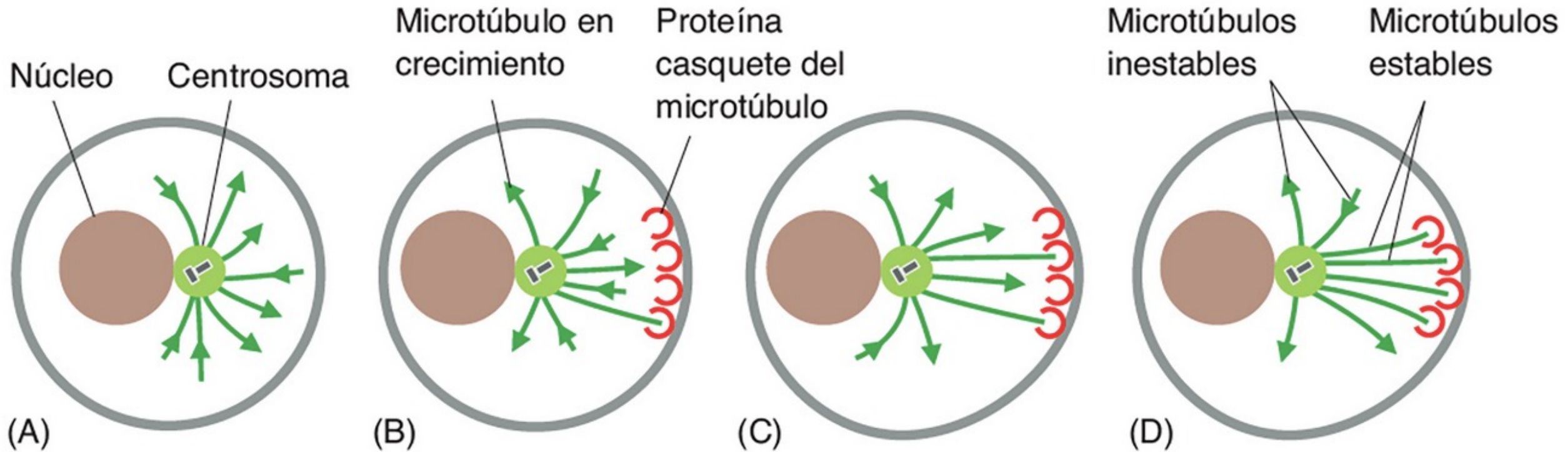
(B) MICROTÚBULO EN RETRACCIÓN



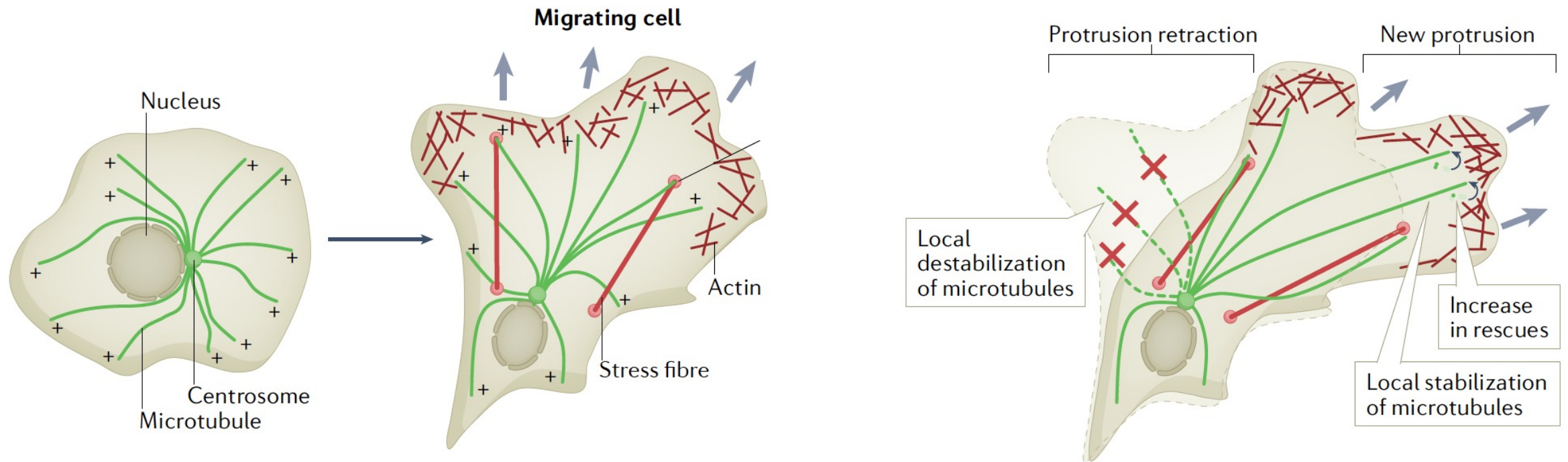
La hidrólisis del GTP controla la inestabilidad dinámica de los microtúbulos



Los microtúbulos pueden ser estabilizados

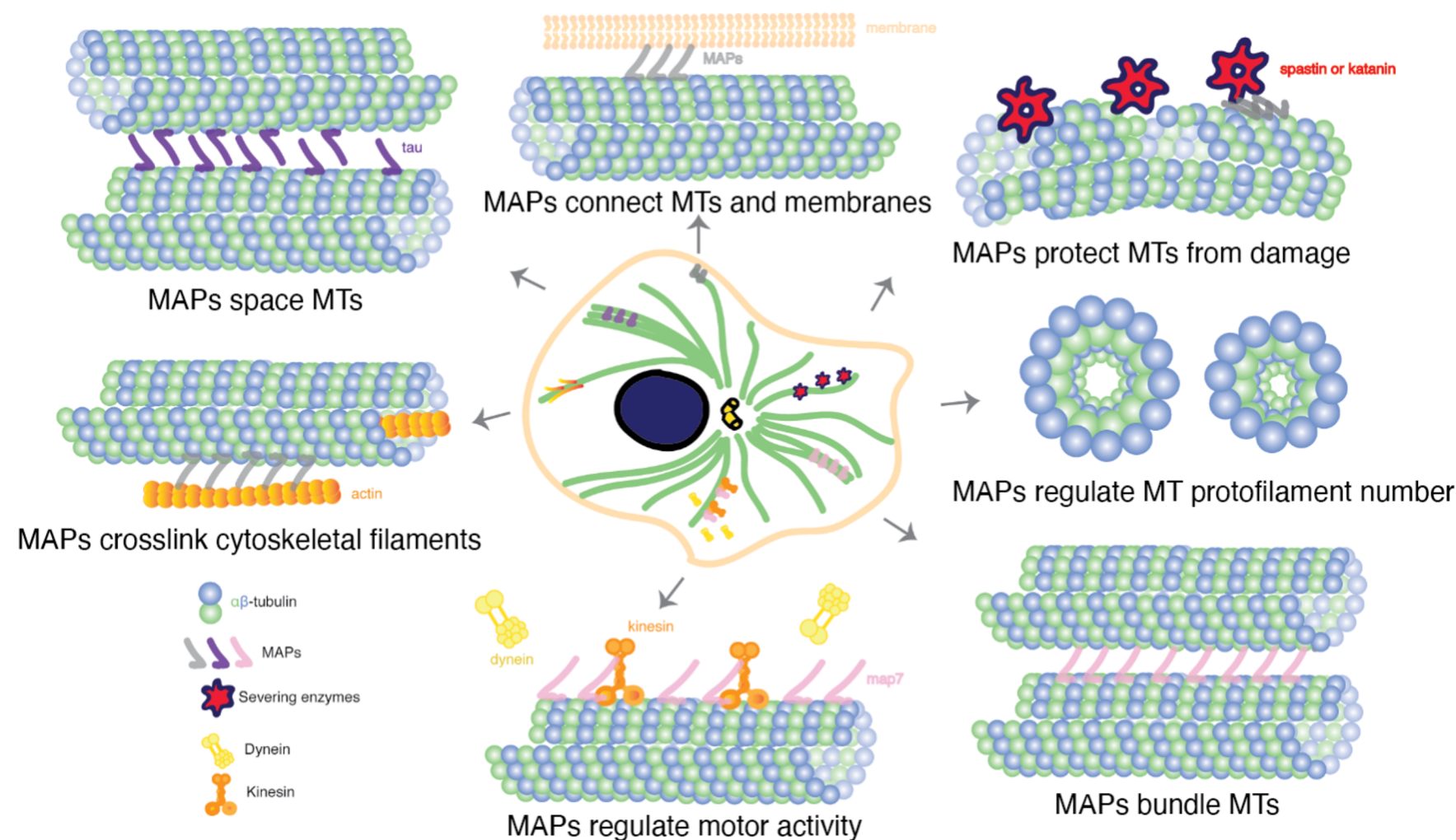


La polimerización y despolimerización participa en la estructura celular



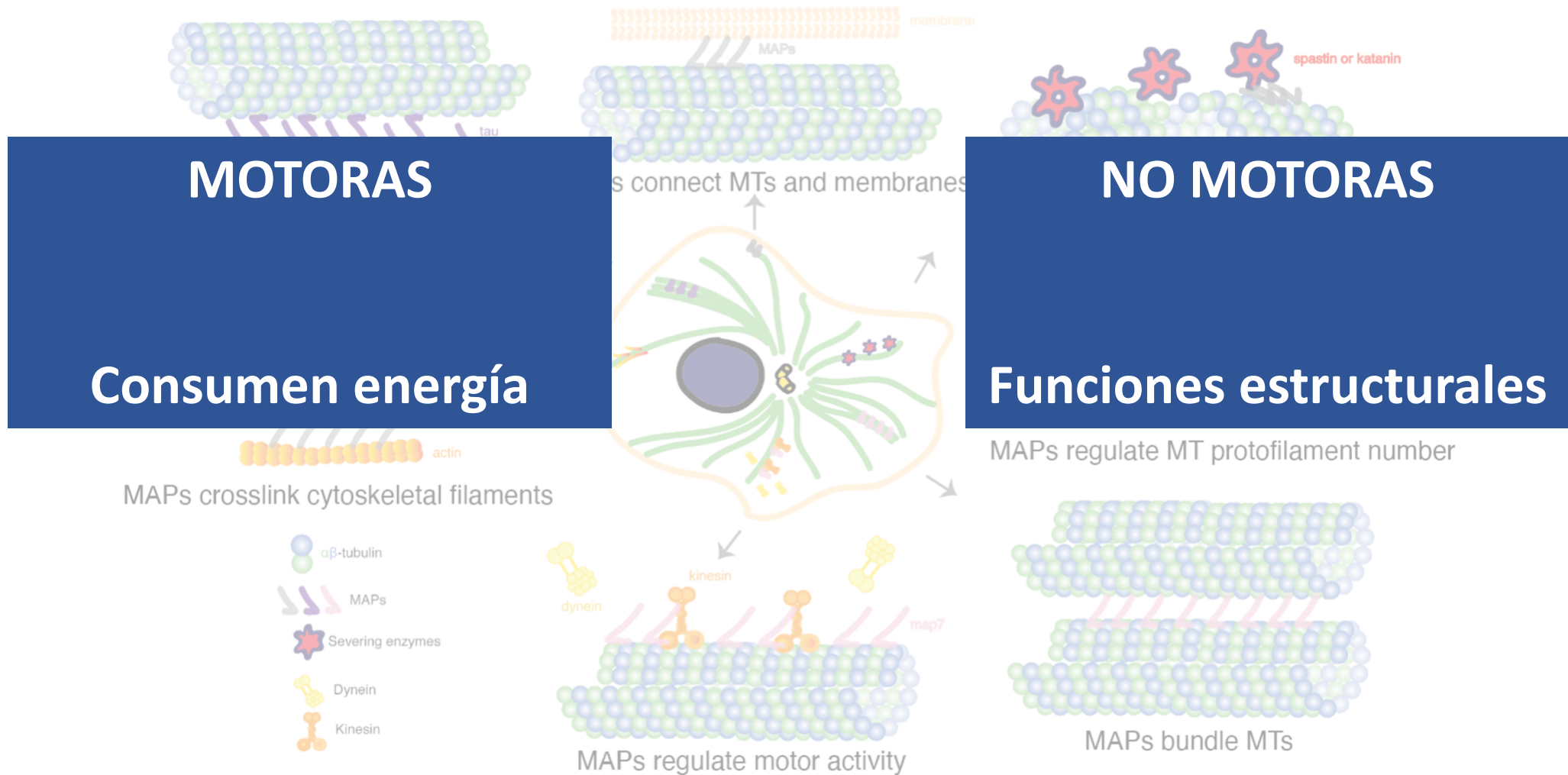
Proteínas asociadas a los microtúbulos

Proteínas asociadas a los microtúbulos (MAP)

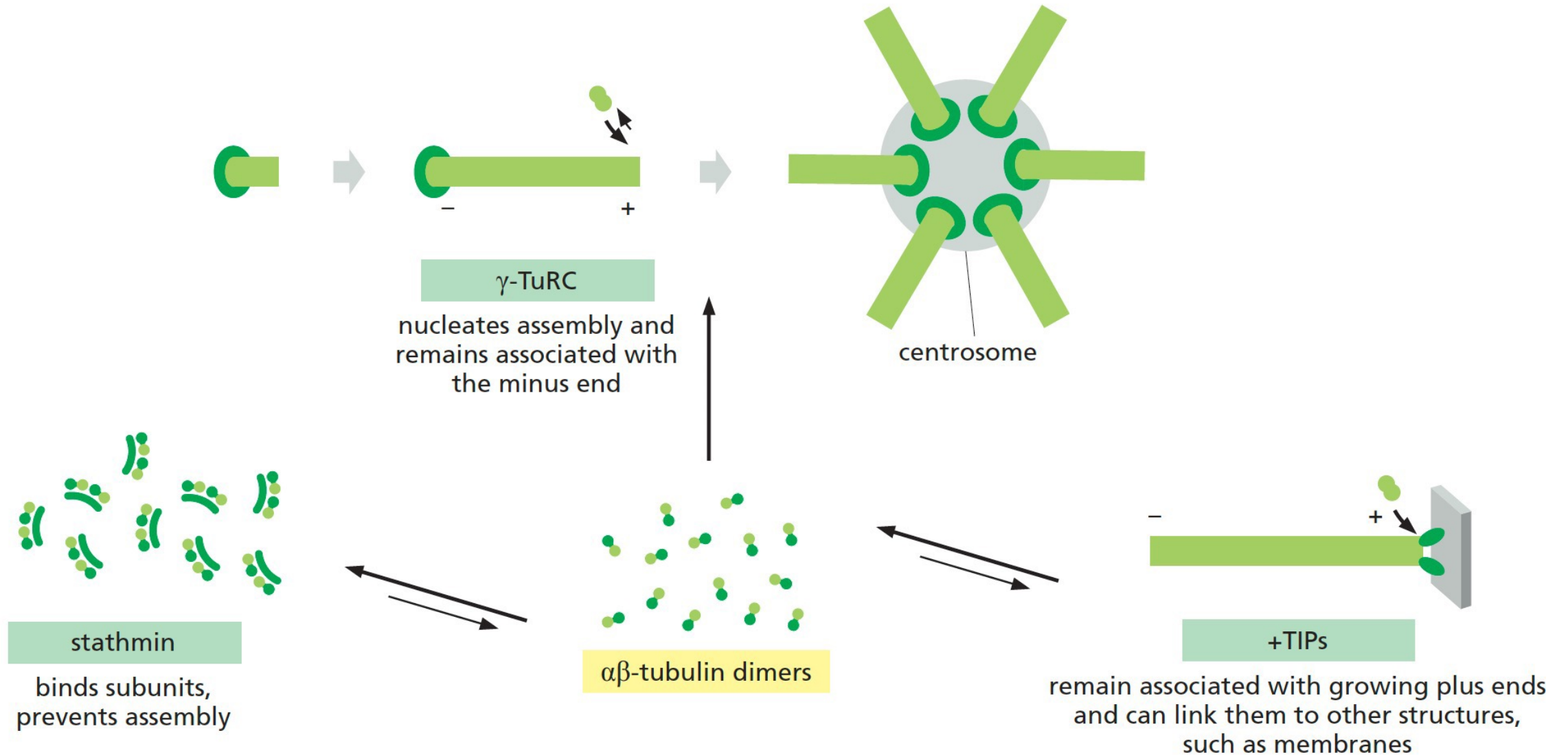


Proteínas asociadas a los microtúbulos

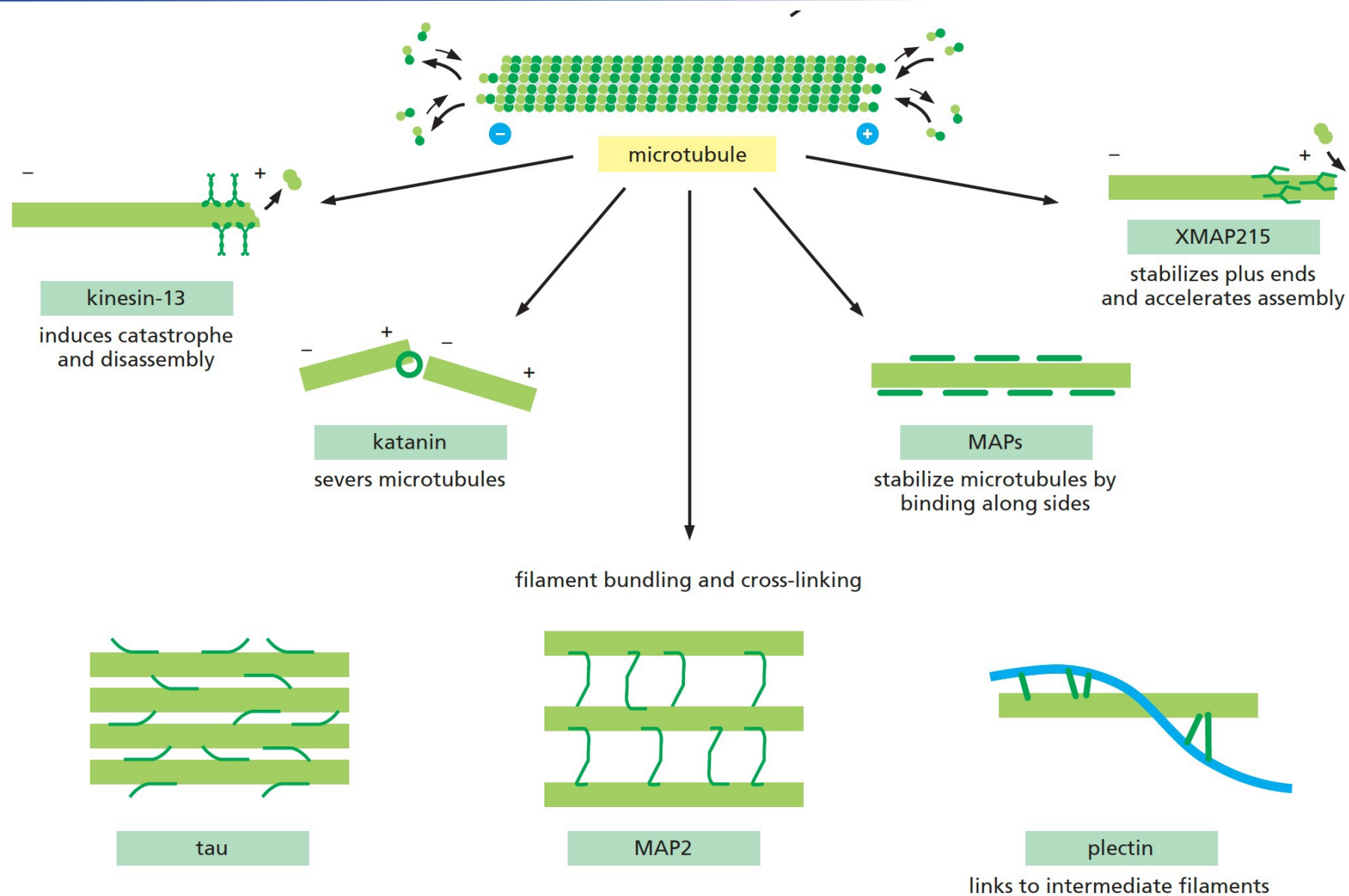
Proteínas asociadas a los microtúbulos (MAP)



Las MAP no motoras modulan la dinámica y organización

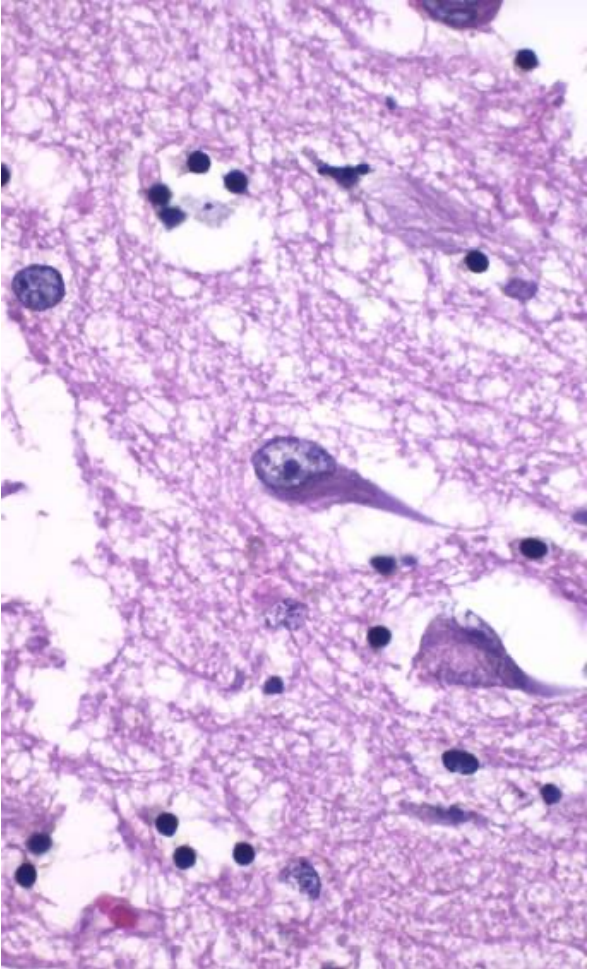
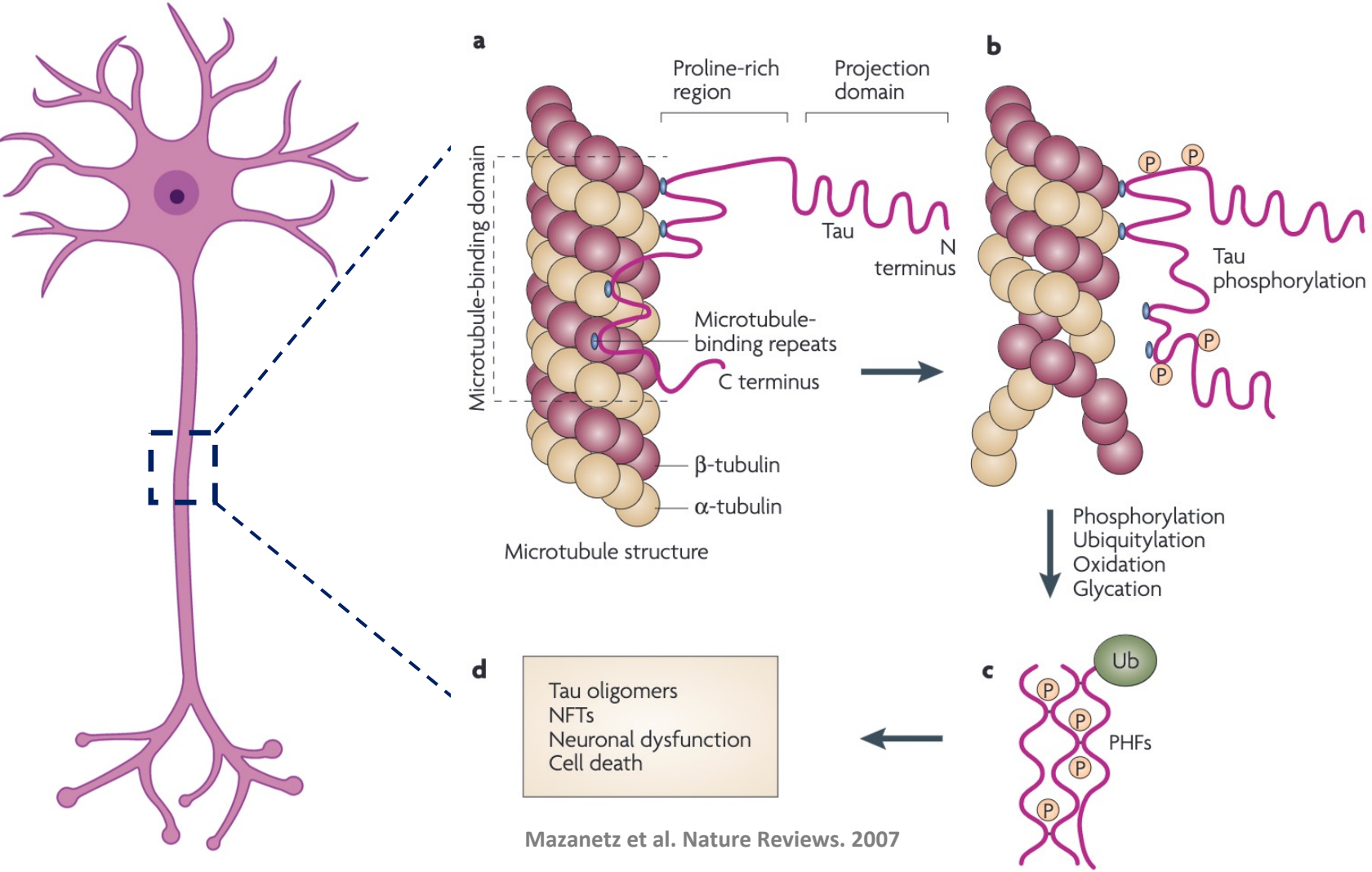


Las MAP no motoras modulan la dinámica y organización



Las MAP no motoras modulan la dinámica y organización

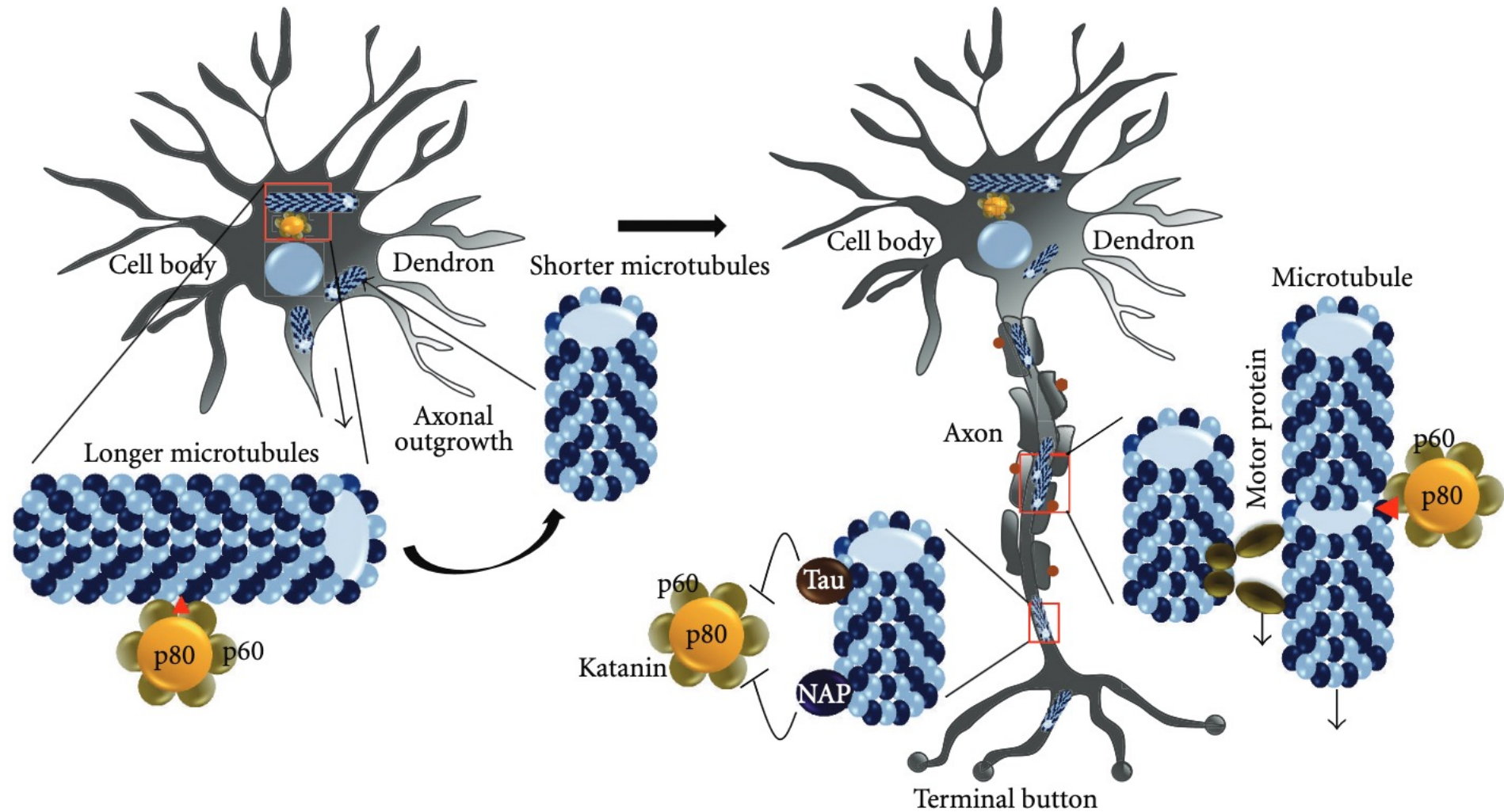
La proteína tau se asocia a los microtúbulos de los axones neuronales



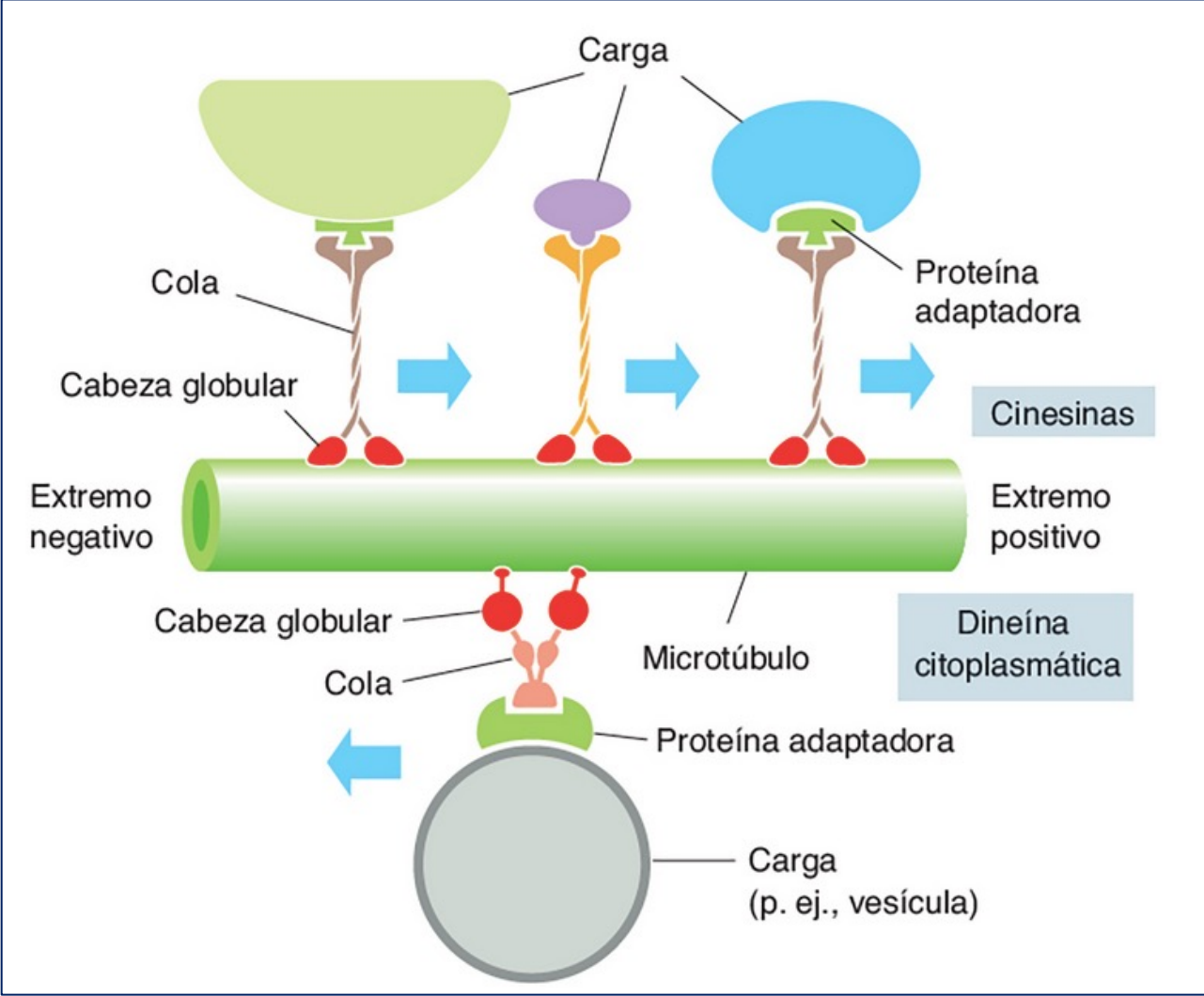
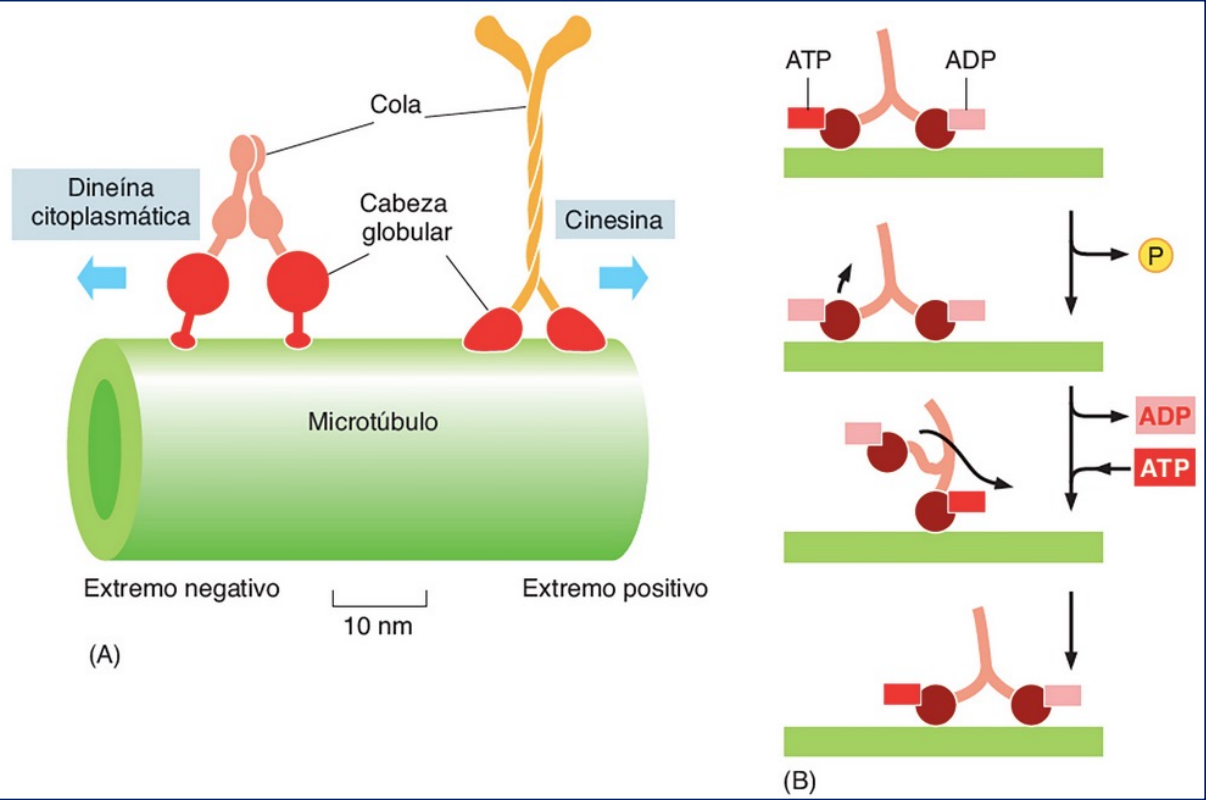
Ovillos de degeneración neurofibrilar

Las MAP no motoras modulan la dinámica y organización

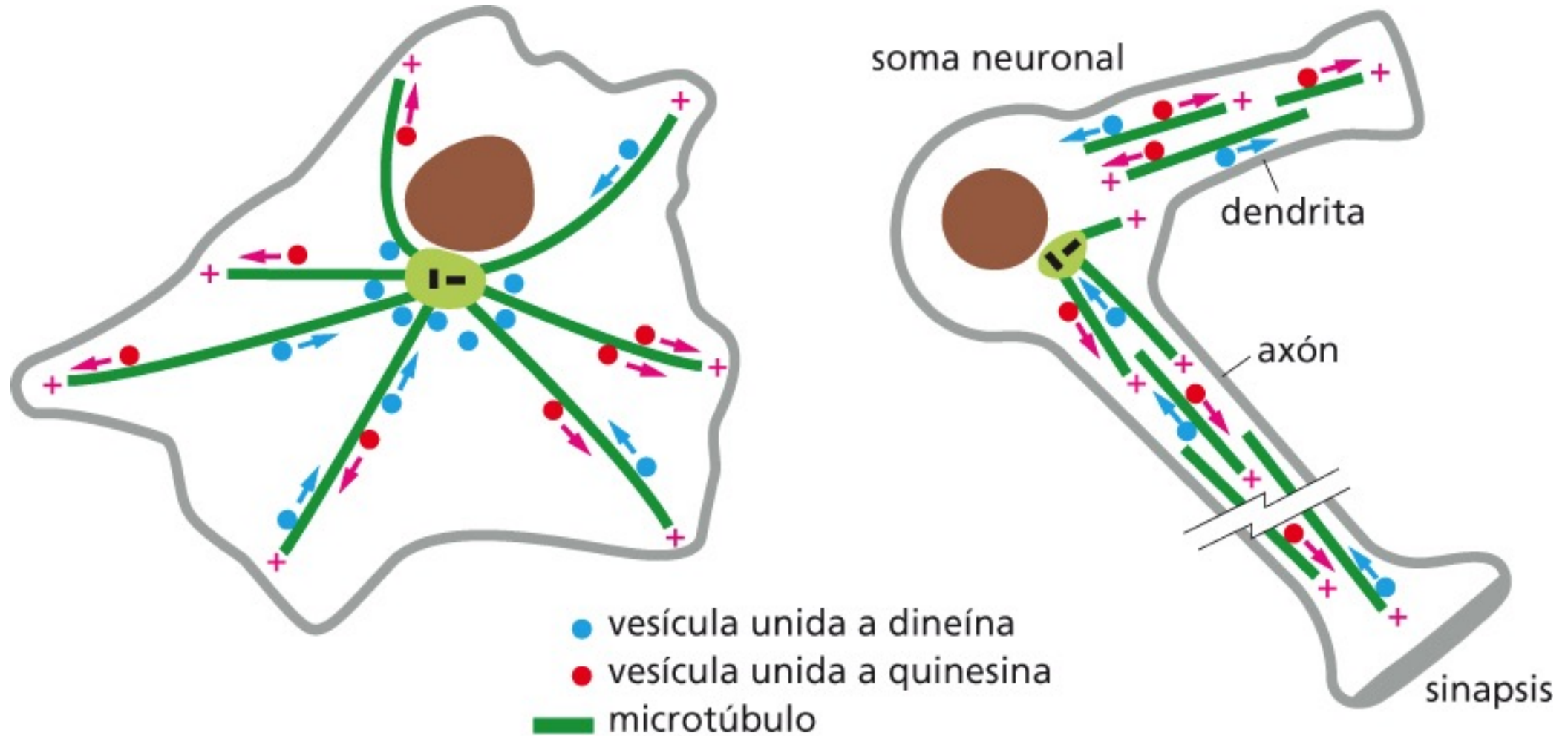
Los microtúbulos son cortados por enzimas como la Katenina



Las proteínas motoras impulsan el transporte intracelular



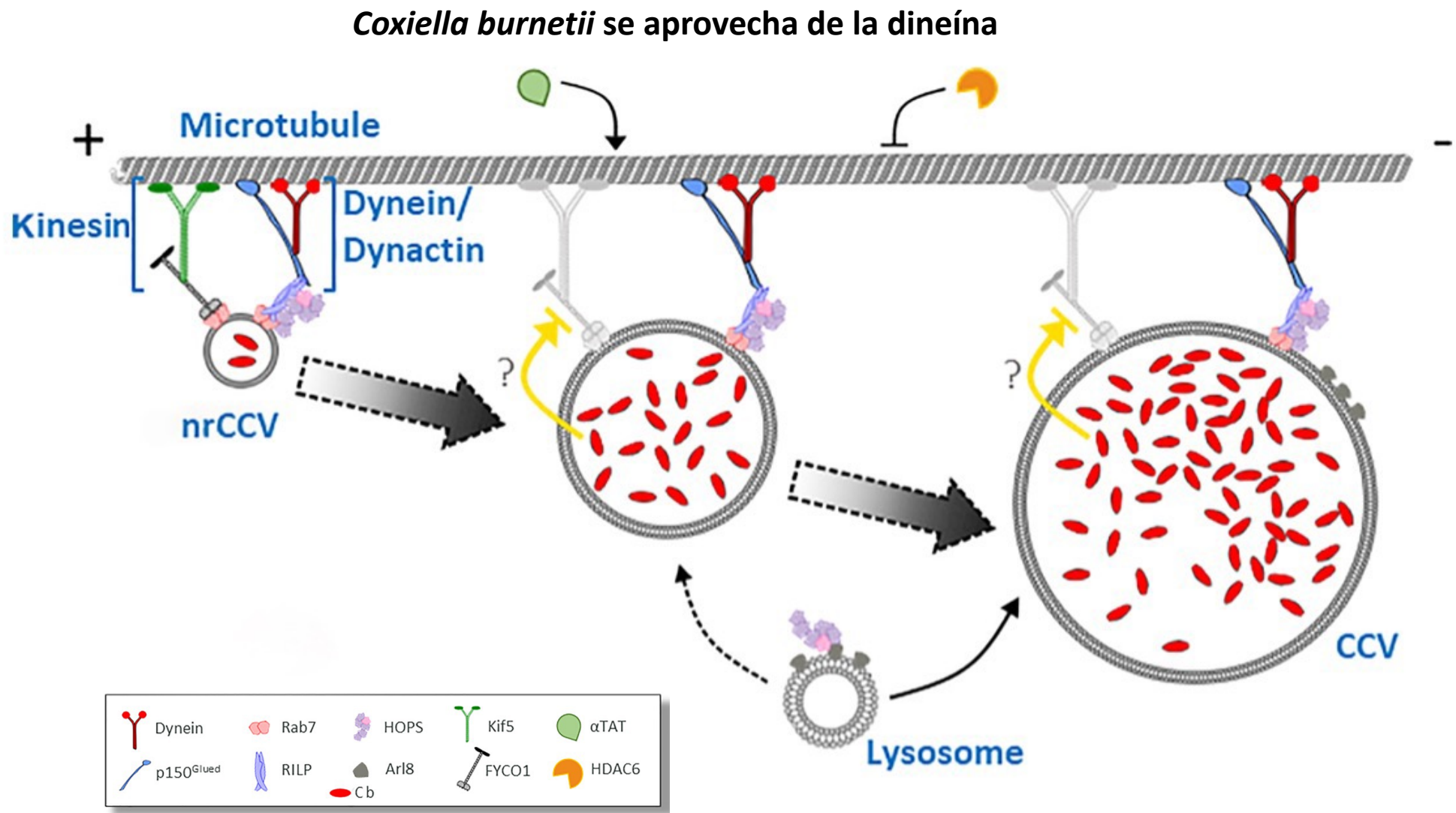
Las proteínas motoras impulsan el transporte intracelular



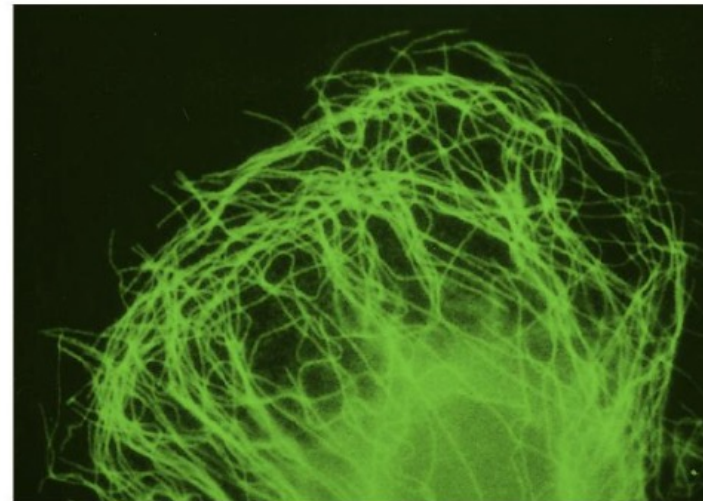
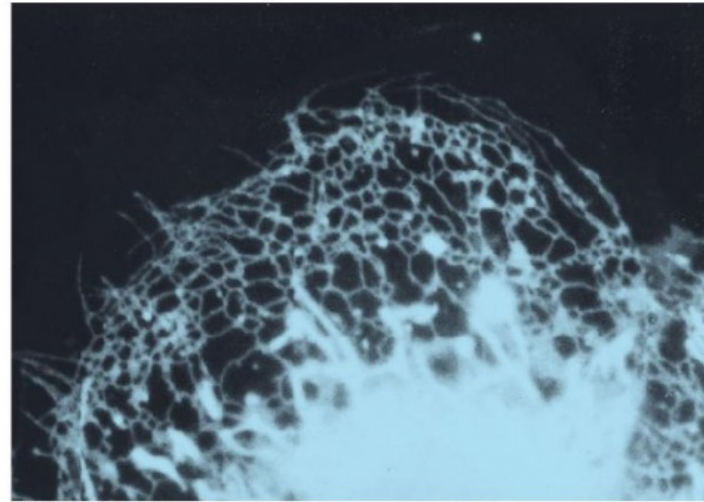
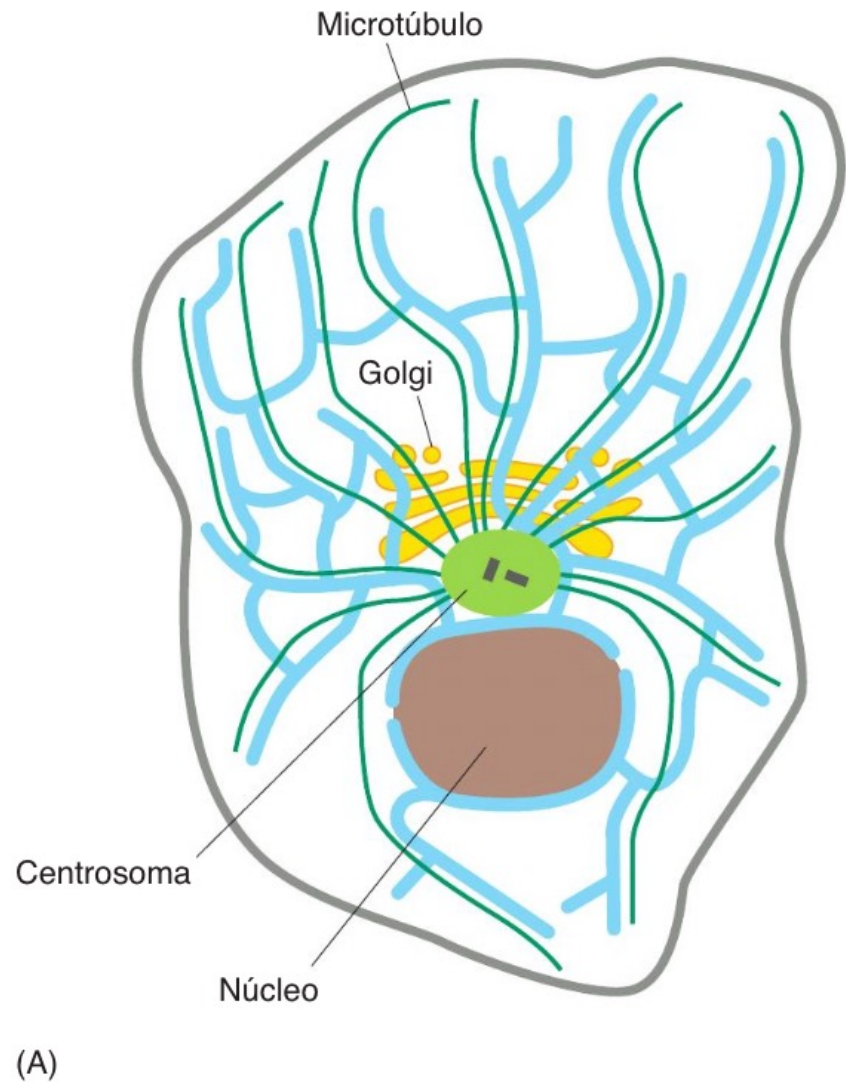
(A) FIBROBLASTO

(B) NEURONA

Las proteínas motoras impulsan el transporte intracelular

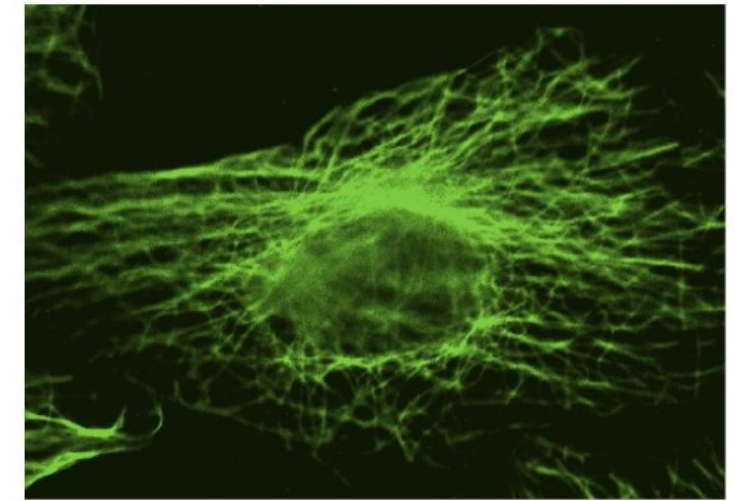
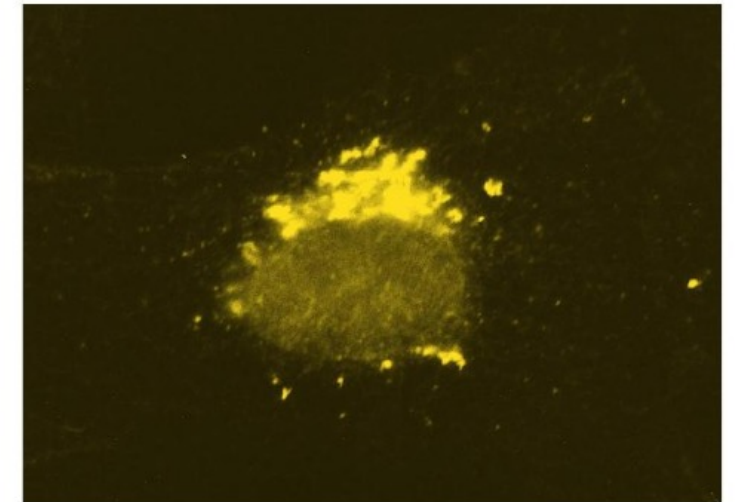


Las proteínas motoras determinan la posición de los orgánulos en el citoplasma



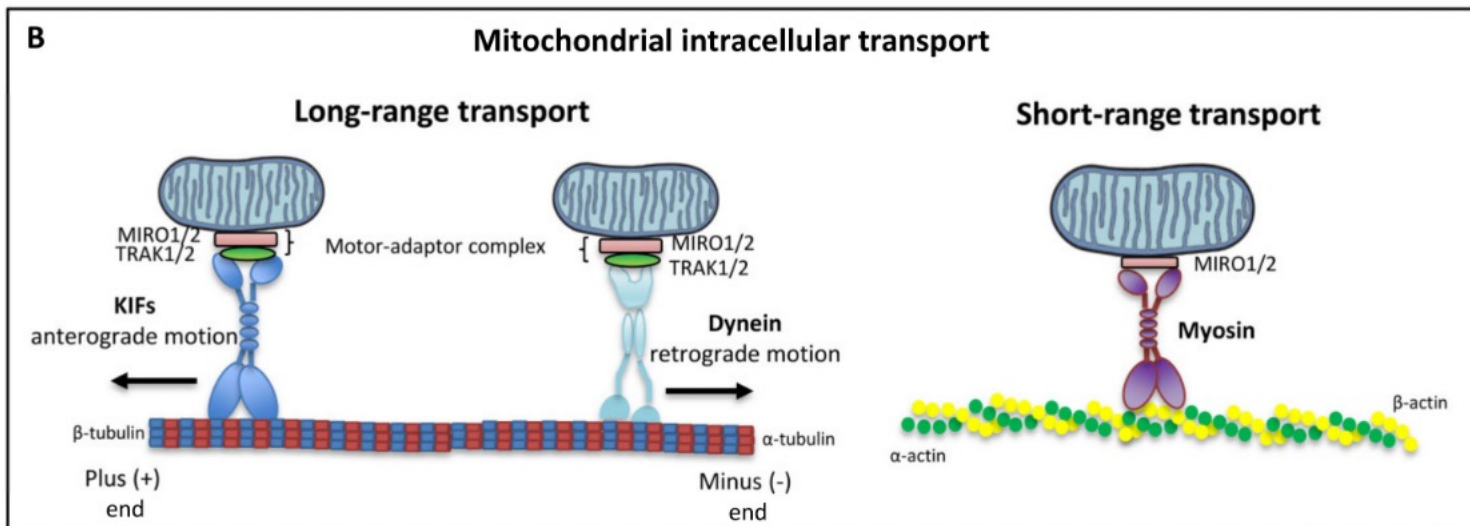
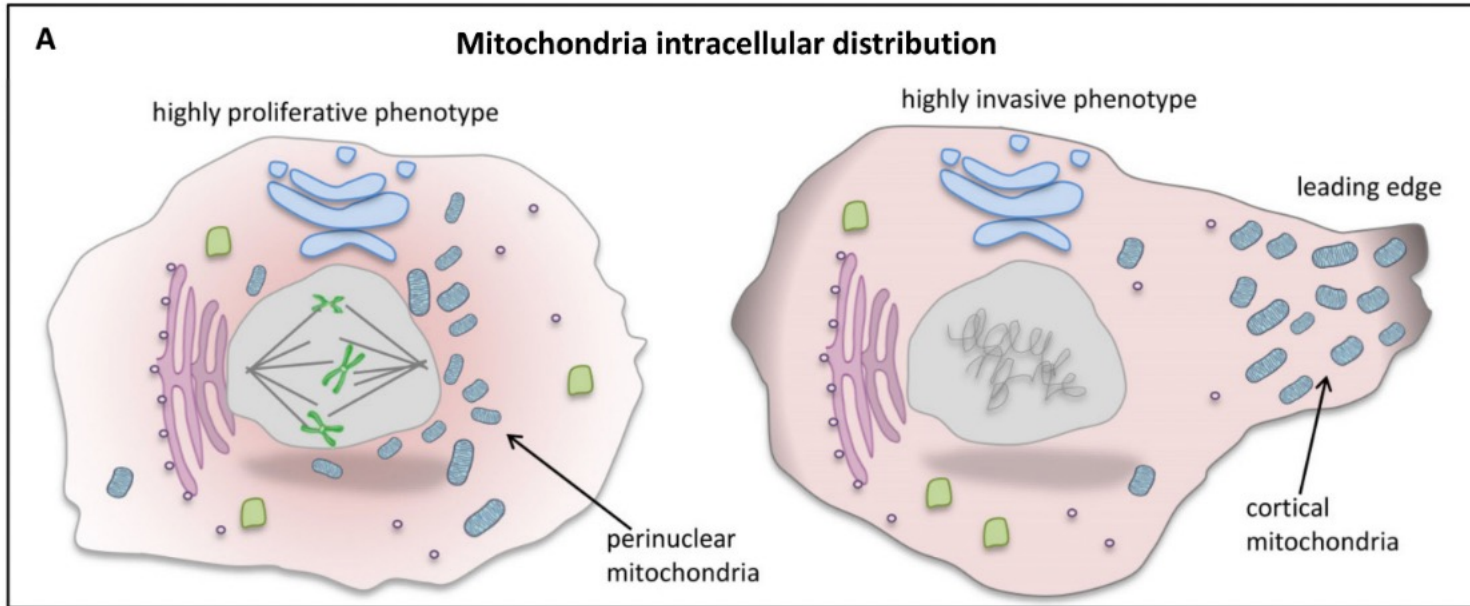
(B)

10 μm

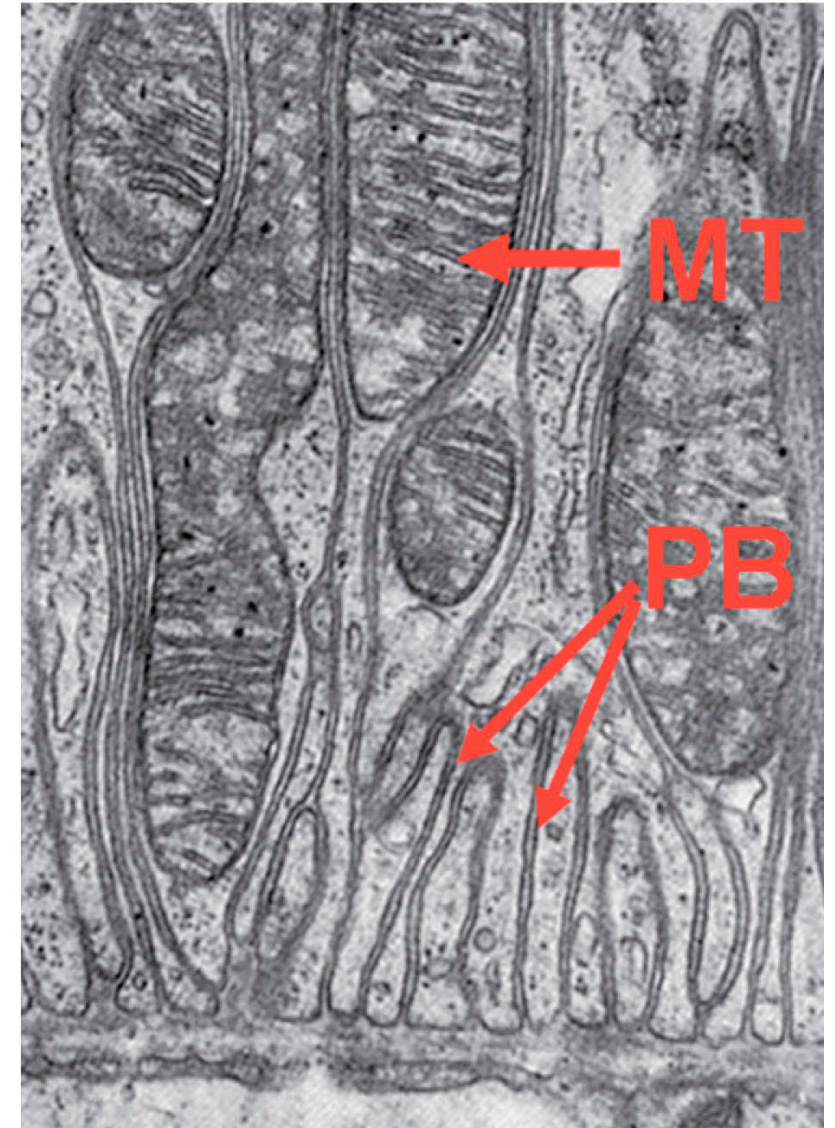


(C)

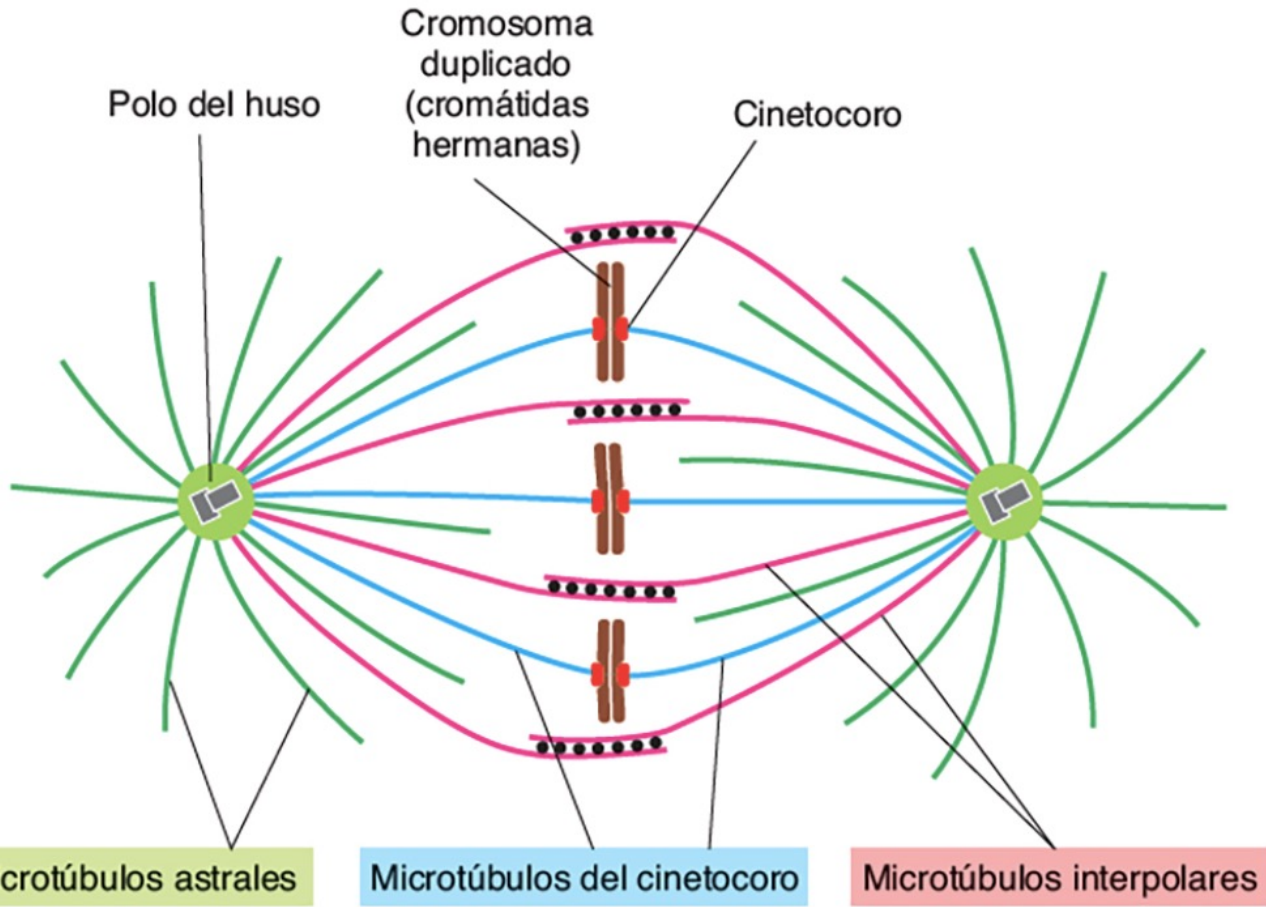
Las proteínas motoras determinan la posición de los orgánulos en el citoplasma



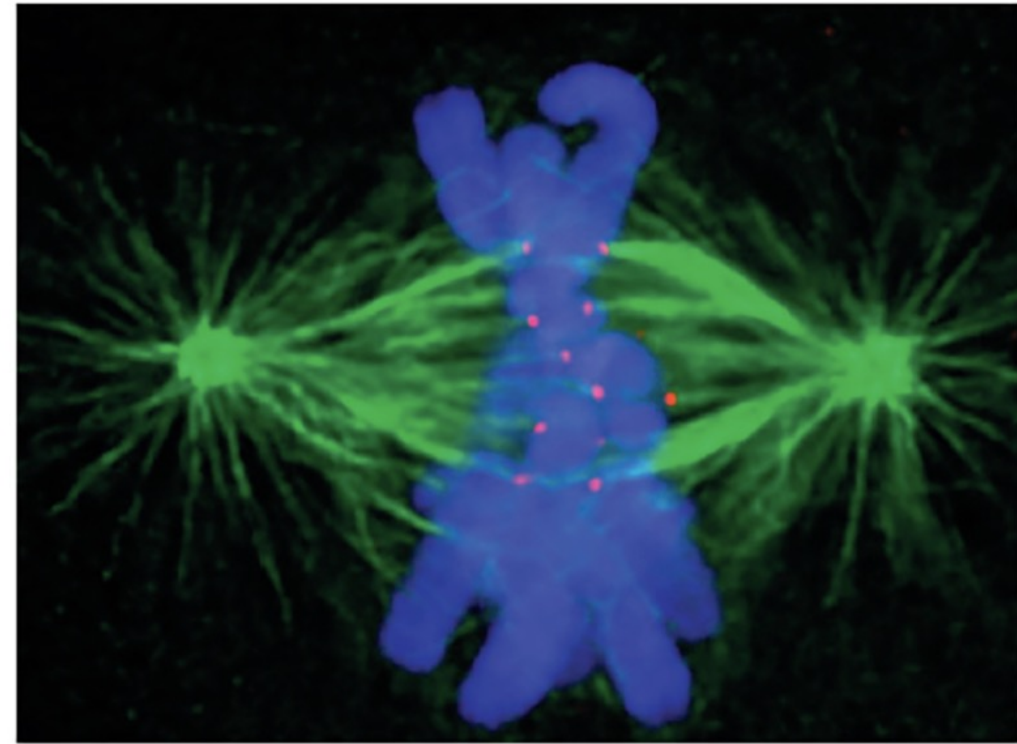
B



Los microtúbulos son cruciales en la división celular



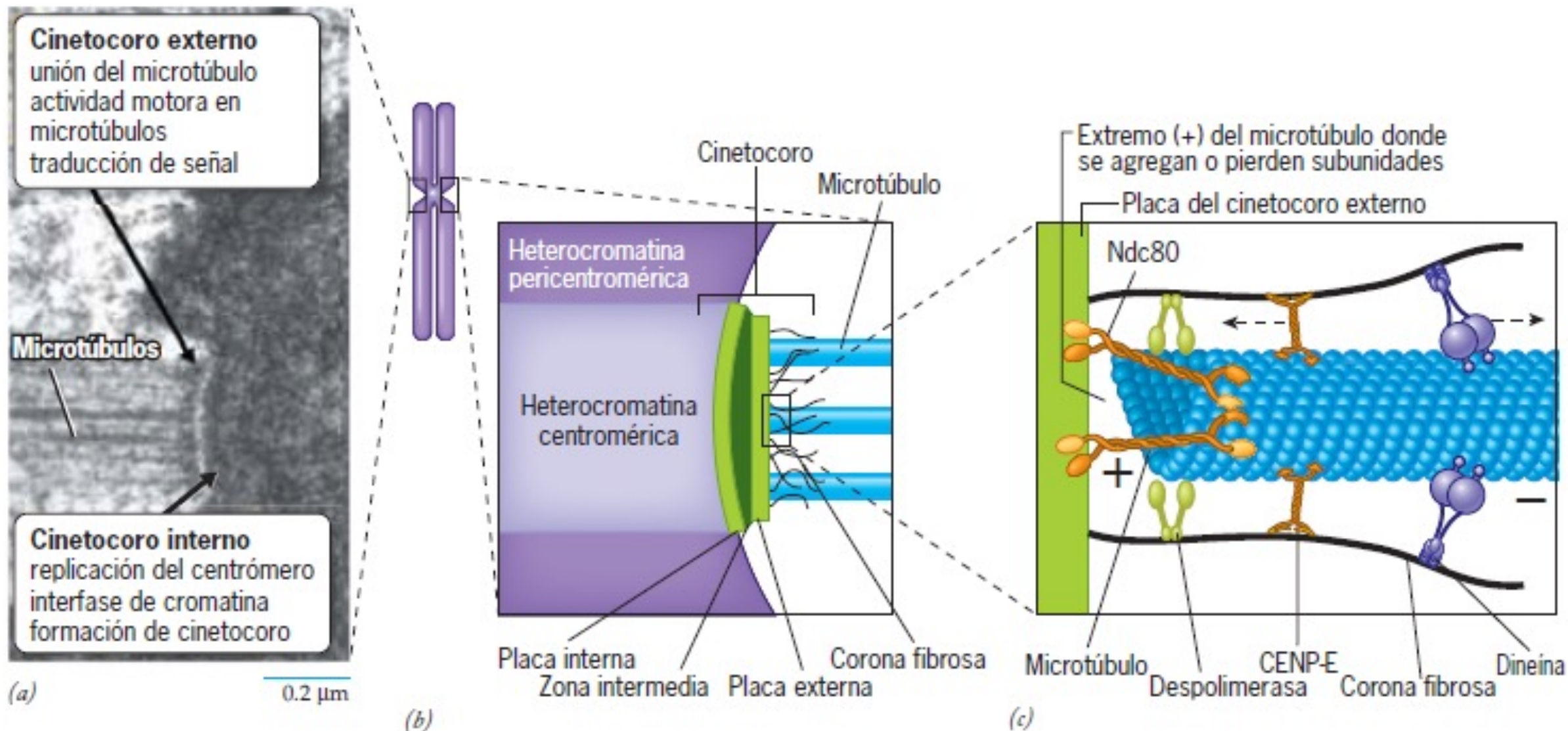
(A)



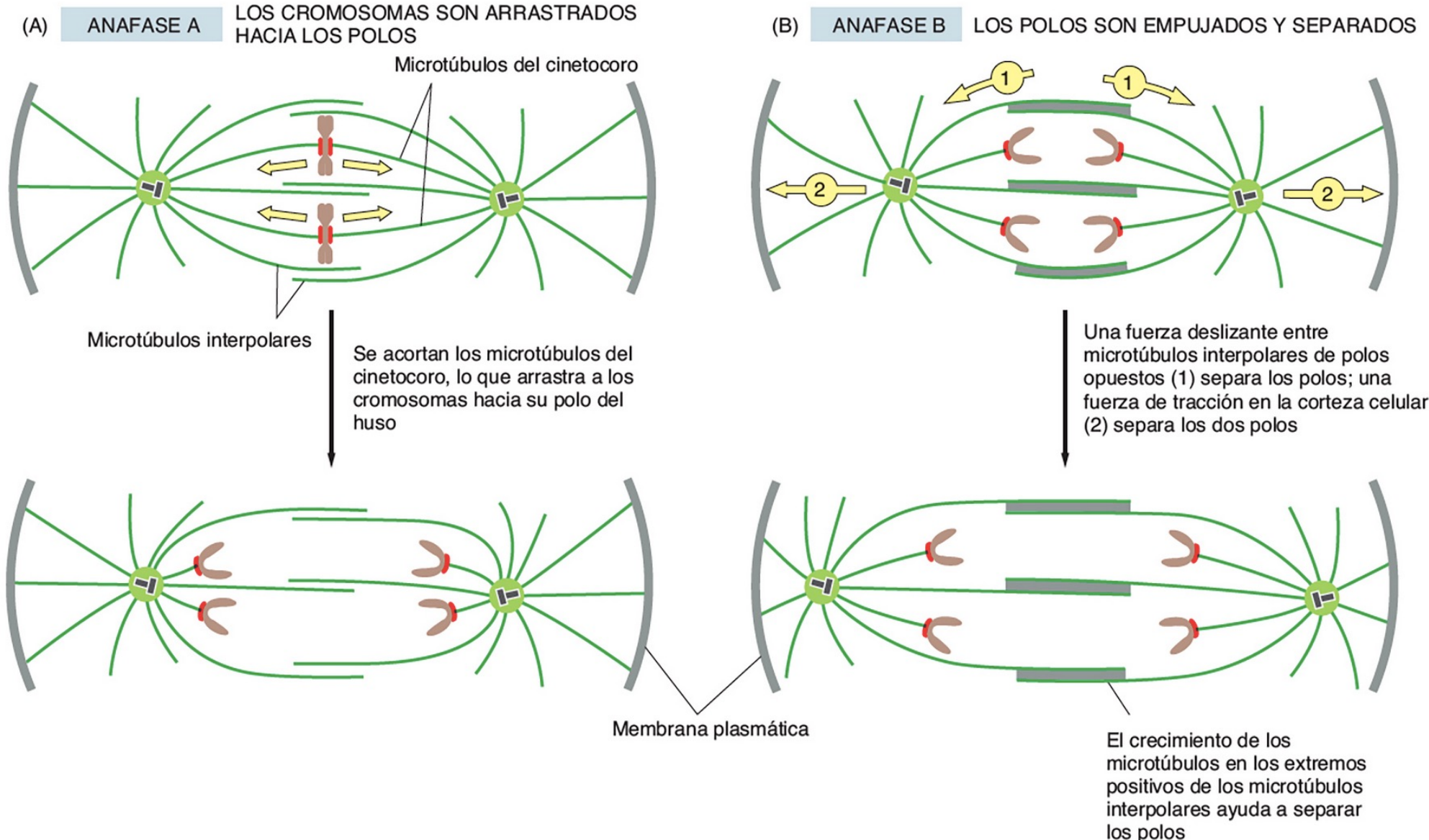
(B)

5 μm

Los microtúbulos son cruciales en la división celular

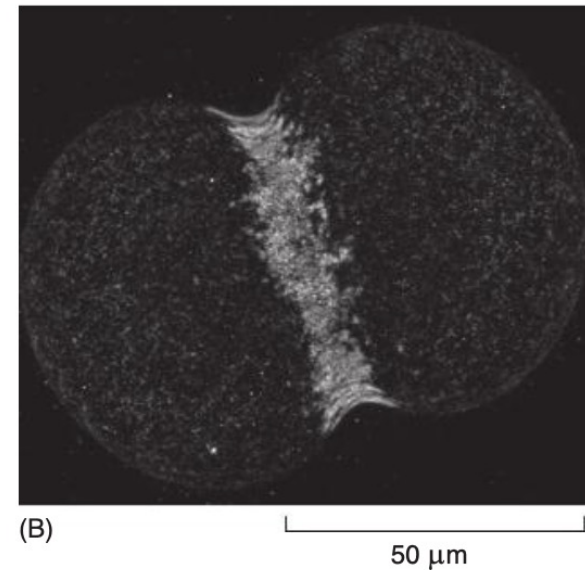
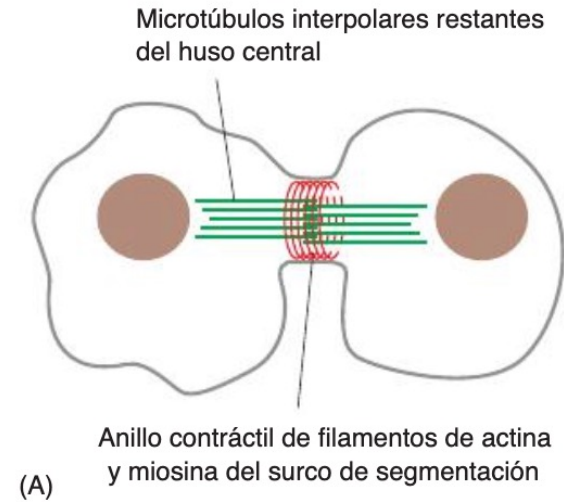
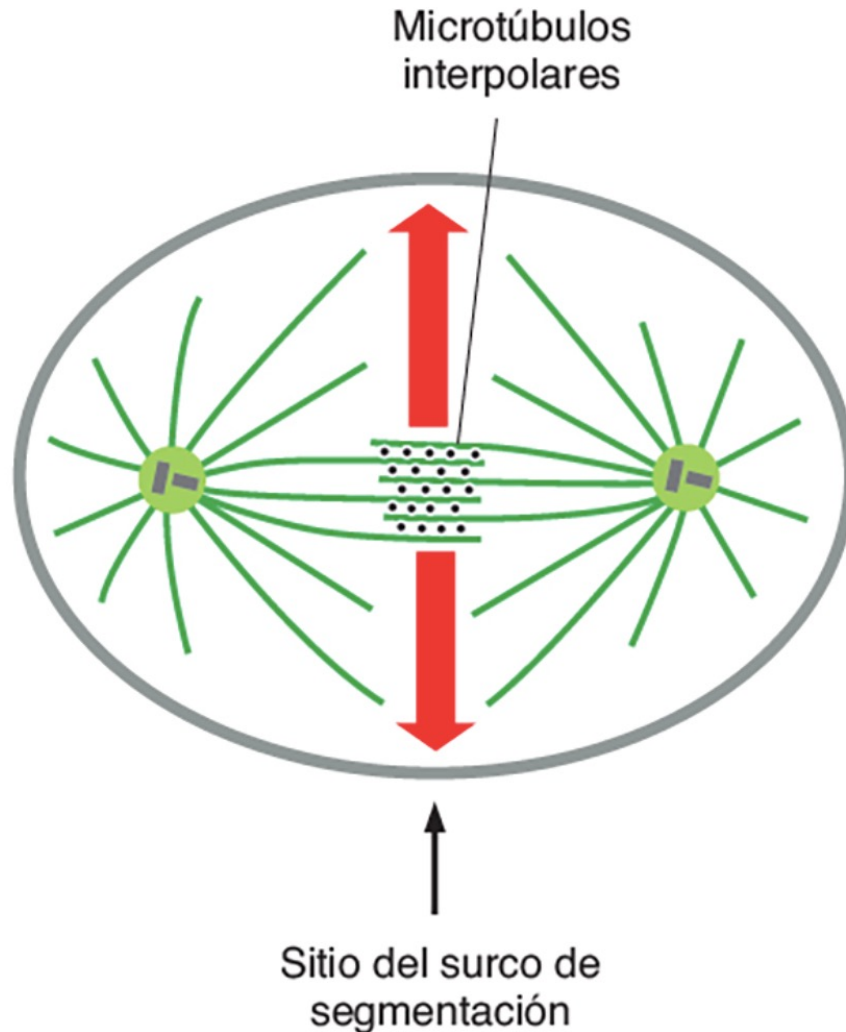


Los microtúbulos son cruciales en la división celular



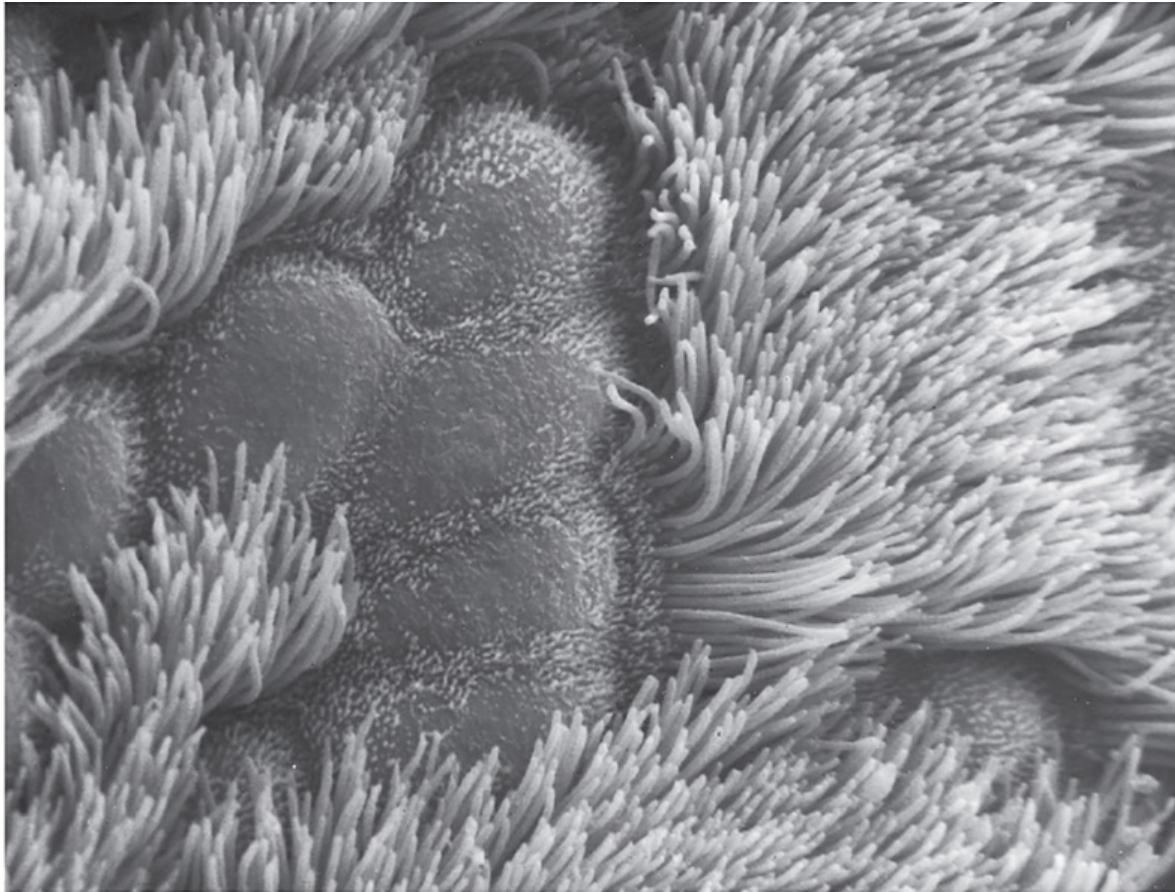
Los microtúbulos son cruciales en la división celular

El huso central impone la posición del surco de segmentación: microtúbulos interpolares y proteína RhoA

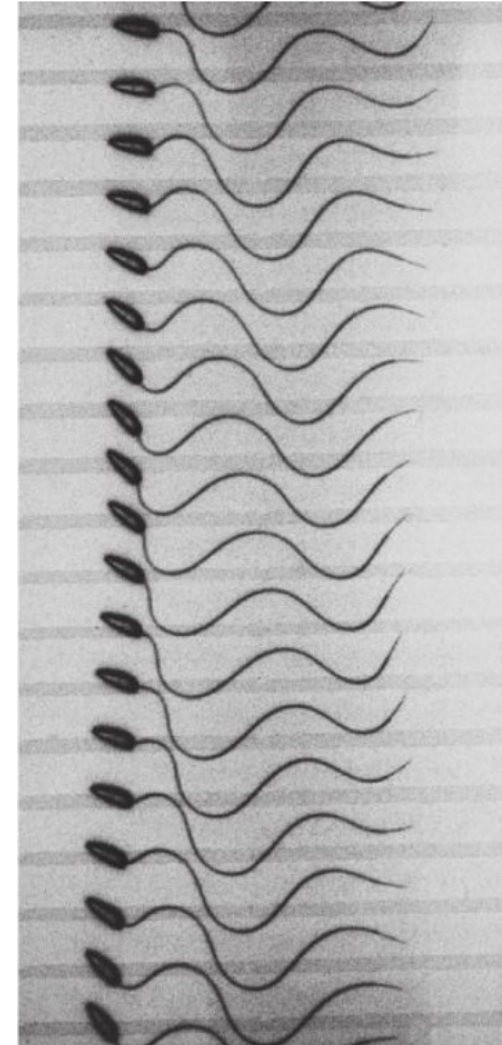


Los microtúbulos forman los cilios y flagelos

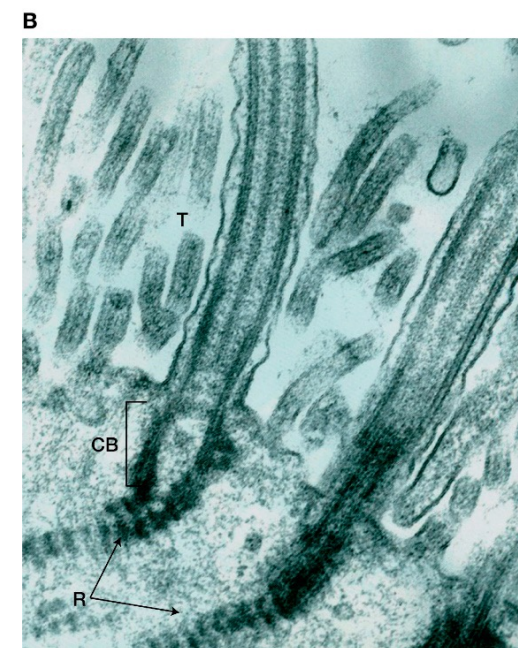
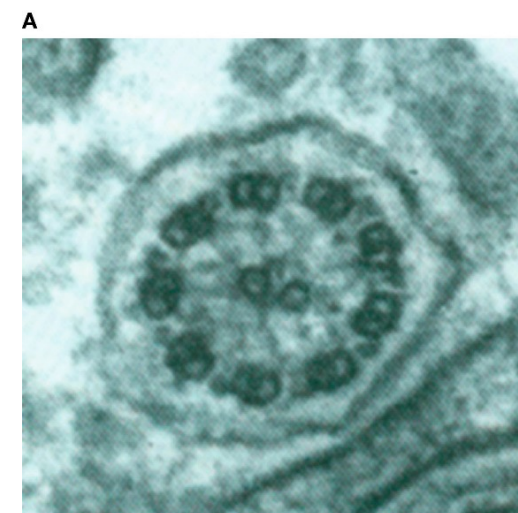
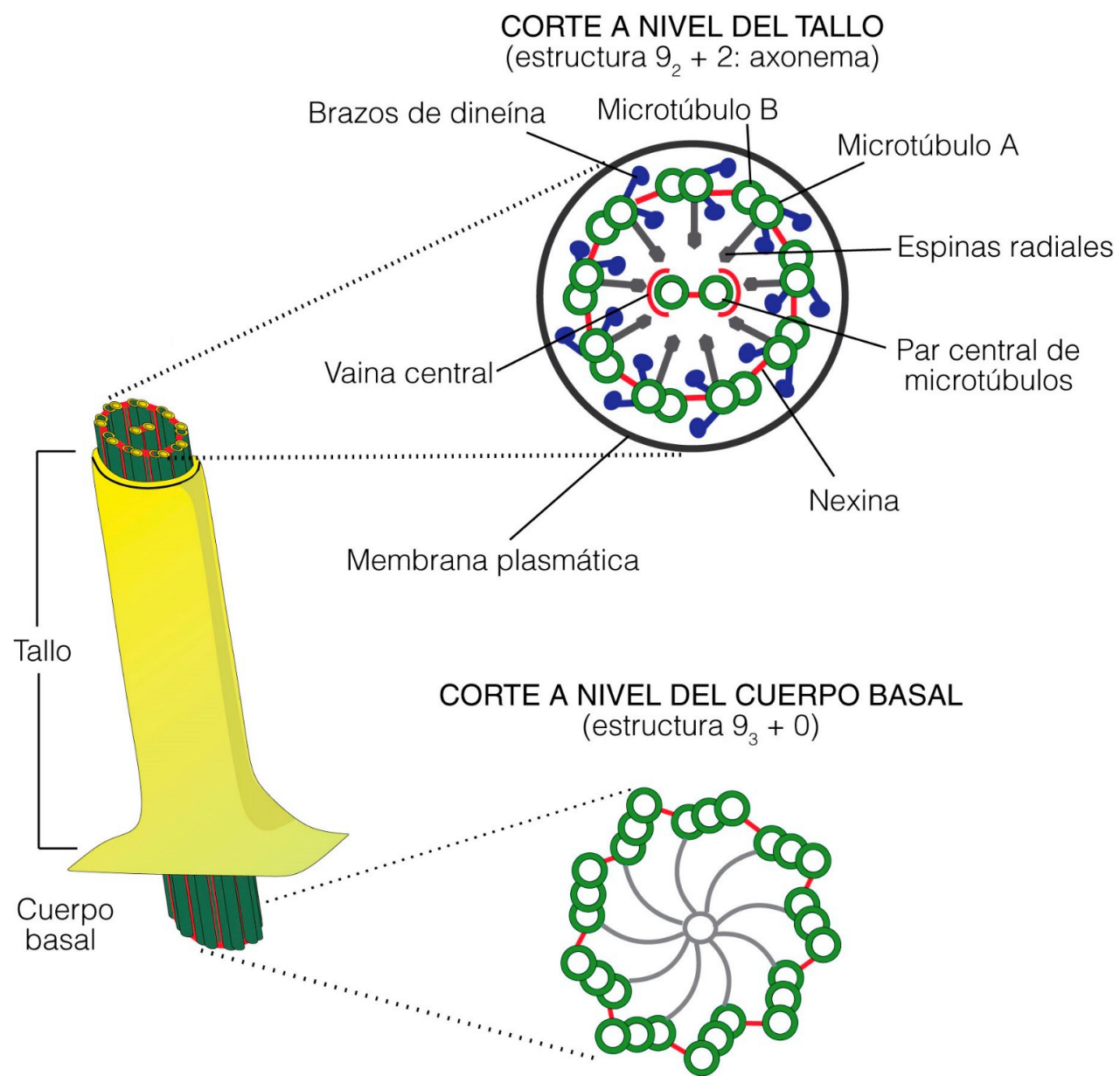
Los cilios y los flagelos contienen microtúbulos estables movidos por DINEÍNA



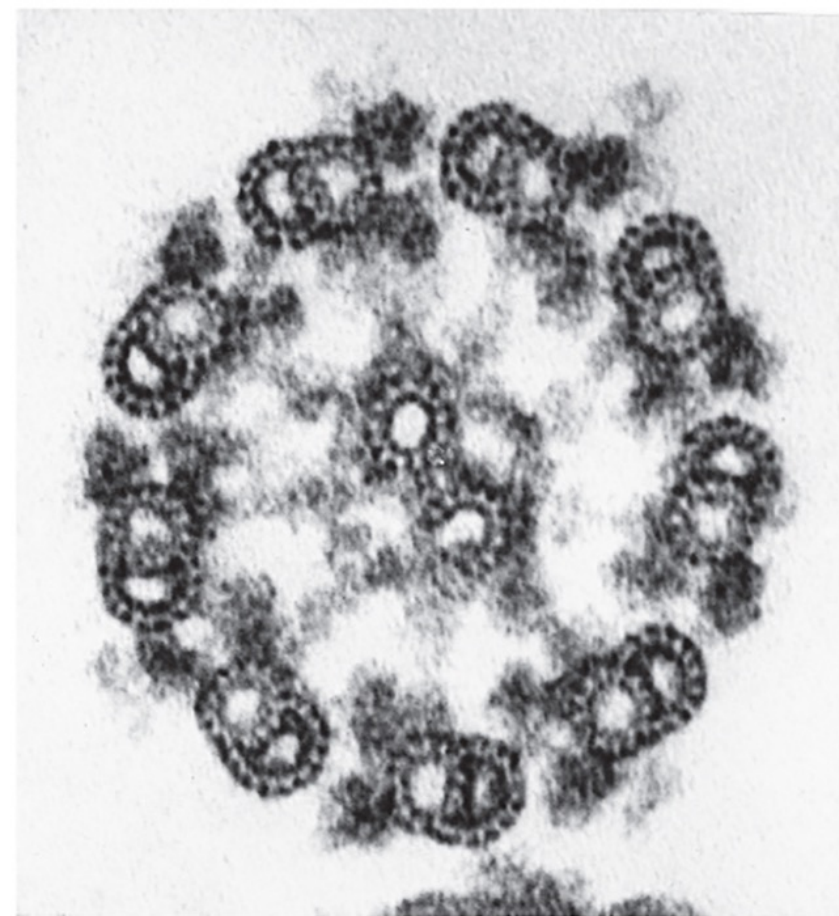
5 μm



Los microtúbulos forman los cilios y flagelos

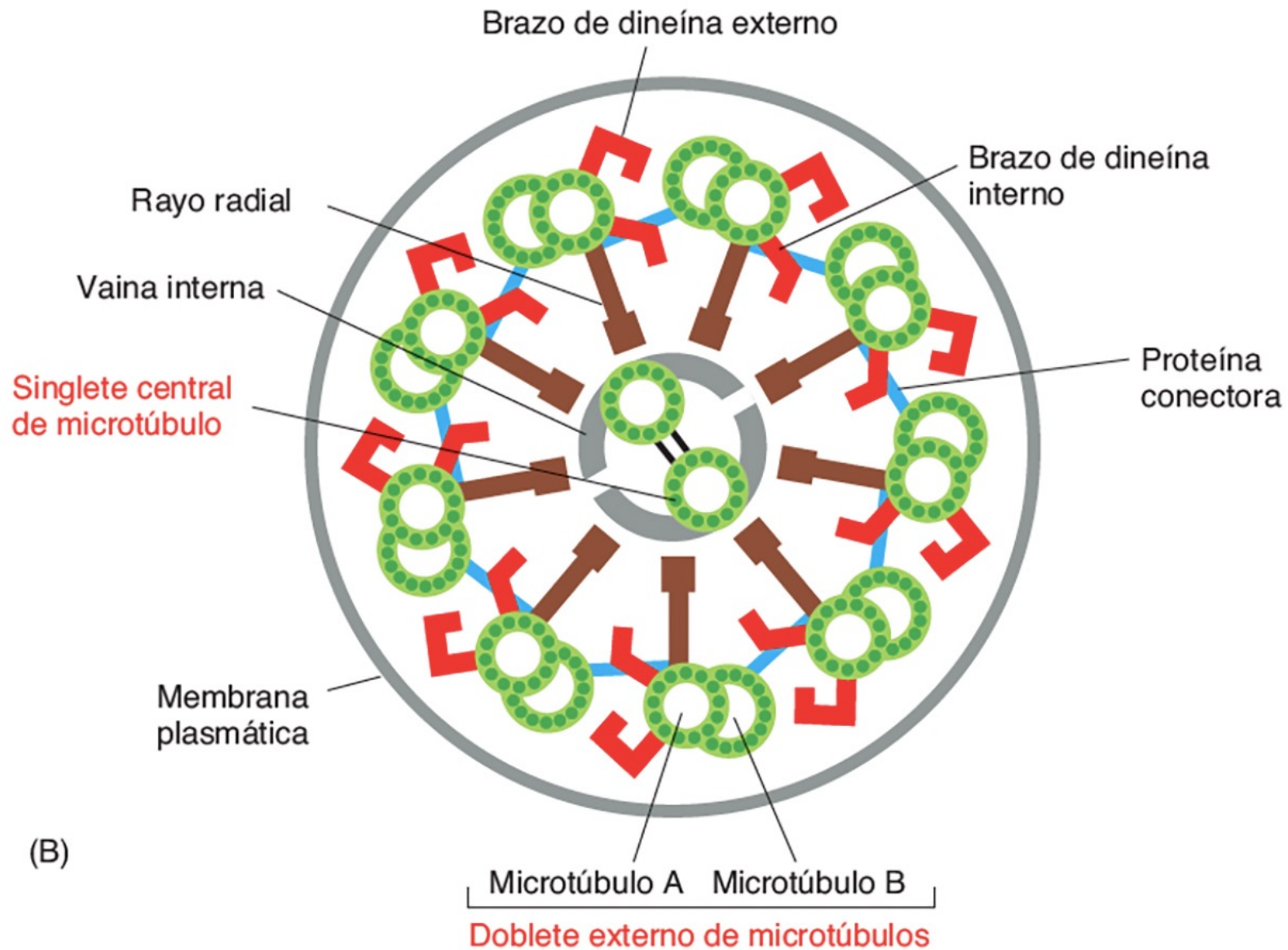


Los microtúbulos forman los cilios y flagelos



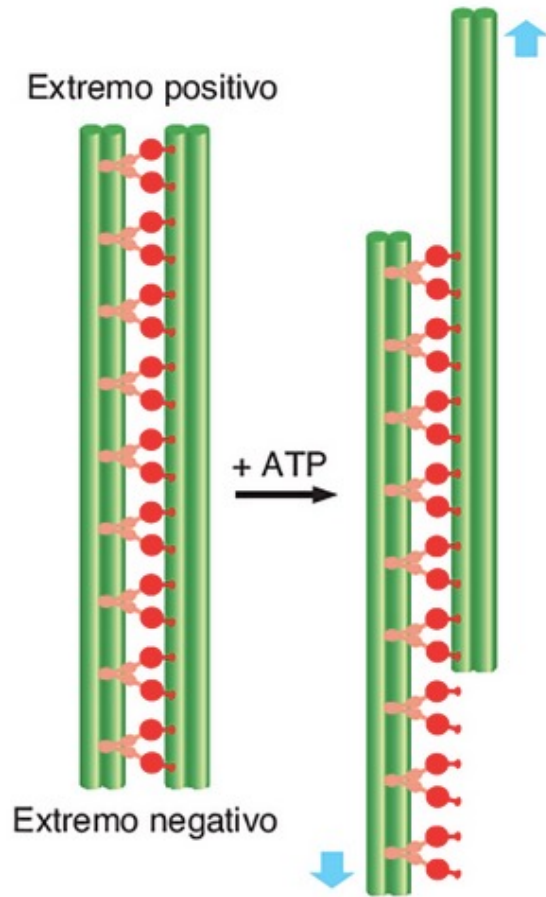
(A)

100 nm

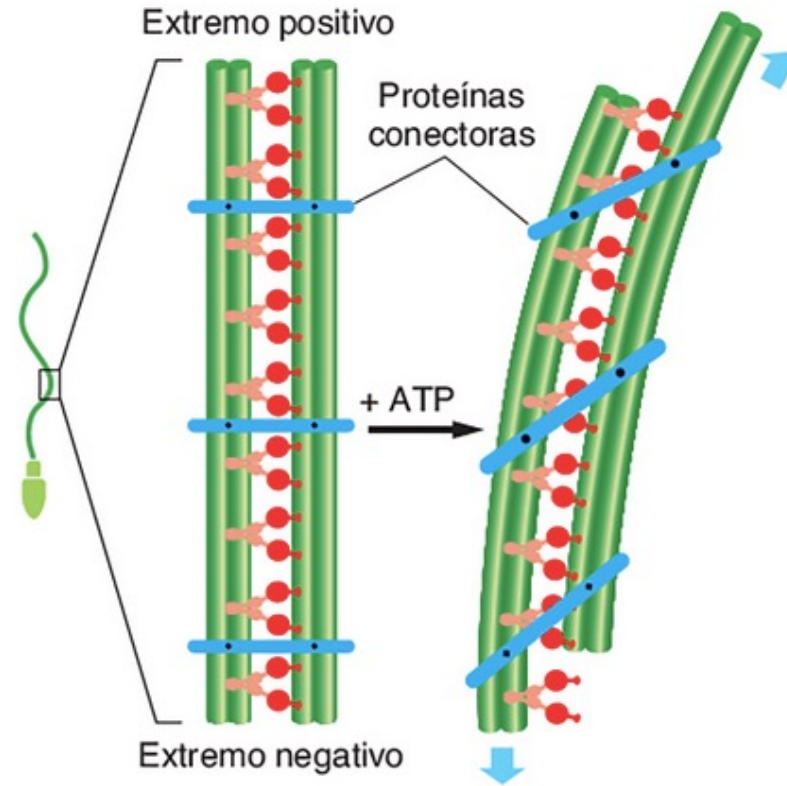


(B)

Los microtúbulos forman los cilios y flagelos



(A) EN UN DOBLETE DE MICROTÚBULOS AISLADO, LA DINEÍNA PRODUCE DESLIZAMIENTO DE LOS MICROTÚBULOS

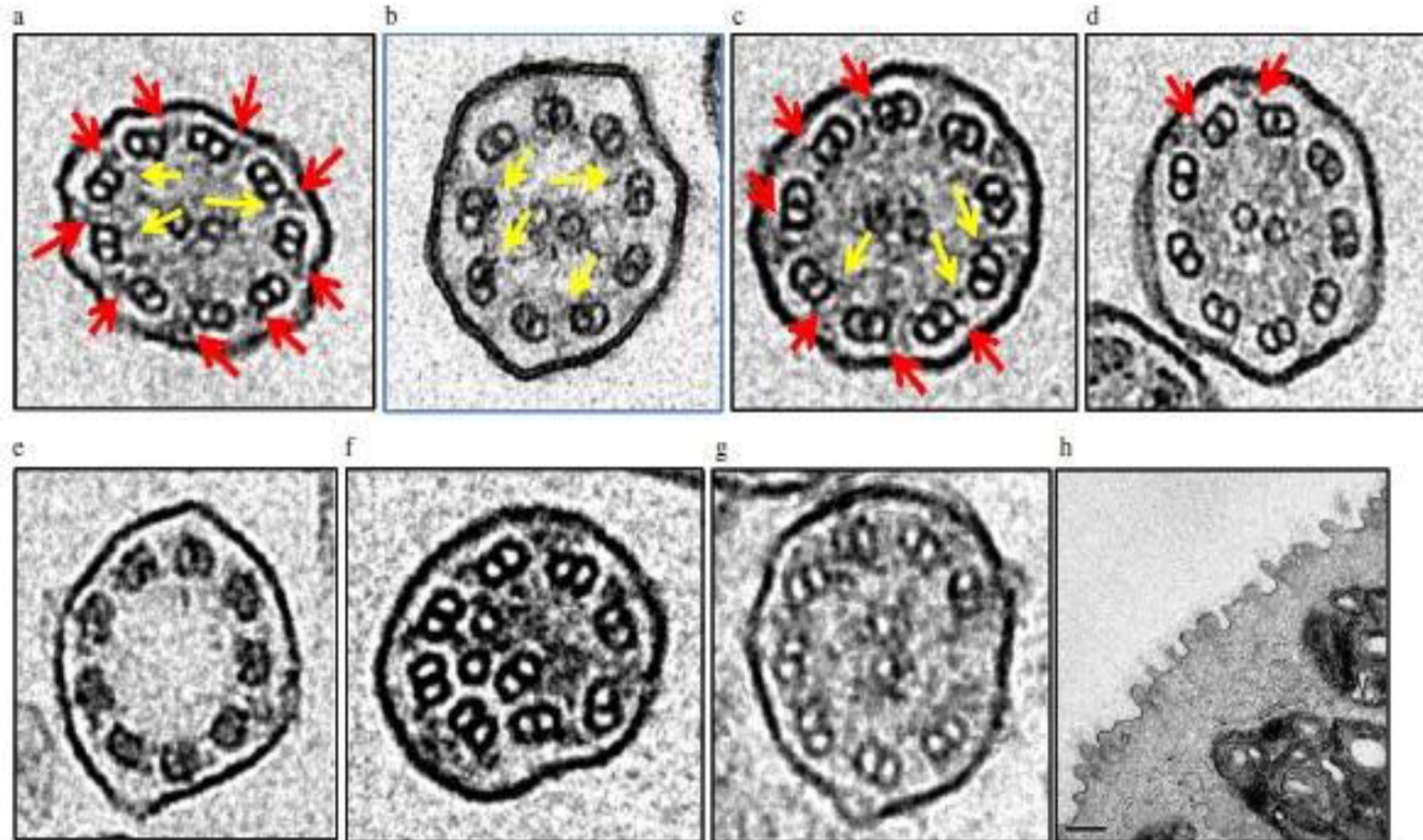


(B) EN UN FLAGELO NORMAL, LA DINEÍNA CAUSA INCURVACIÓN DE LOS MICROTÚBULOS

Los microtúbulos forman los cilios y flagelos

La **disquinesia ciliar primaria** es una rara enfermedad autosómica recesiva, caracterizada por anomalías en la estructura y función ciliar, con **infecciones recidivantes de pulmón, senos y oído medio**

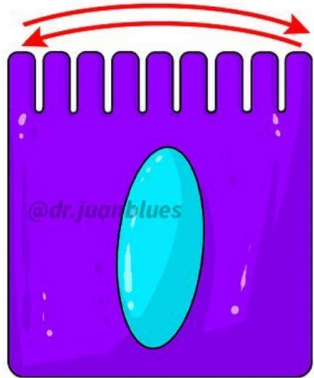
→ ODA
→ IDA



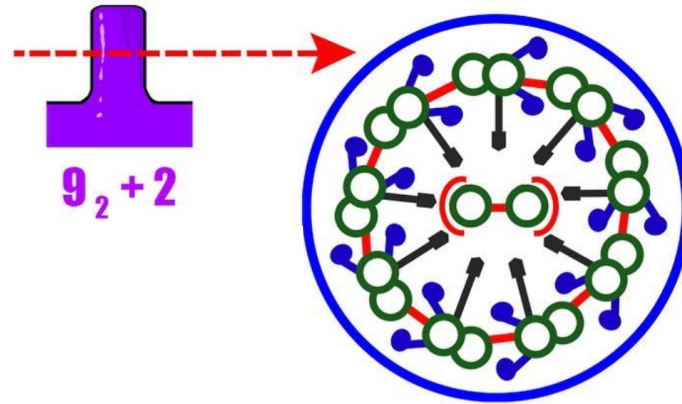
Los microtúbulos forman los cilios y flagelos

TIPOS DE CILIOS

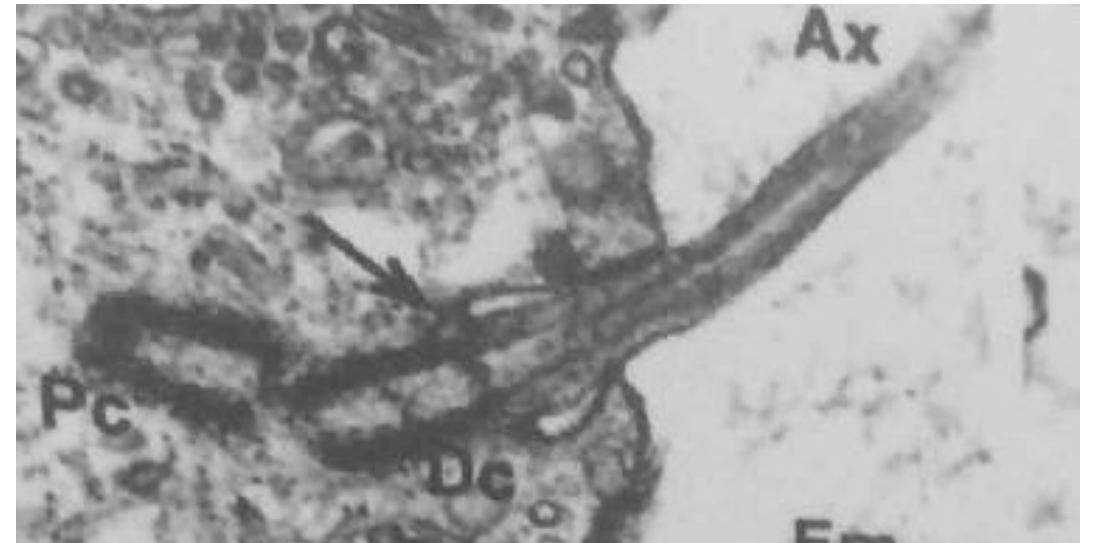
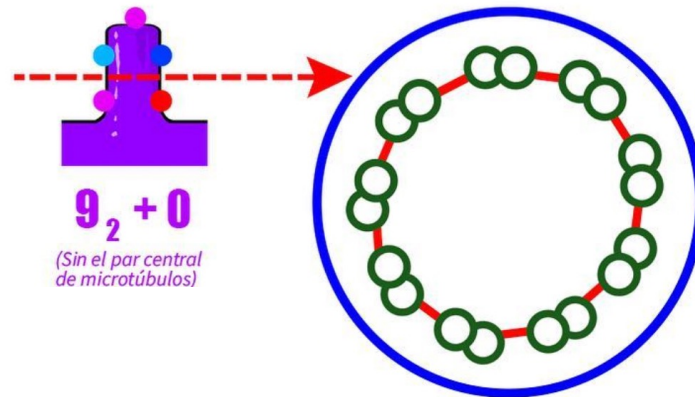
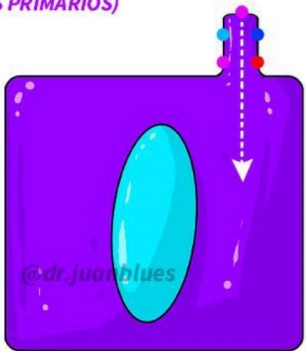
CILIOS MÓVILES



ESTRUCTURA INTERNA DEL AXONEMA (TALLO)



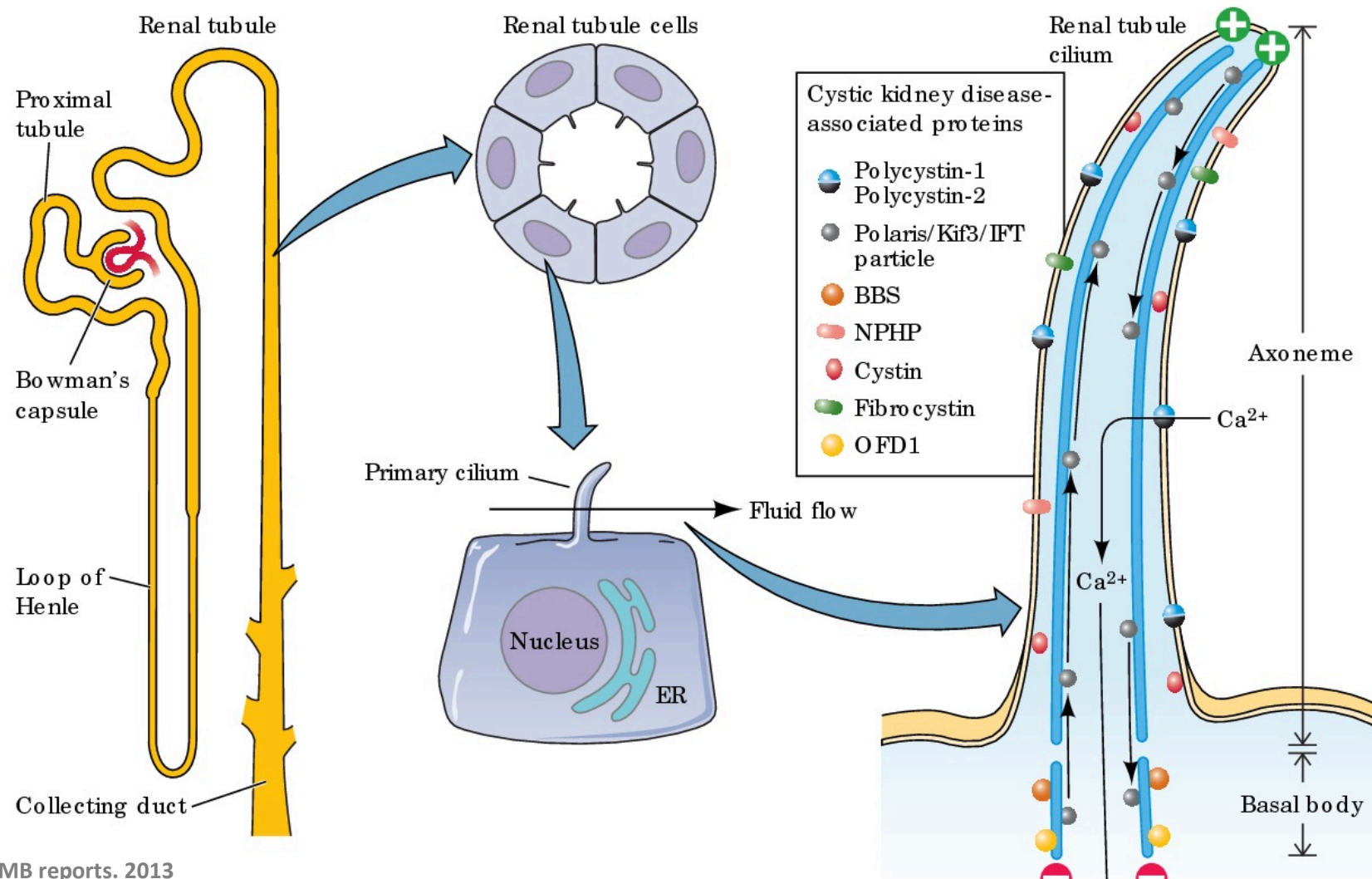
CILIOS INMÓVILES (ó CILIOS PRIMARIOS)



El cilio primario está especializado en el control de las respuestas sensoriales de la célula

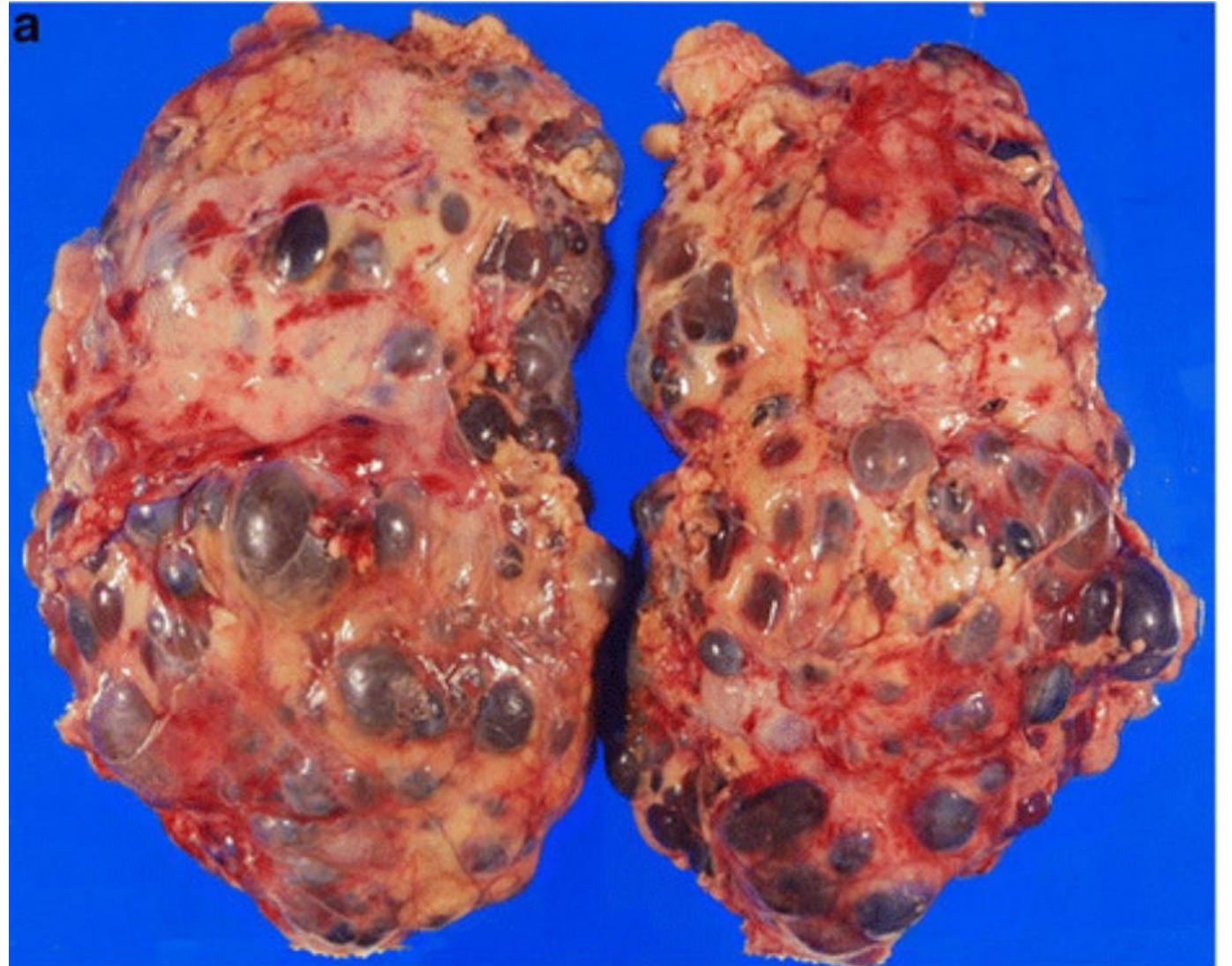
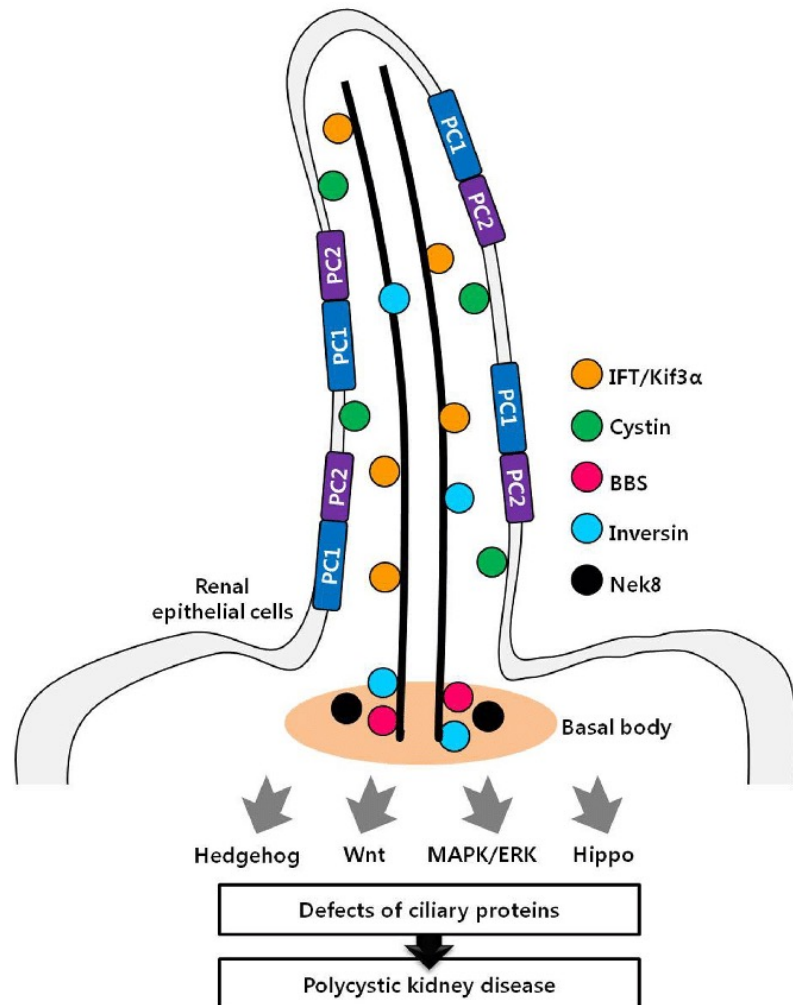
Los microtúbulos forman los cilios y flagelos

En el riñón, los cilios primarios están situados en la parte apical de las células epiteliales de los túbulos renales

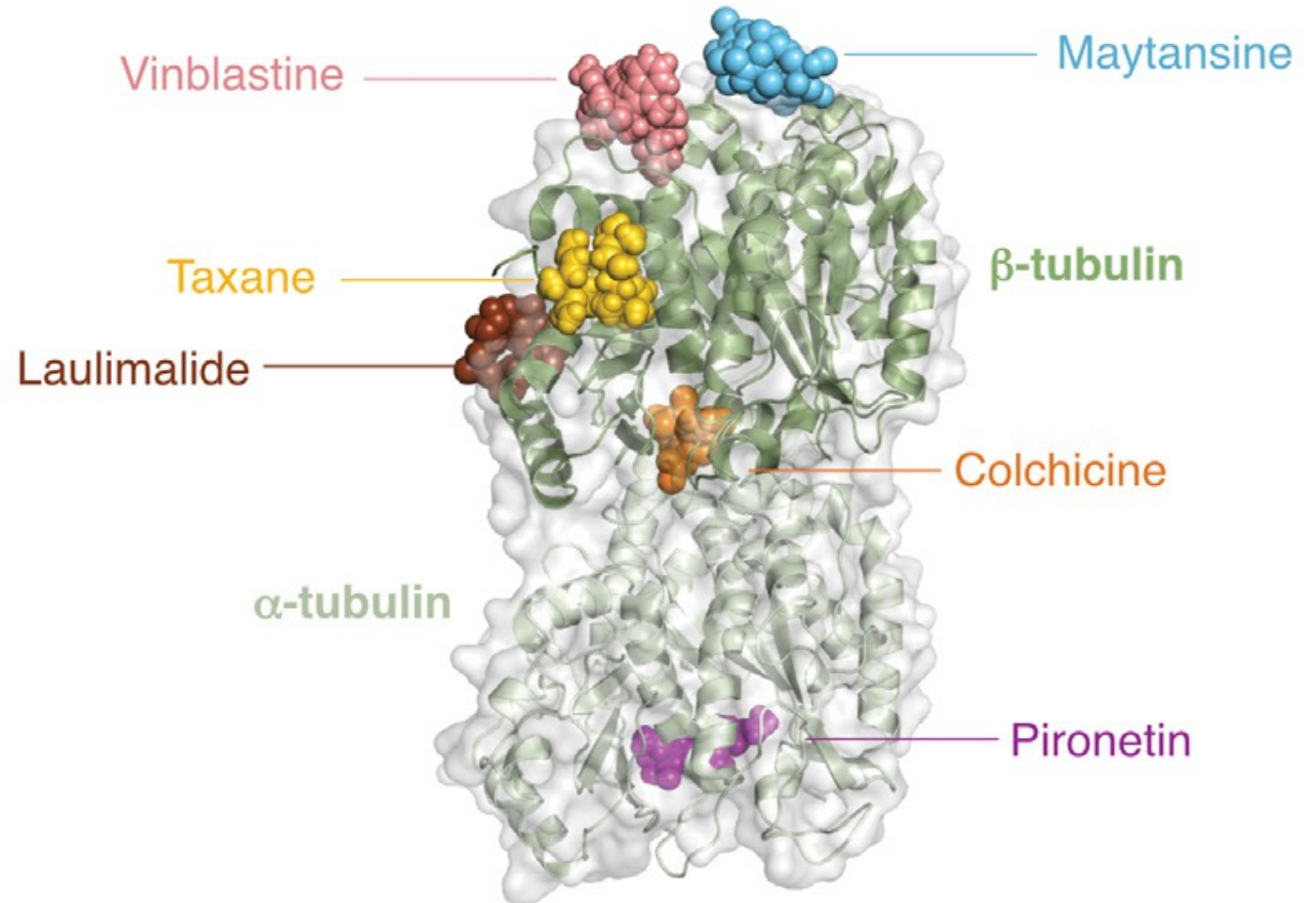
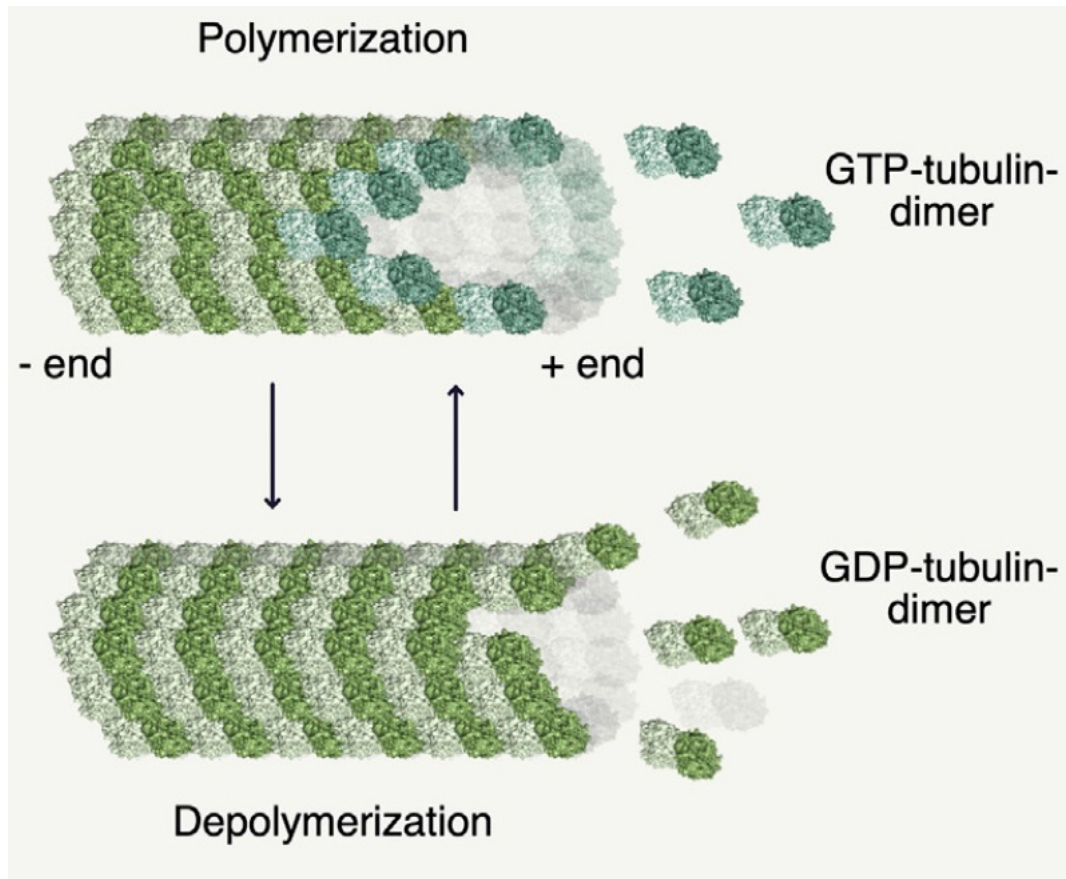


Los microtúbulos forman los cilios y flagelos

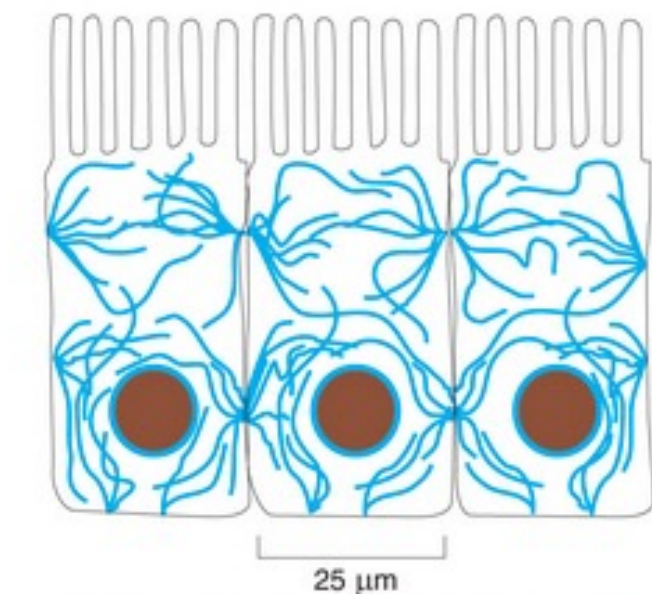
La alteración de los cilios primarios renales se asocia con enfermedades como el riñón poliquístico



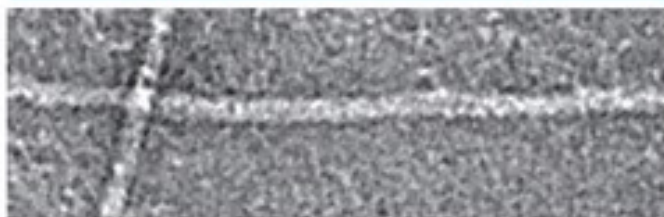
Fármacos que modifican la estabilidad de los microtúbulos



Red de filamentos proteicos que se extiende por todo el citoplasma

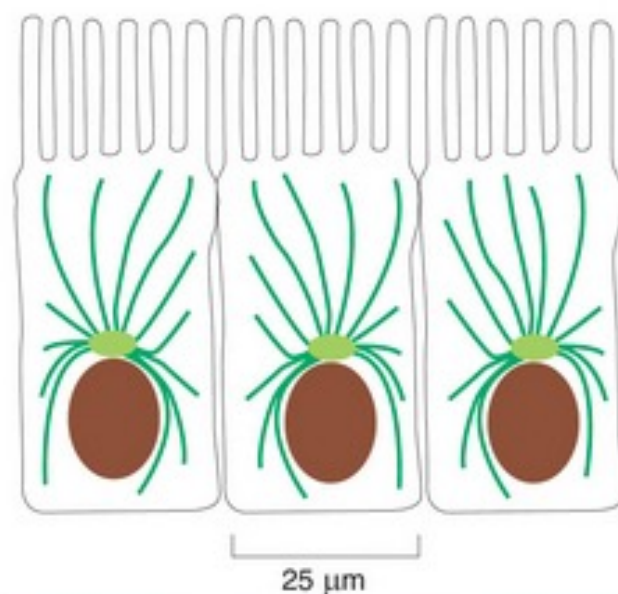


FILAMENTOS INTERMEDIOS



25 nm

10 nm de diámetro

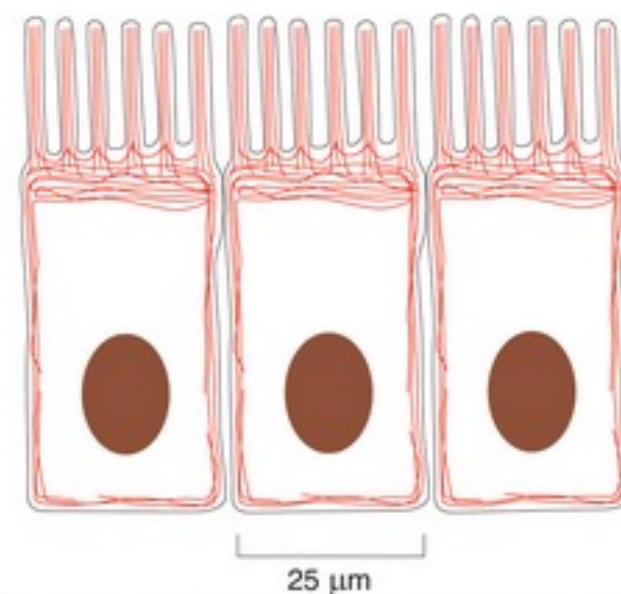


MICROTÚBULOS

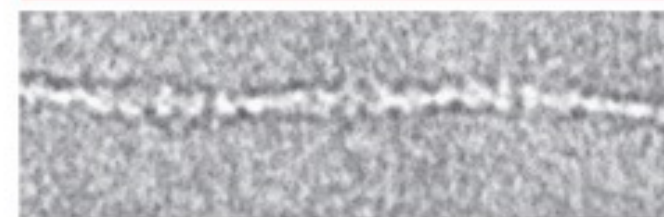


25 nm

25 nm de diámetro



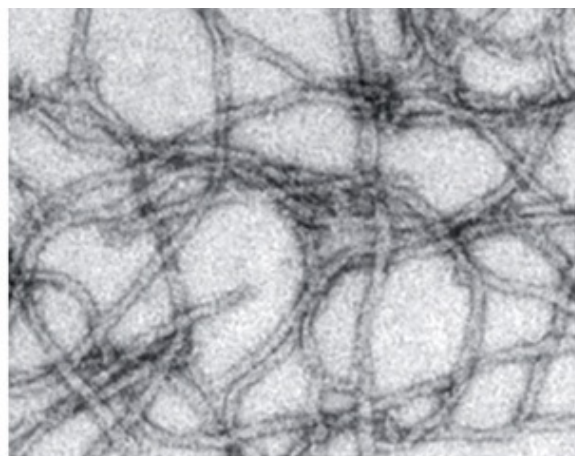
FILAMENTOS DE ACTINA



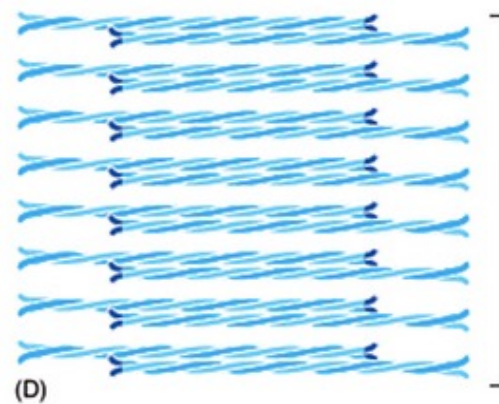
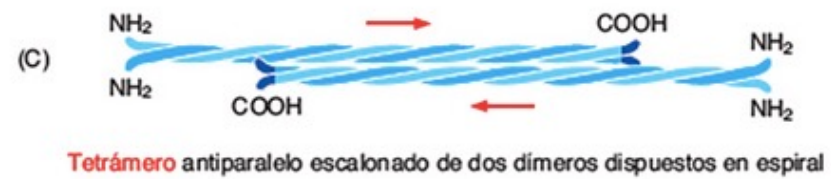
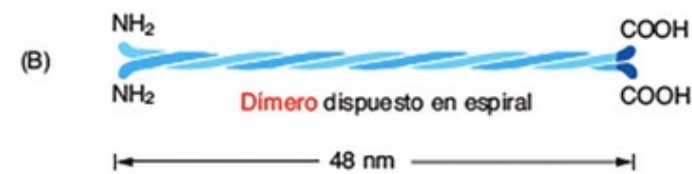
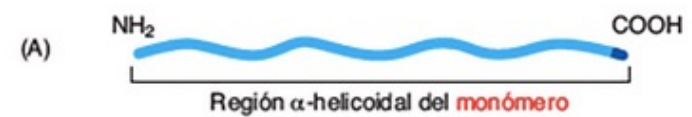
25 nm

7 nm de diámetro

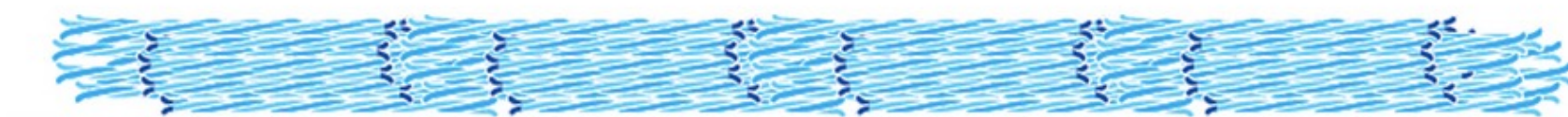
Filamentos intermedios



0,1 μm

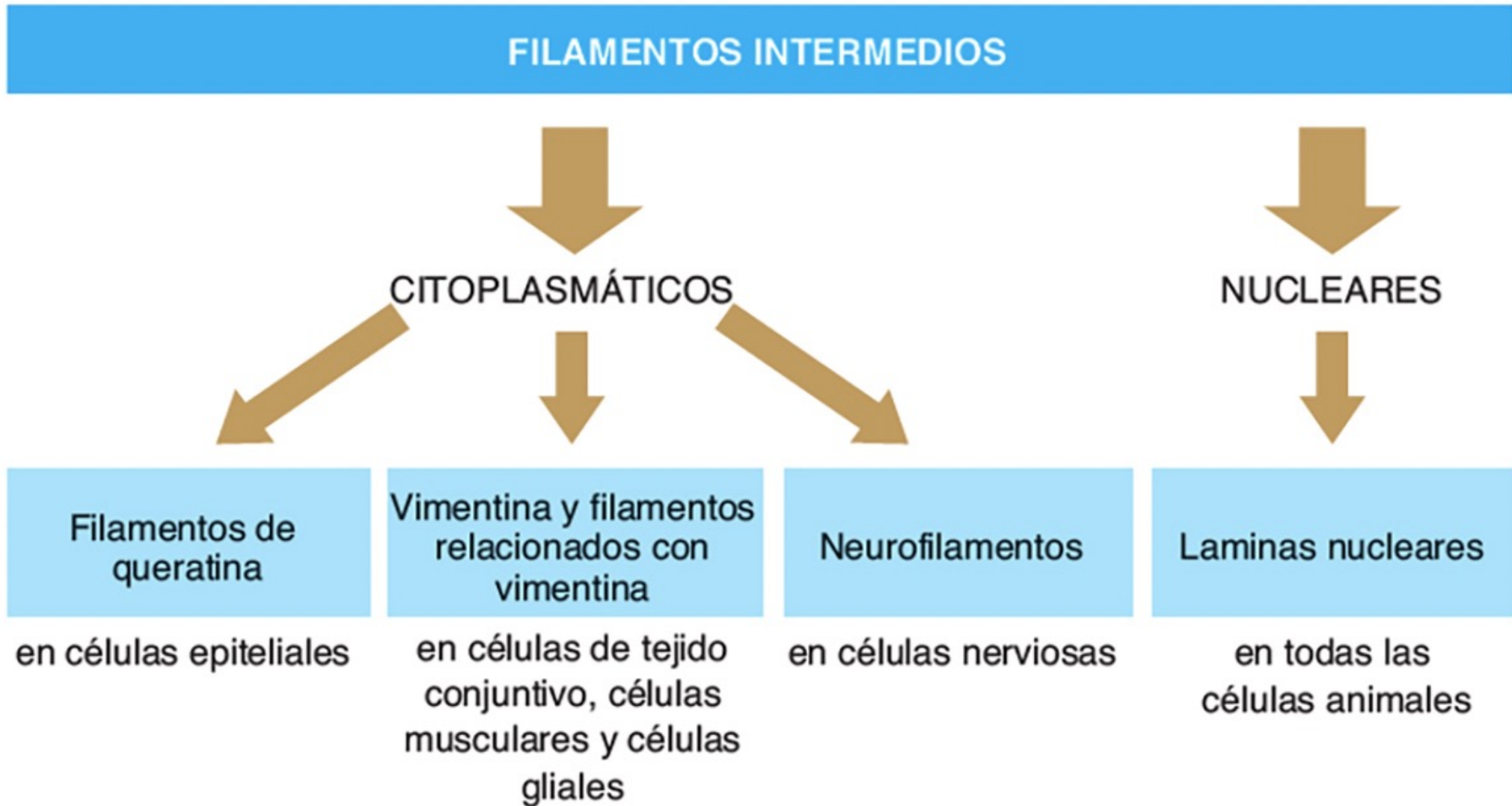


Protofilamento

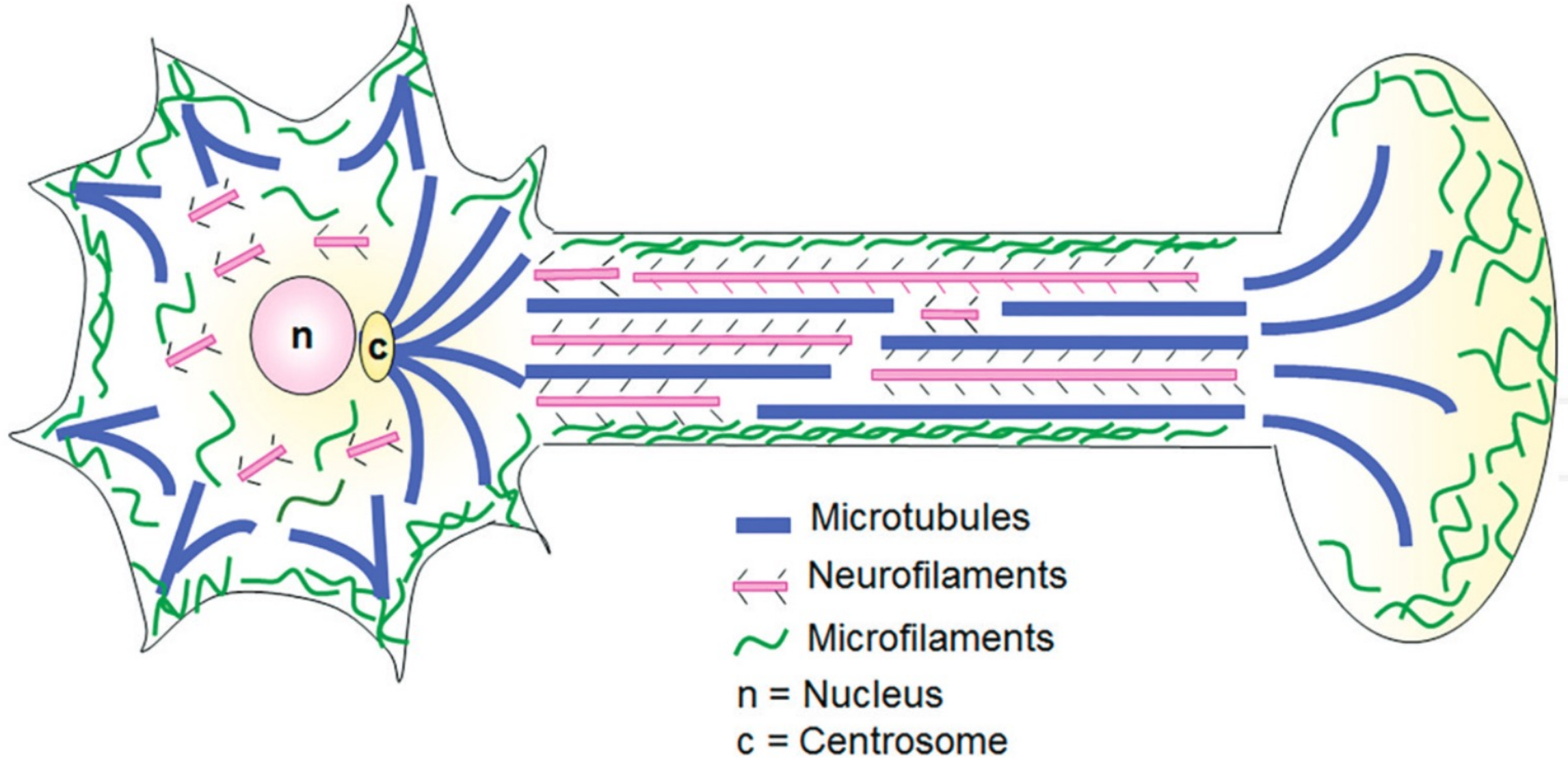


Adición de 8 tetrámeros al **filamento** en crecimiento

Filamentos intermedios

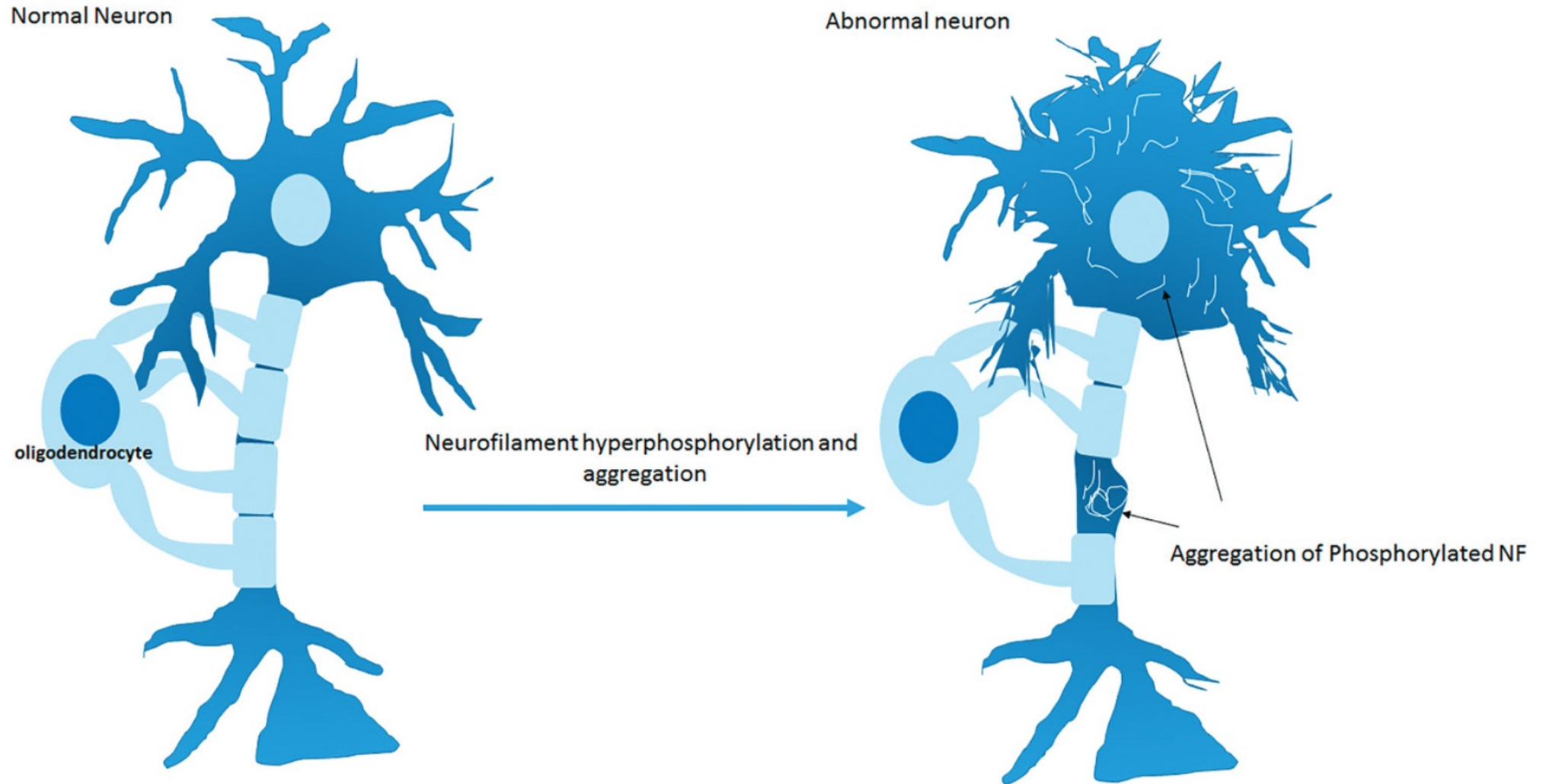


Filamentos intermedios



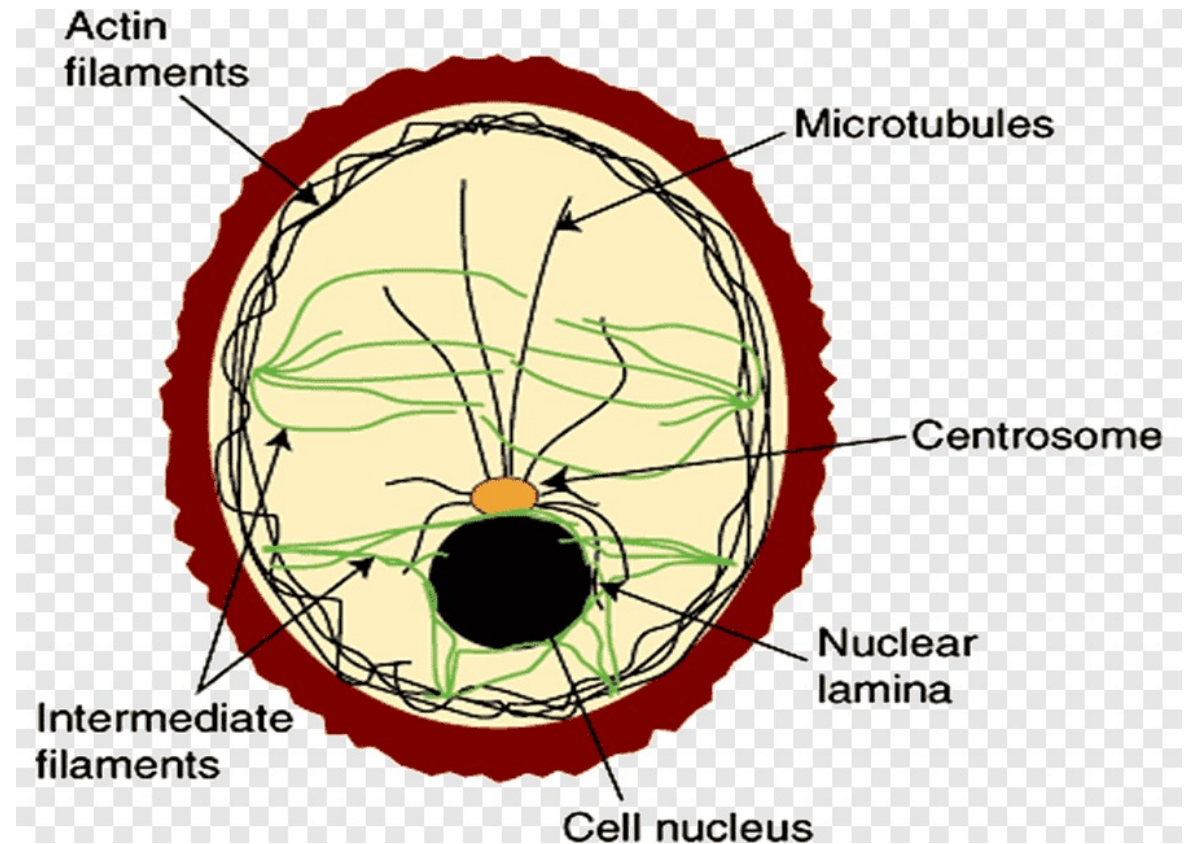
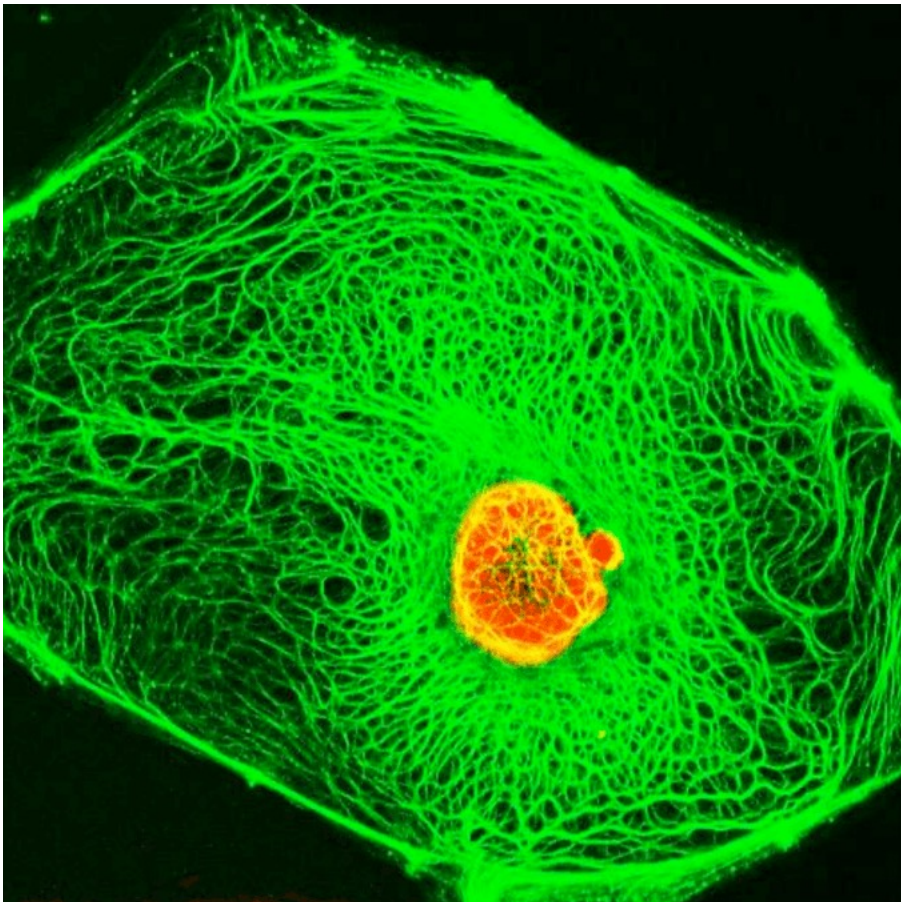
Filamentos intermedios

La alteración de los neurofilamentos se puede asociar con fenómenos neurodegenerativos

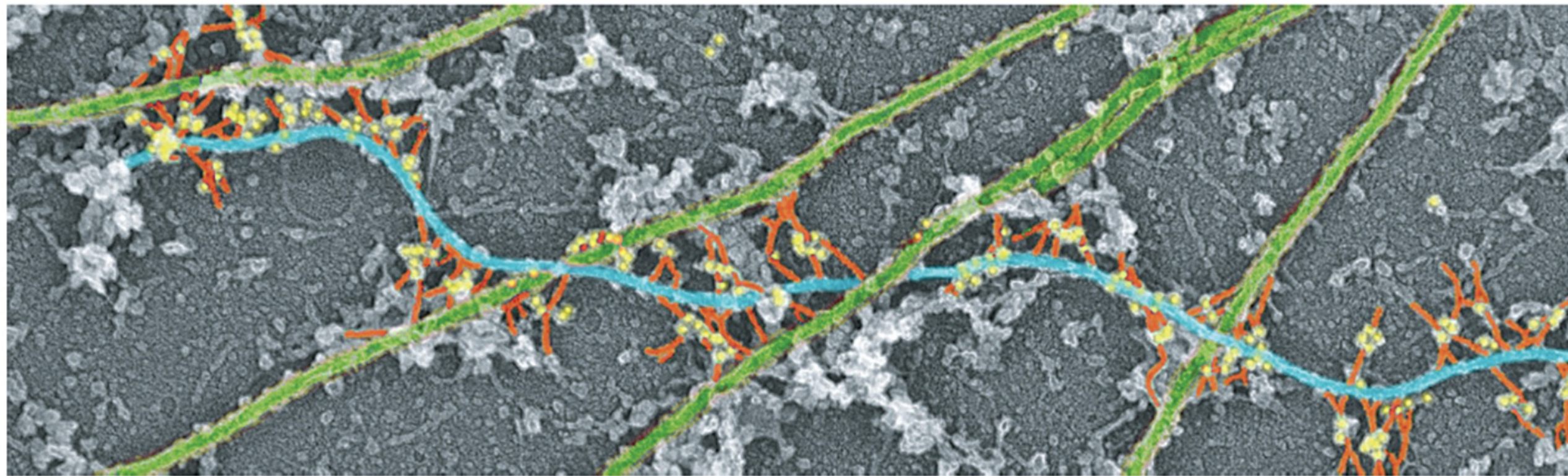


Filamentos intermedios

Los filamentos intermedios son cruciales para que las células puedan mantener su estructura y resistir el estrés mecánico al que están sometidas



Filamentos intermedios

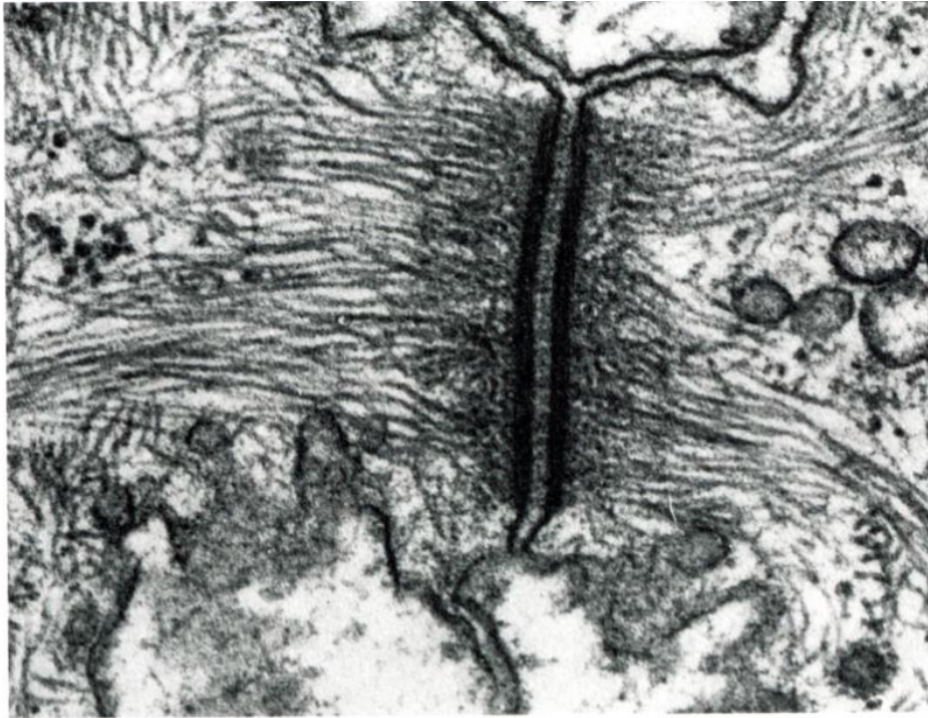


Plectina; Filamento intermedio; Microtúbulos

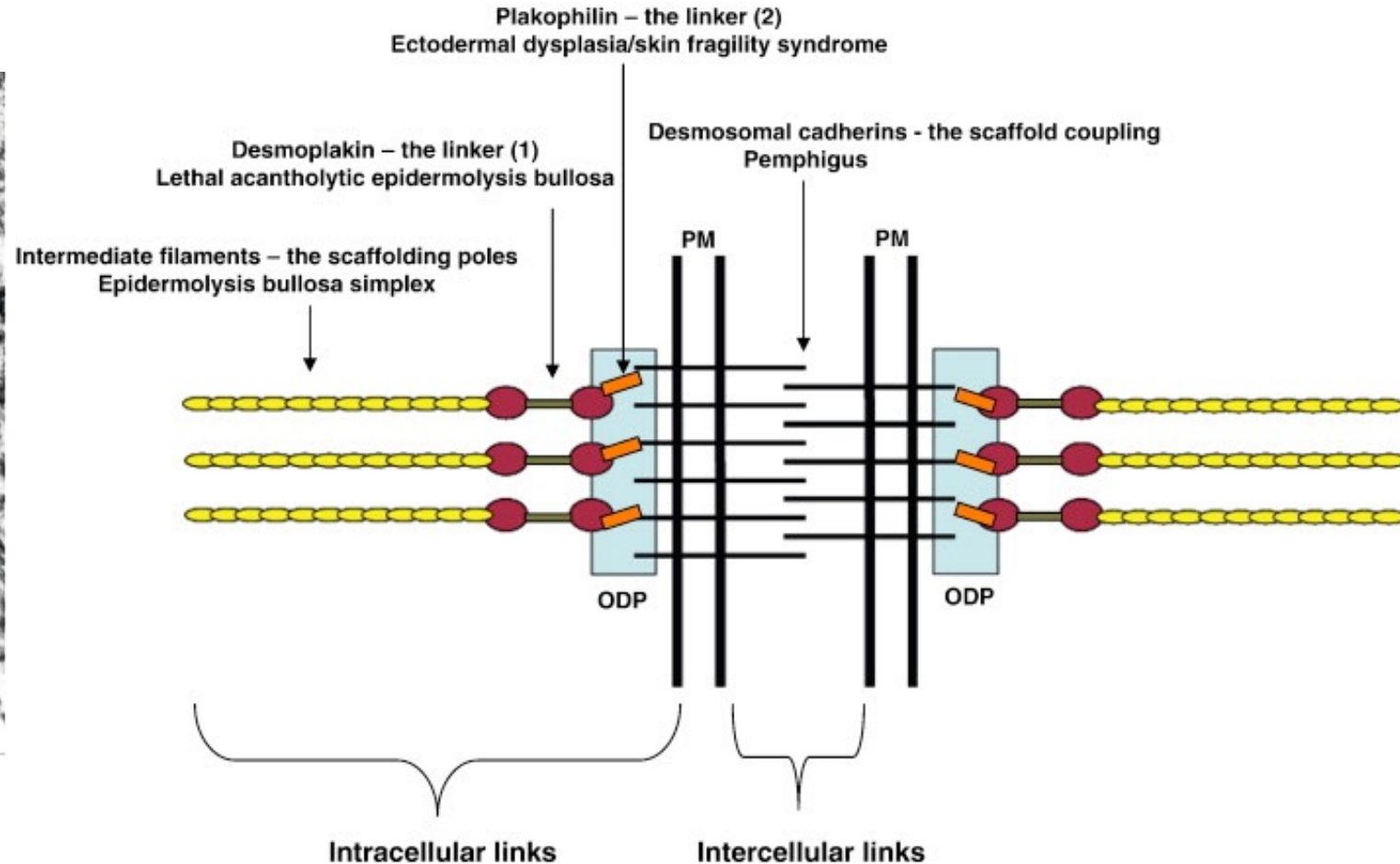
0,5 μm

Filamentos intermedios

Los filamentos intermedios son cruciales para que las células puedan **mantener su estructura y resistir el estrés mecánico al que están sometidas**

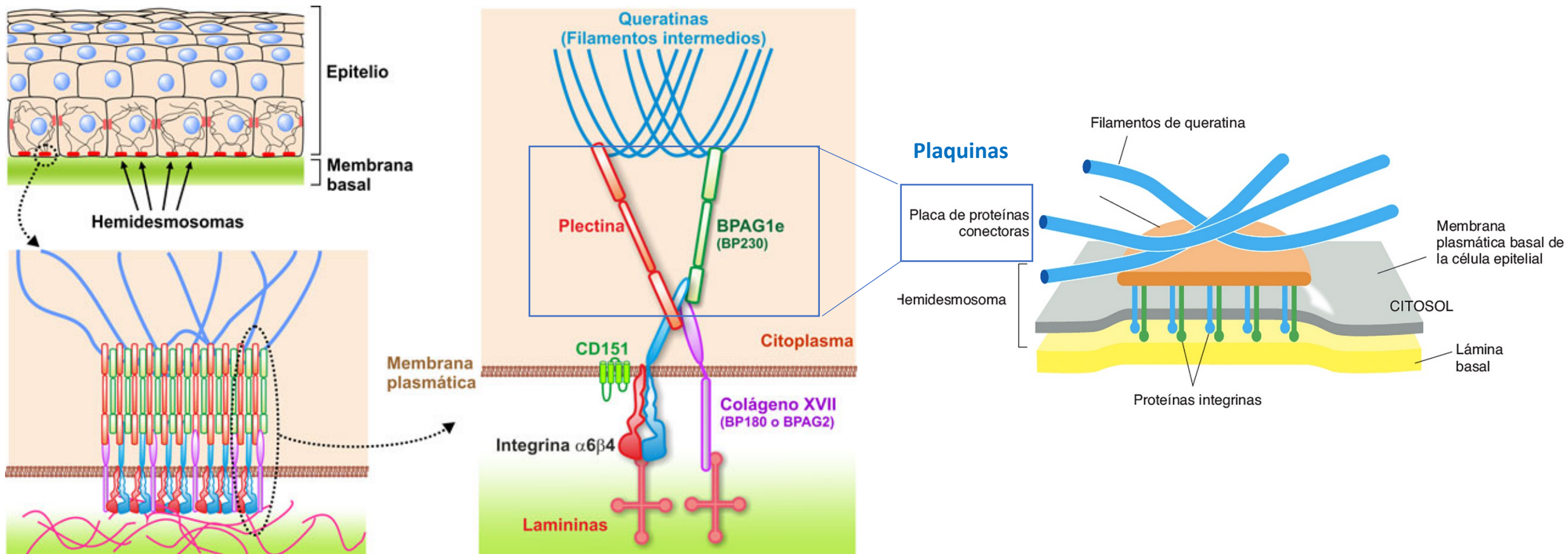


(a)



Filamentos intermedios

Los filamentos intermedios son cruciales para que las células puedan **mantener su estructura y resistir el estrés mecánico** al que están sometidas



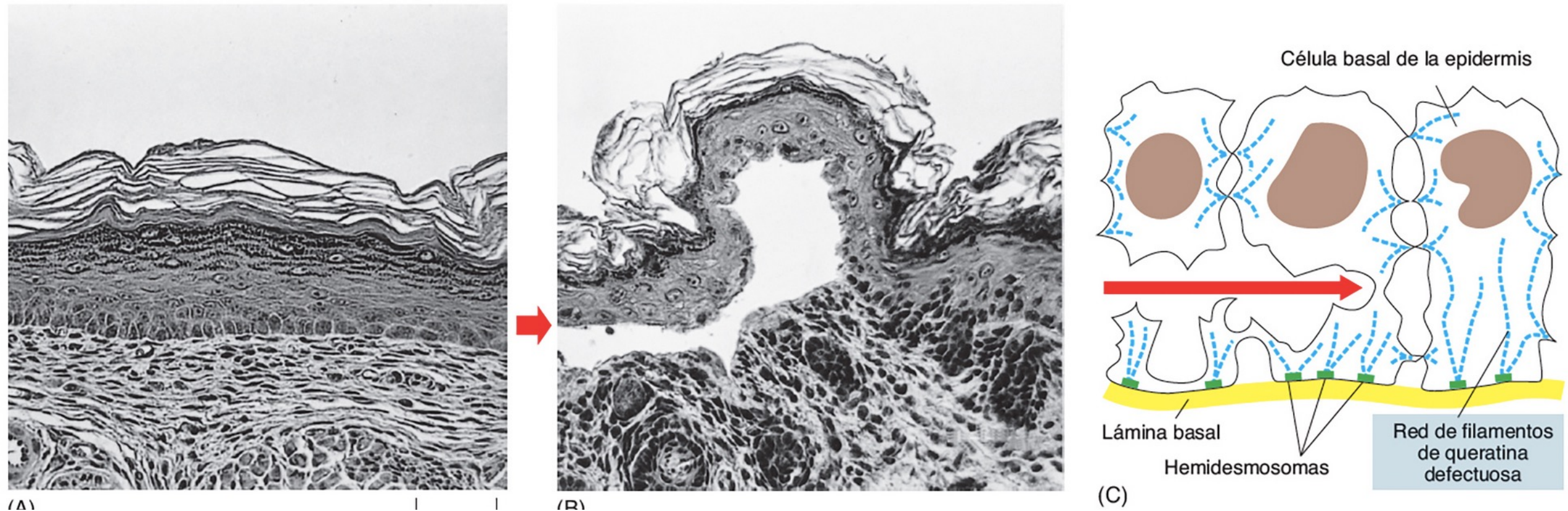
Filamentos intermedios

En la **epidermólisis bullosa** se produce una destrucción del estrato basal de la piel



Filamentos intermedios

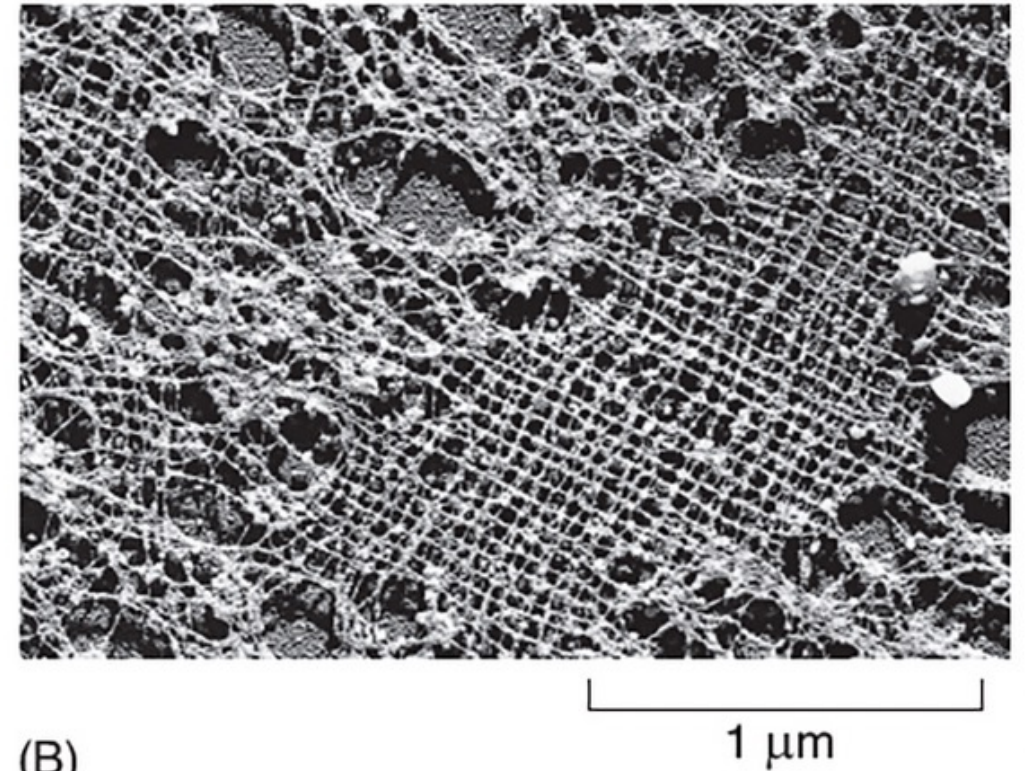
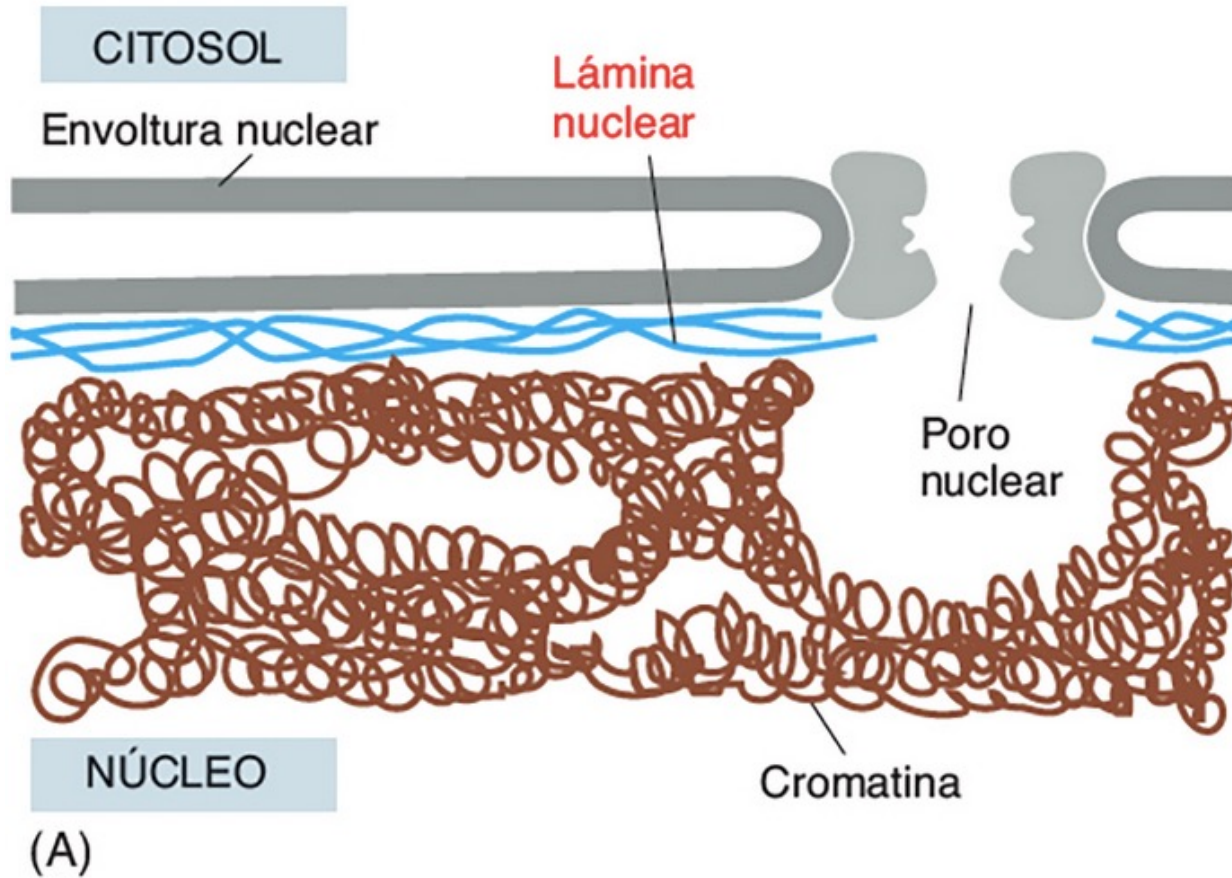
En la **epidermólisis bullosa** se produce una destrucción del estrato basal de la piel



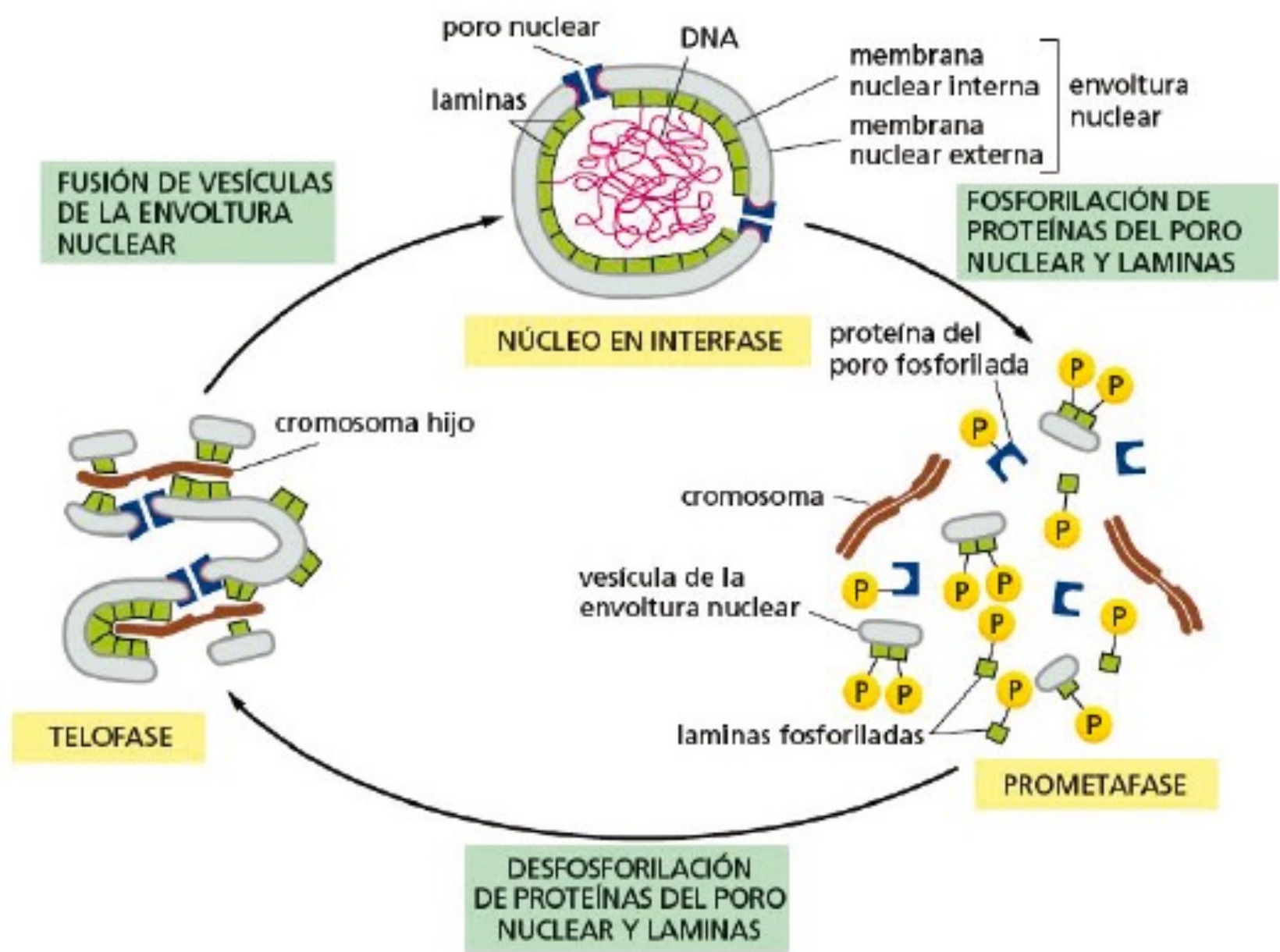
Las células de la epidermis no resisten la tensión mecánica a la que están sometidas, provocando roturas que dar lugar a ampollas.

Filamentos intermedios

La envoltura nuclear está sostenida por una malla de filamentos intermedios

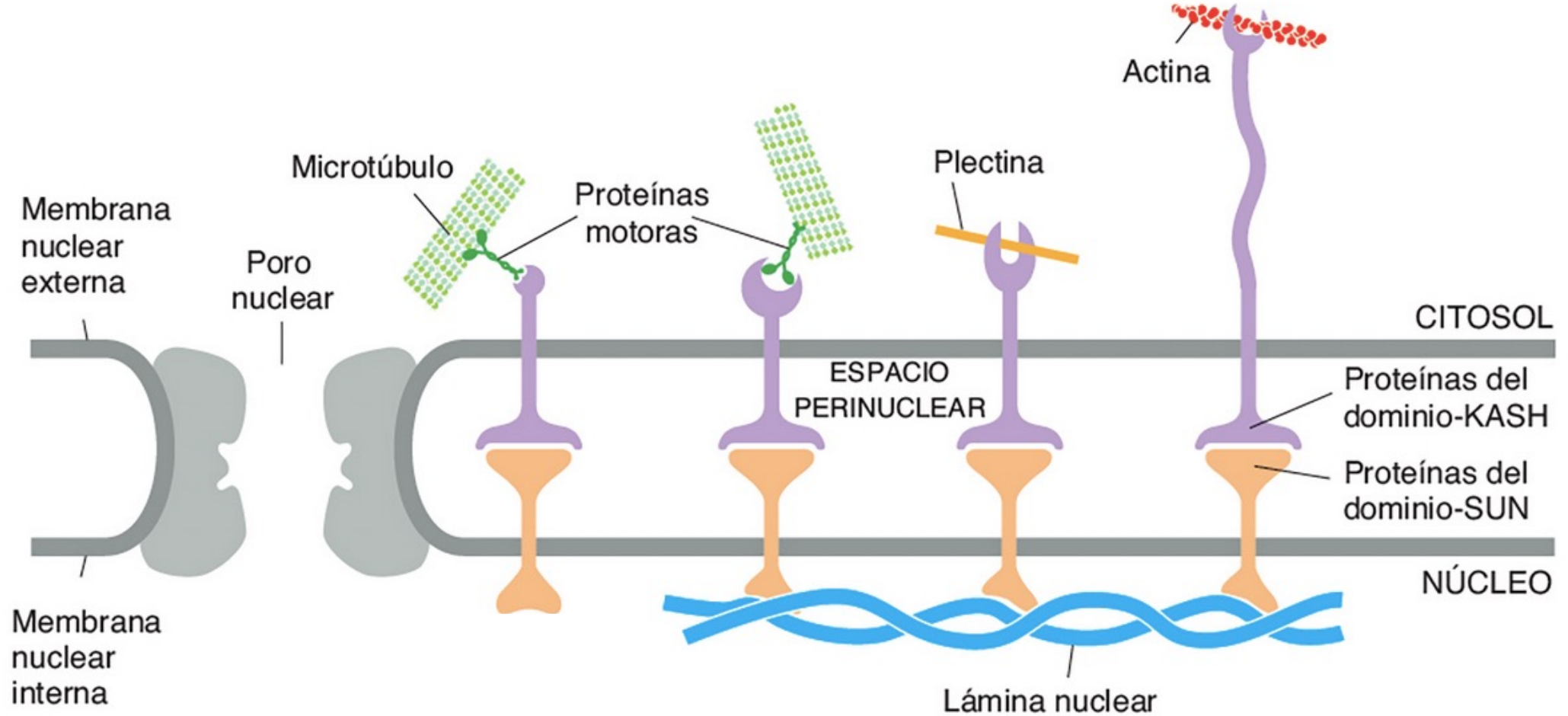


Filamentos intermedios

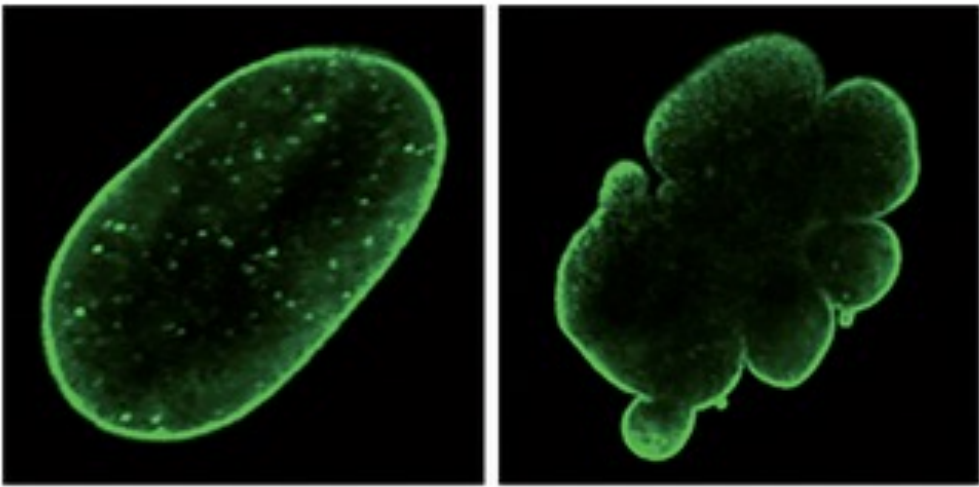


Filamentos intermedios

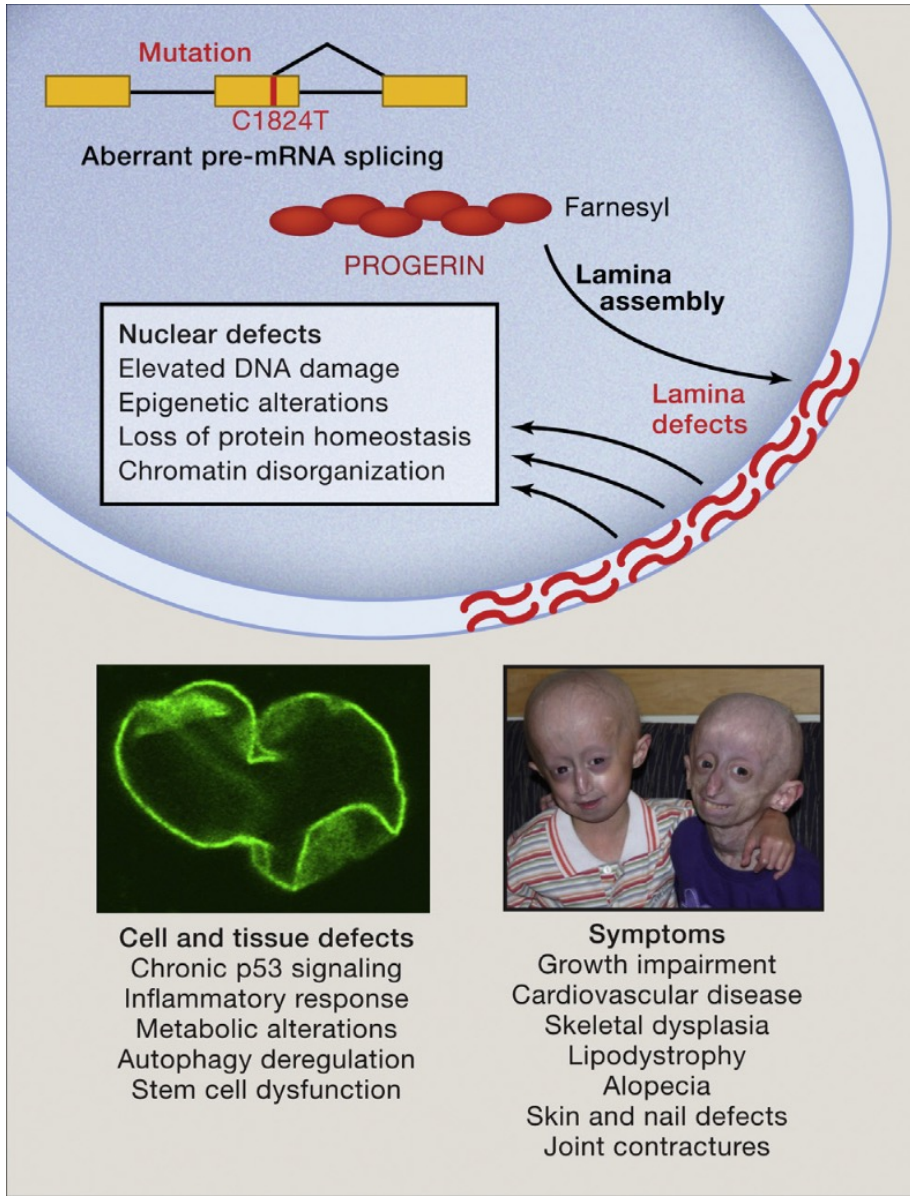
Existen proteínas conectoras que vinculan los filamentos citoesquéticos con la envoltura nuclear



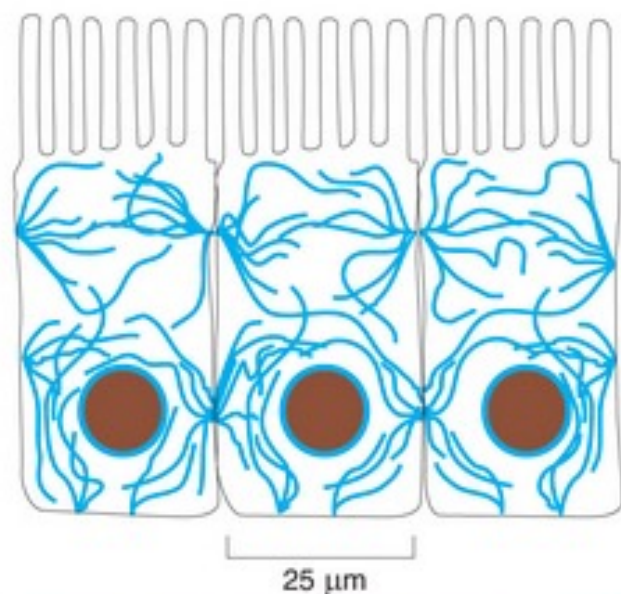
Filamentos intermedios



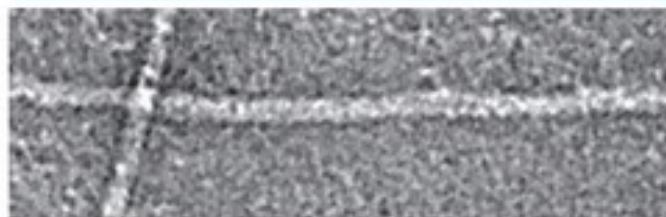
(C)



Red de filamentos proteicos que se extiende por todo el citoplasma

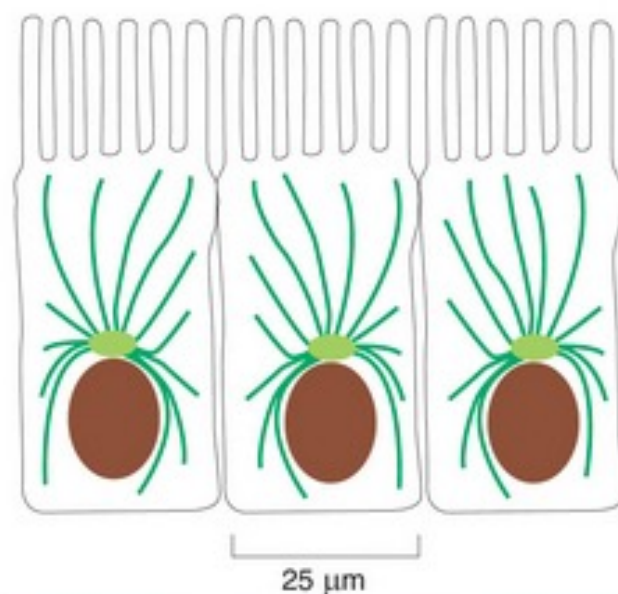


FILAMENTOS INTERMEDIOS



25 nm

10 nm de diámetro

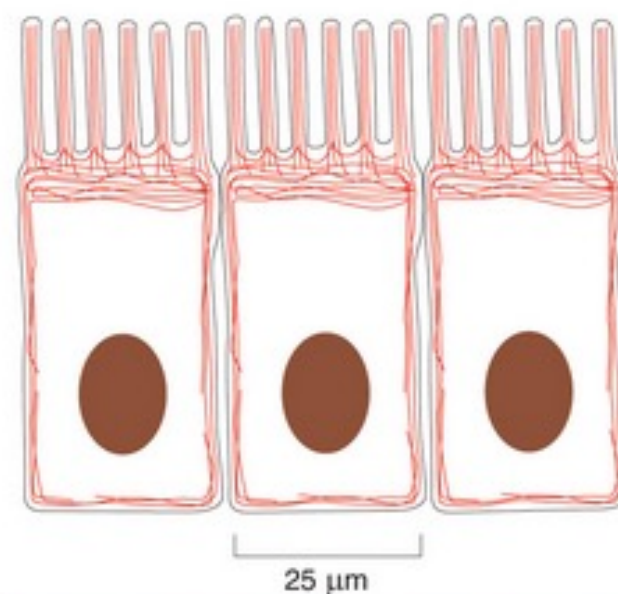


MICROTÚBULOS

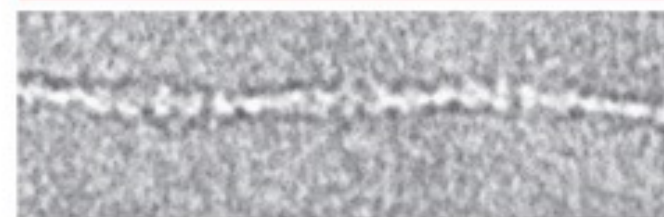


25 nm

25 nm de diámetro



FILAMENTOS DE ACTINA

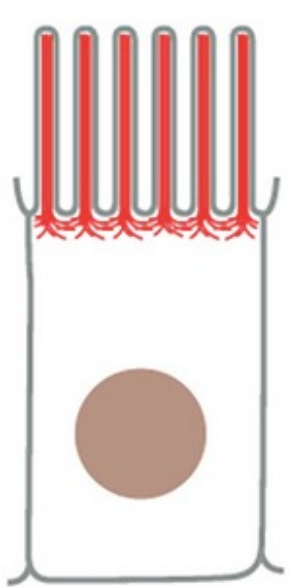


25 nm

7 nm de diámetro

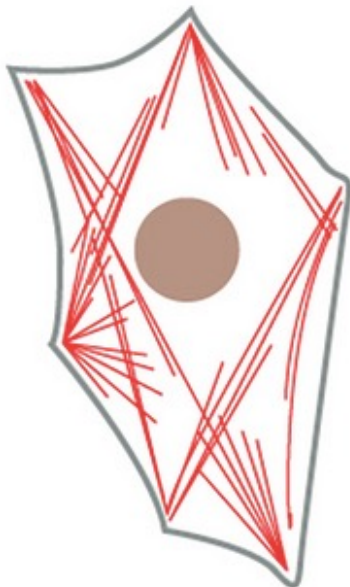
Filamentos de actina

- Microfilamentos
- Forma filamentos delgados y flexibles de **7nm** de diámetro y varios micrómetros de longitud.
- Se organizan formando redes o haces
- Se asocian a otras proteínas para crear formas celulares estables



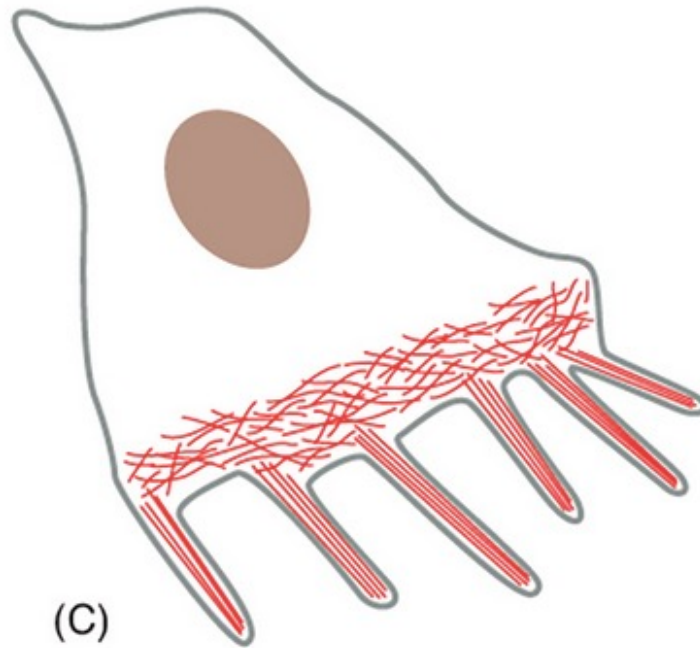
(A)

Microvellosidades



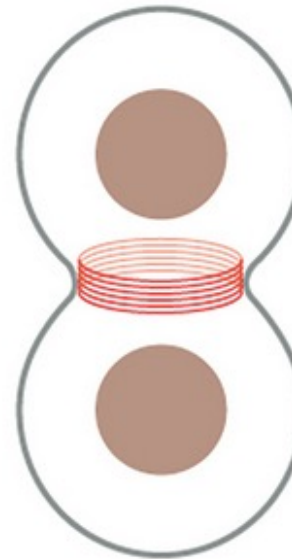
(B)

Haces contráctiles citoplasmáticos



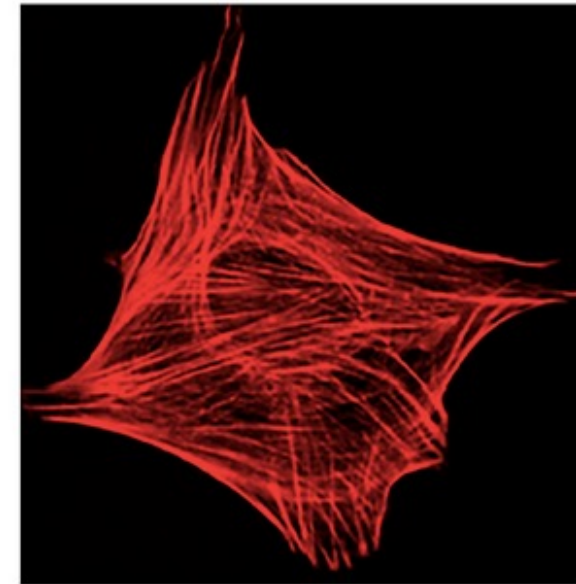
(C)

Filopodios



(D)

Anillo contráctil

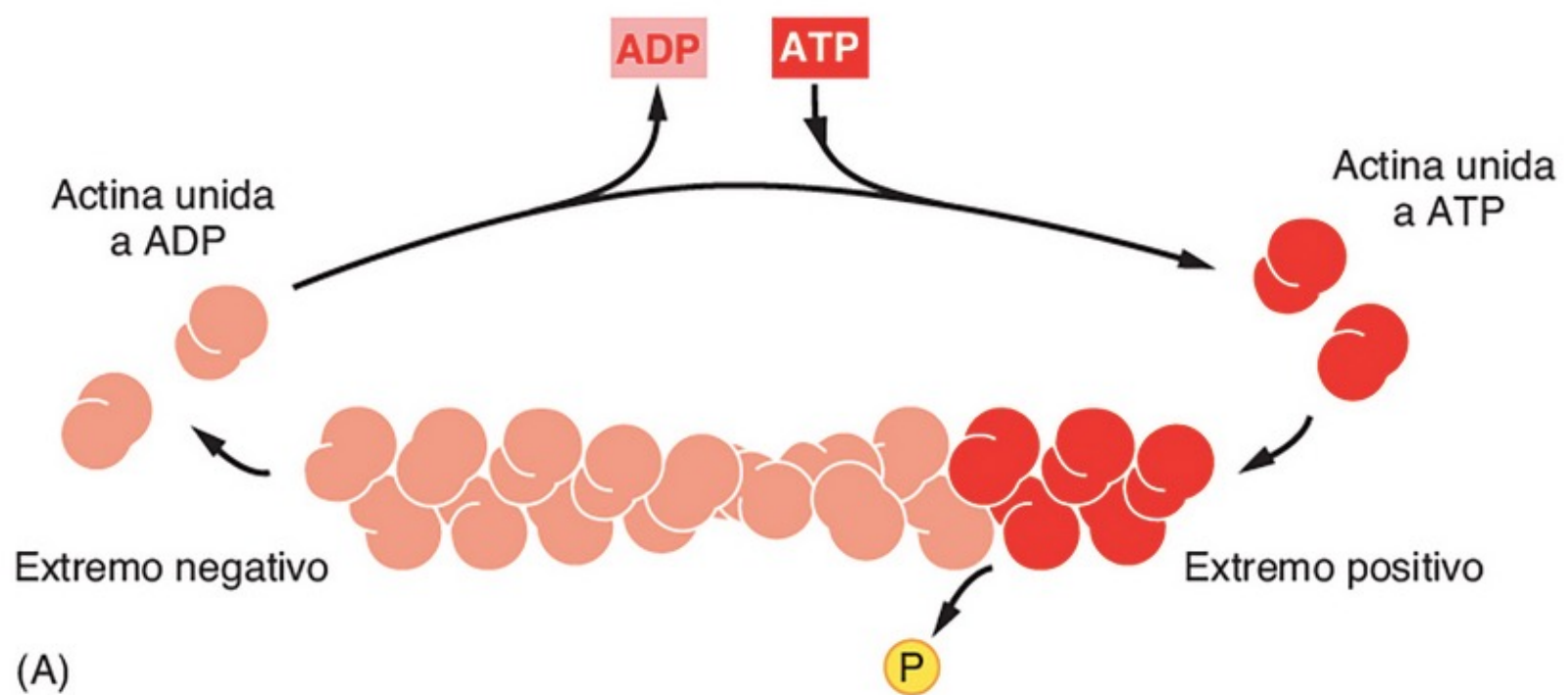


(E)

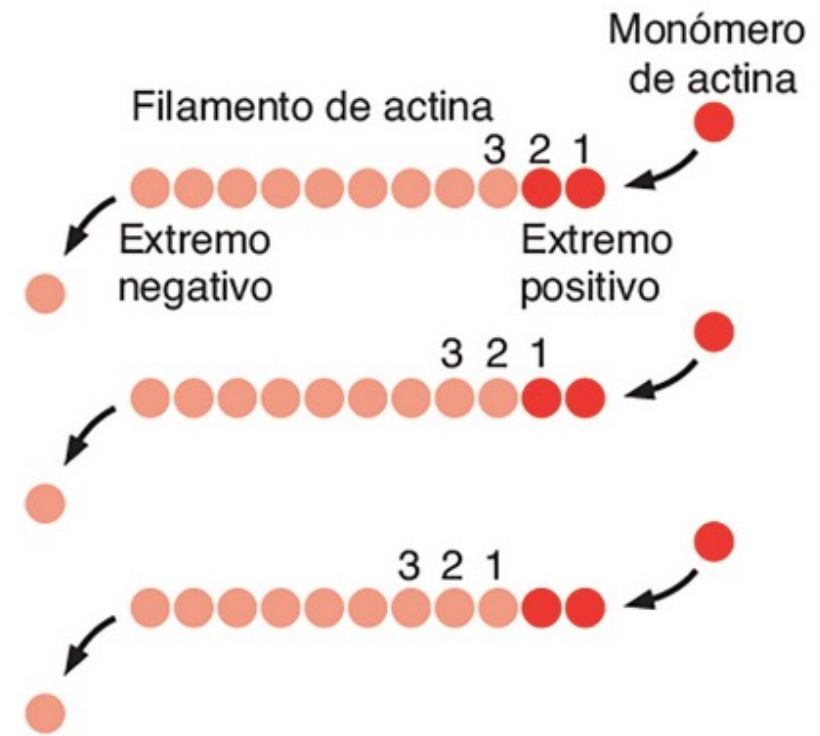
10 μm

Filamentos de actina

La polimerización es reversible y pueden des-polimerizarse



(A)



(B)

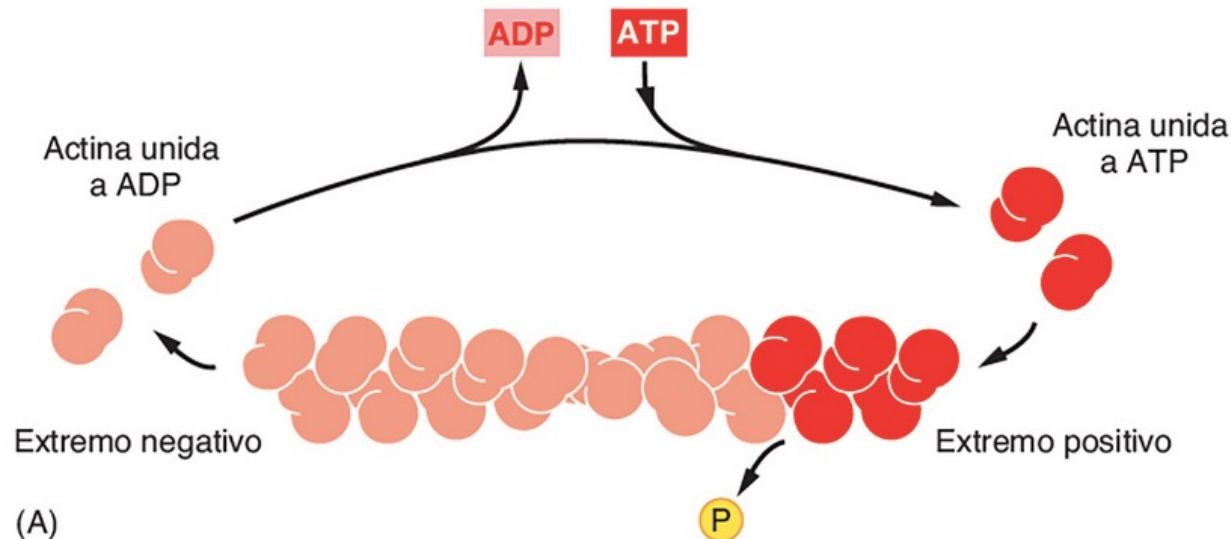
TREADMILLING

Filamentos de actina

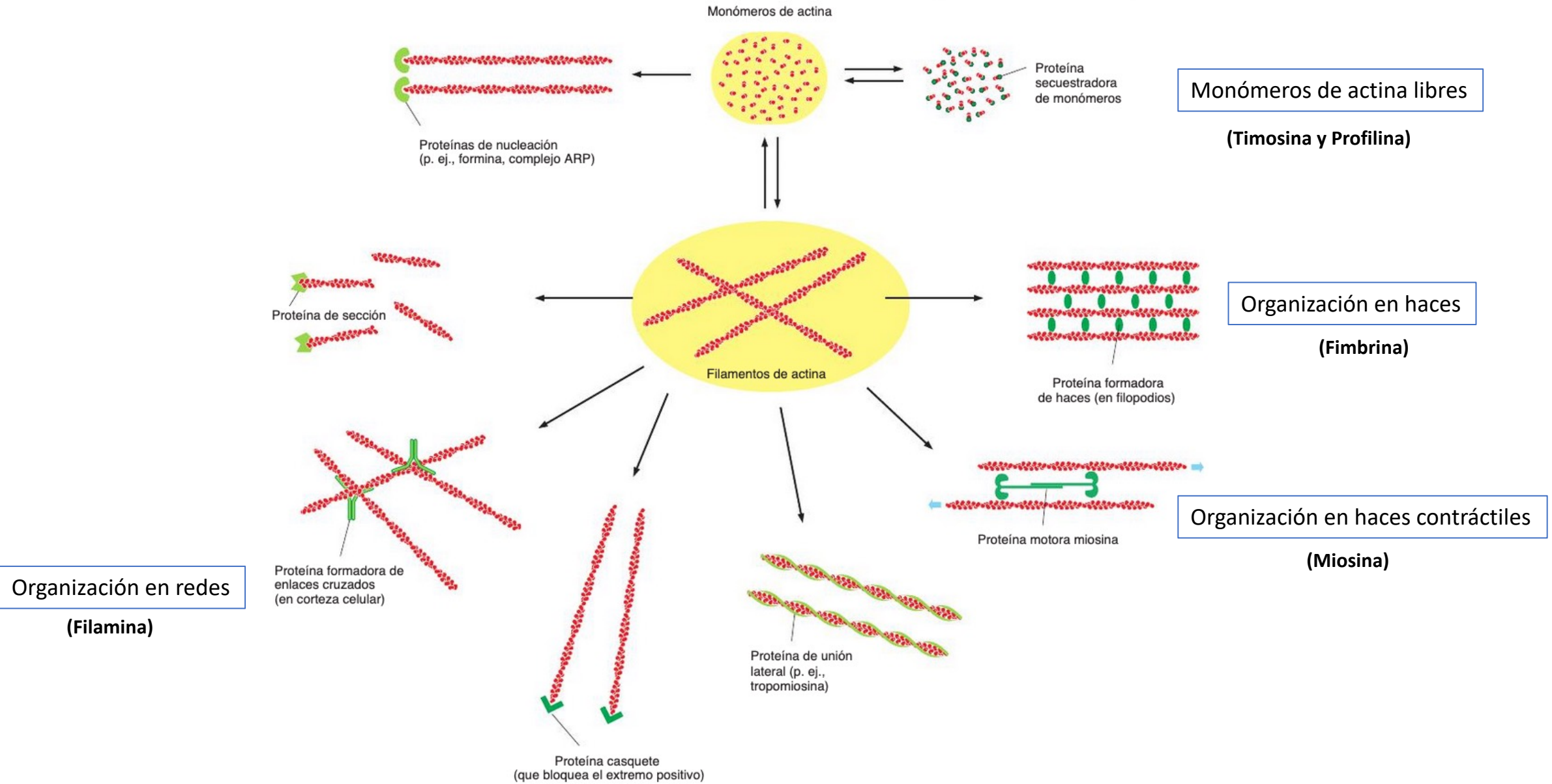
Algunos fármacos y agentes tóxicos son capaces de alterar la dinámica normal de los microfilamentos

CUADRO 17-2 FÁRMACOS QUE AFECTAN A LOS FILAMENTOS

Fármacos específicos para la actina	Acción
Faloidina	Se une a los filamentos y los estabiliza
Citocalasina	Recubre los extremos positivos de los filamentos, lo que impide su polimerización
Latrunculina	Se une a monómeros de actina e impide su polimerización

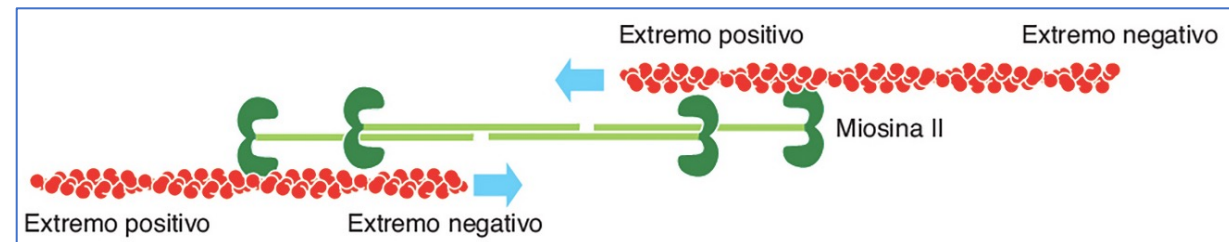
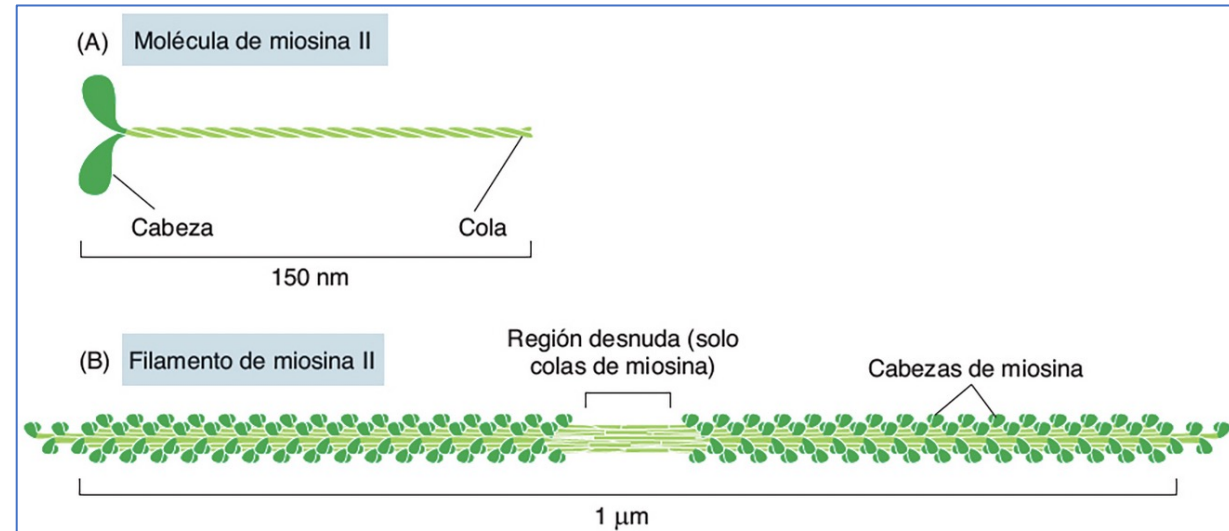
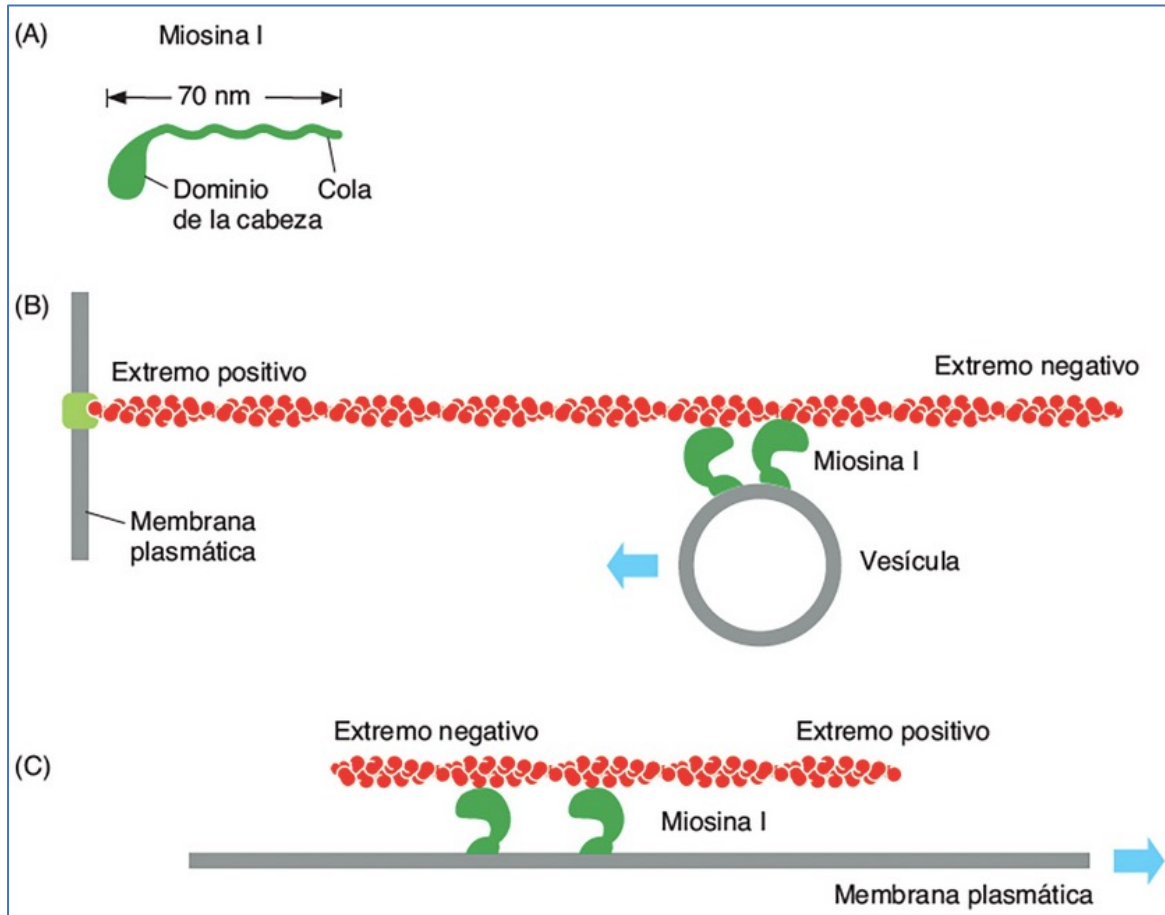


Filamentos de actina: numerosas proteínas se unen a la actina y modifican sus propiedades



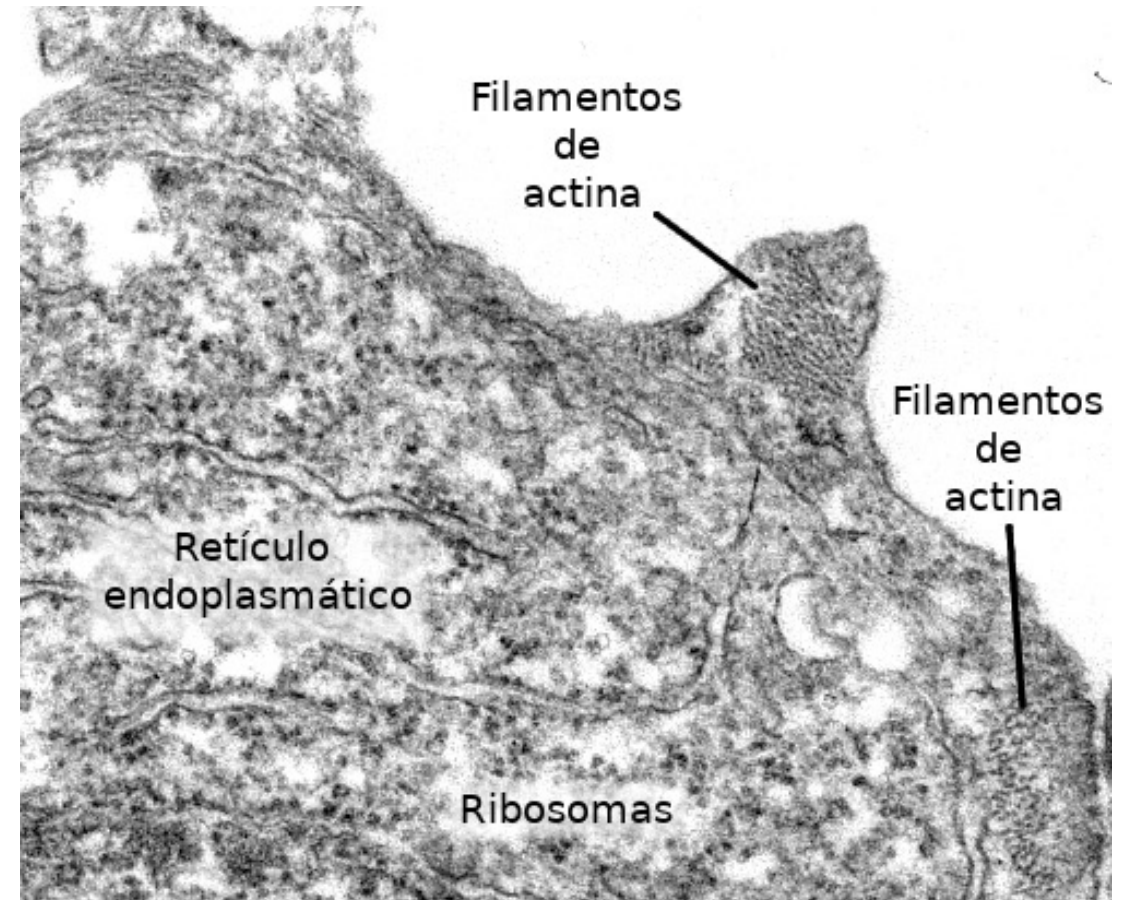
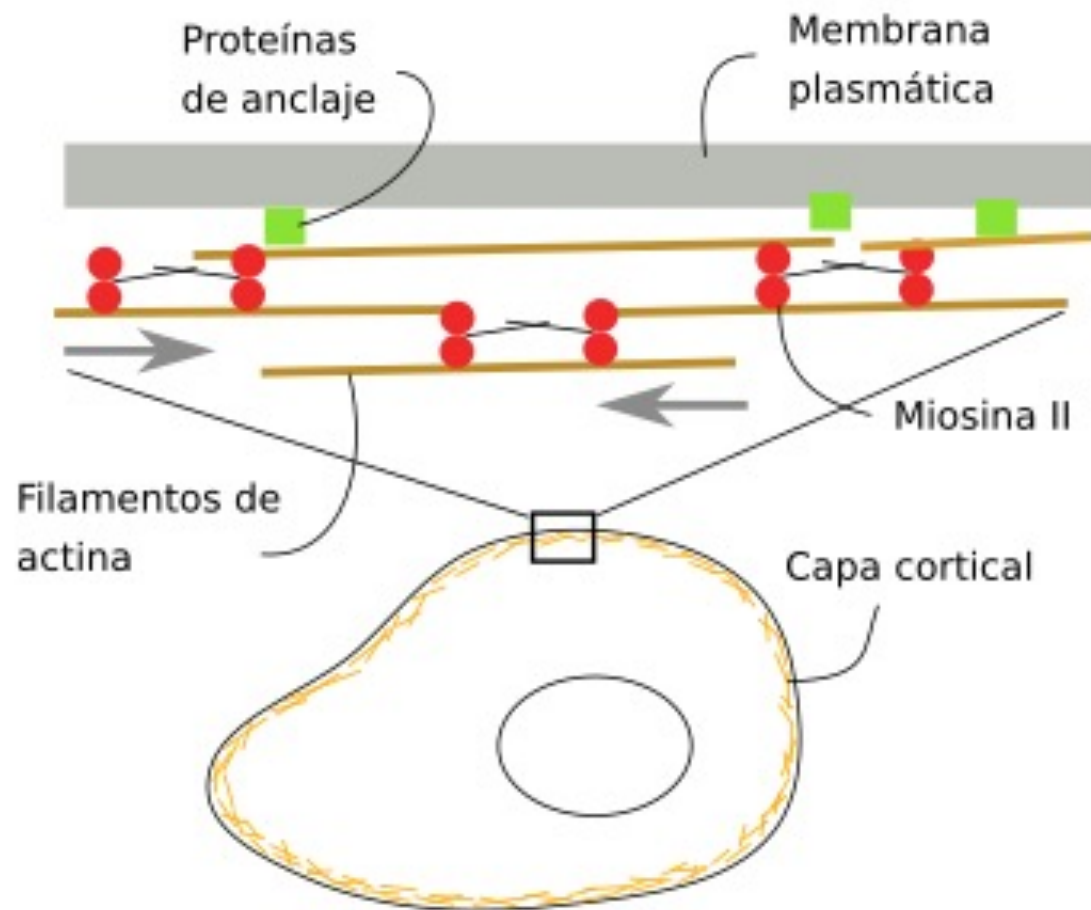
Filamentos de actina: asociación con miosina

- Familia de proteínas motoras que hidrolizan ATP
- Movimiento sobre el filamento de actina, **hacia el extremo positivo**
- Miosina I y Miosina II

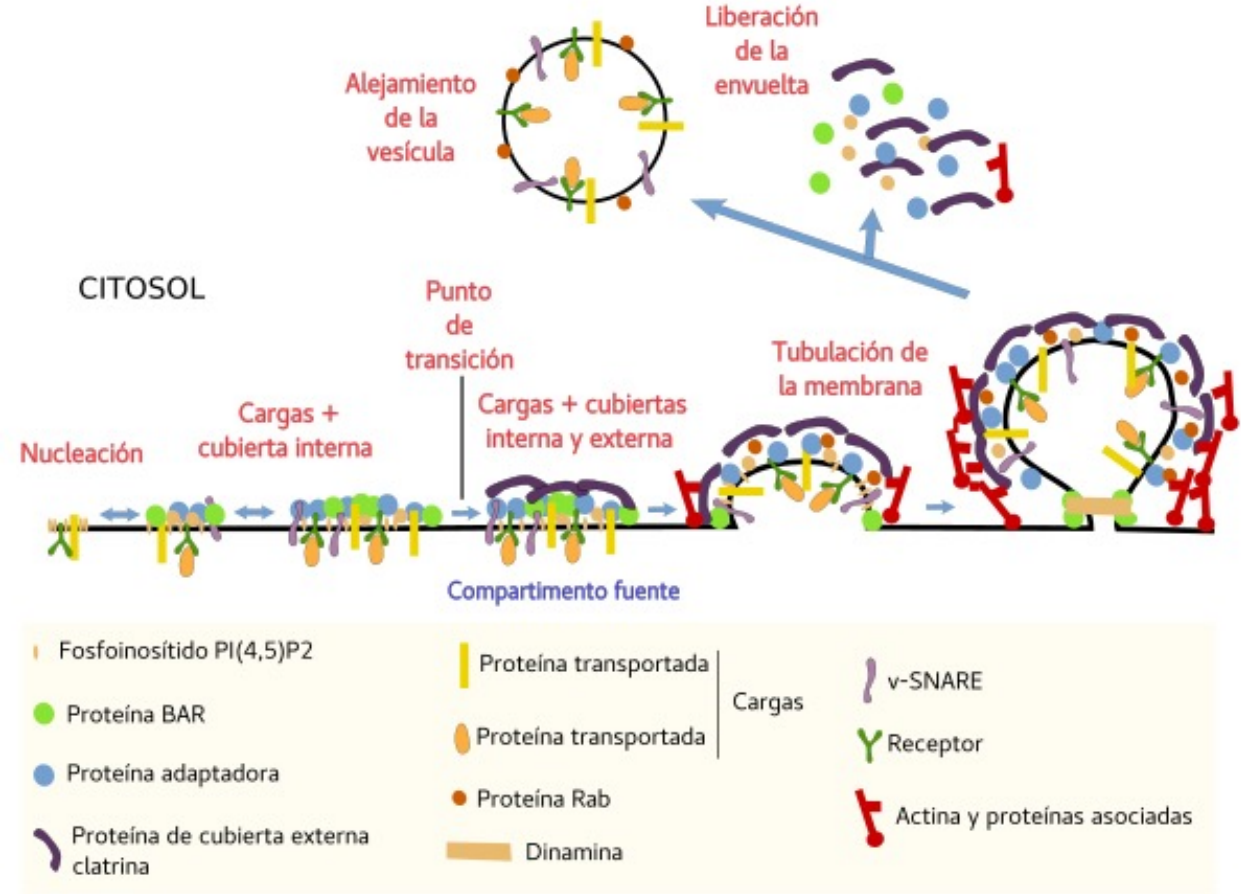
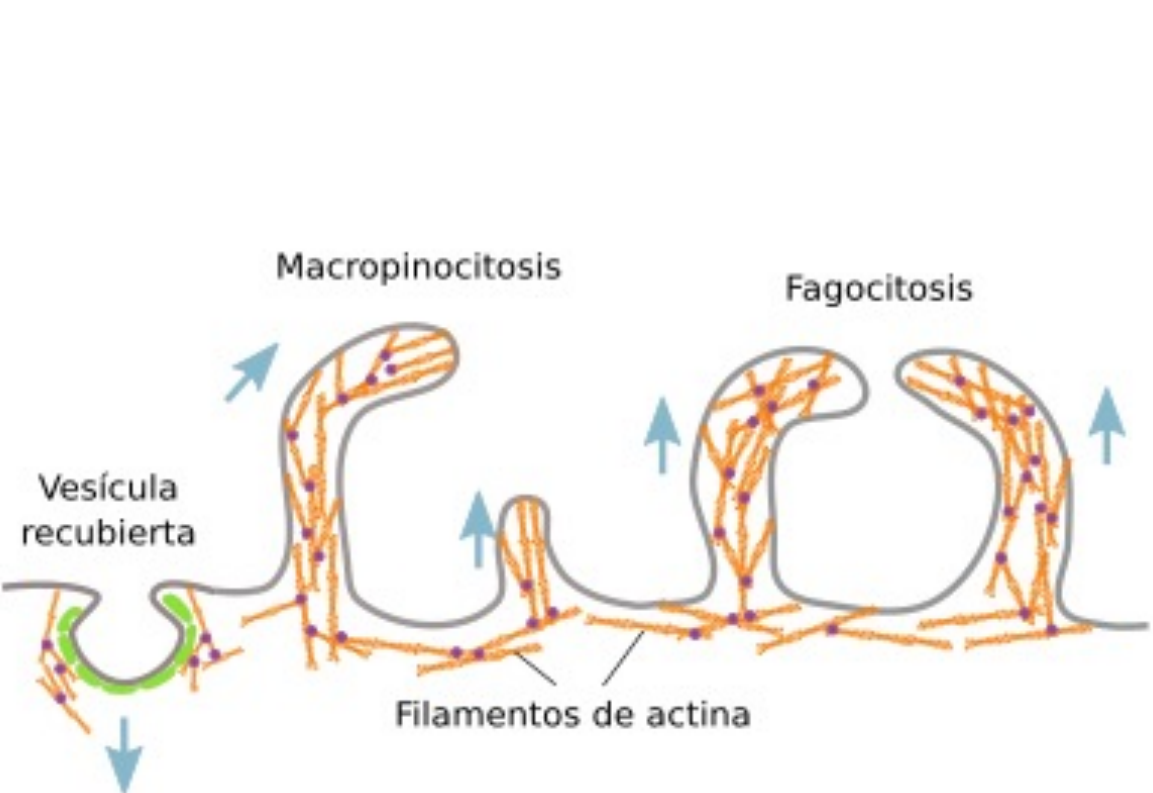


Filamentos de actina: formación de corteza celular

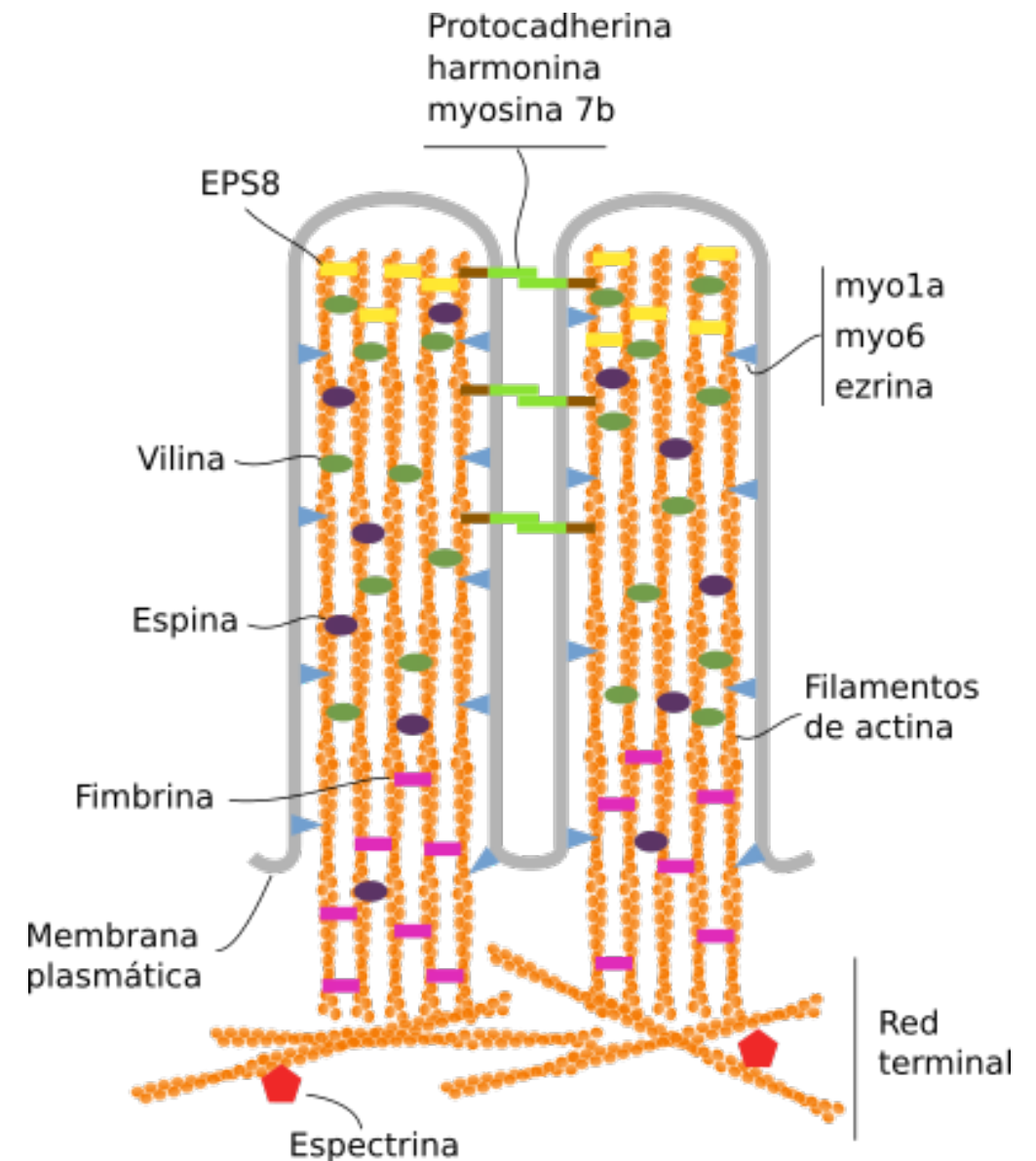
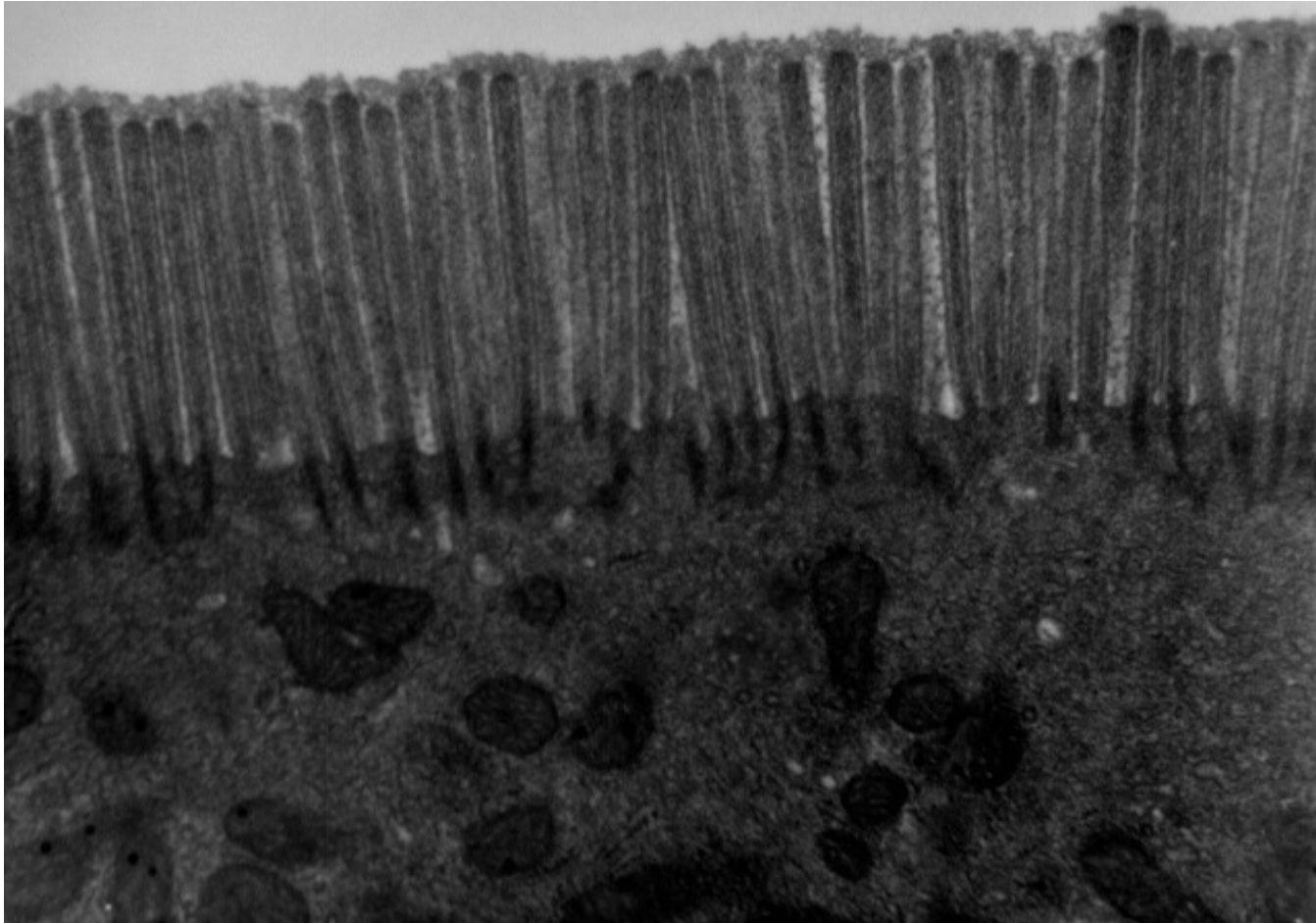
Por debajo de la membrana plasmática es frecuente encontrar una corteza rica en filamentos de actina denominada **CORTEZA CELULAR**



Filamentos de actina: formación de vesículas, macropinocitosis y fagocitosis

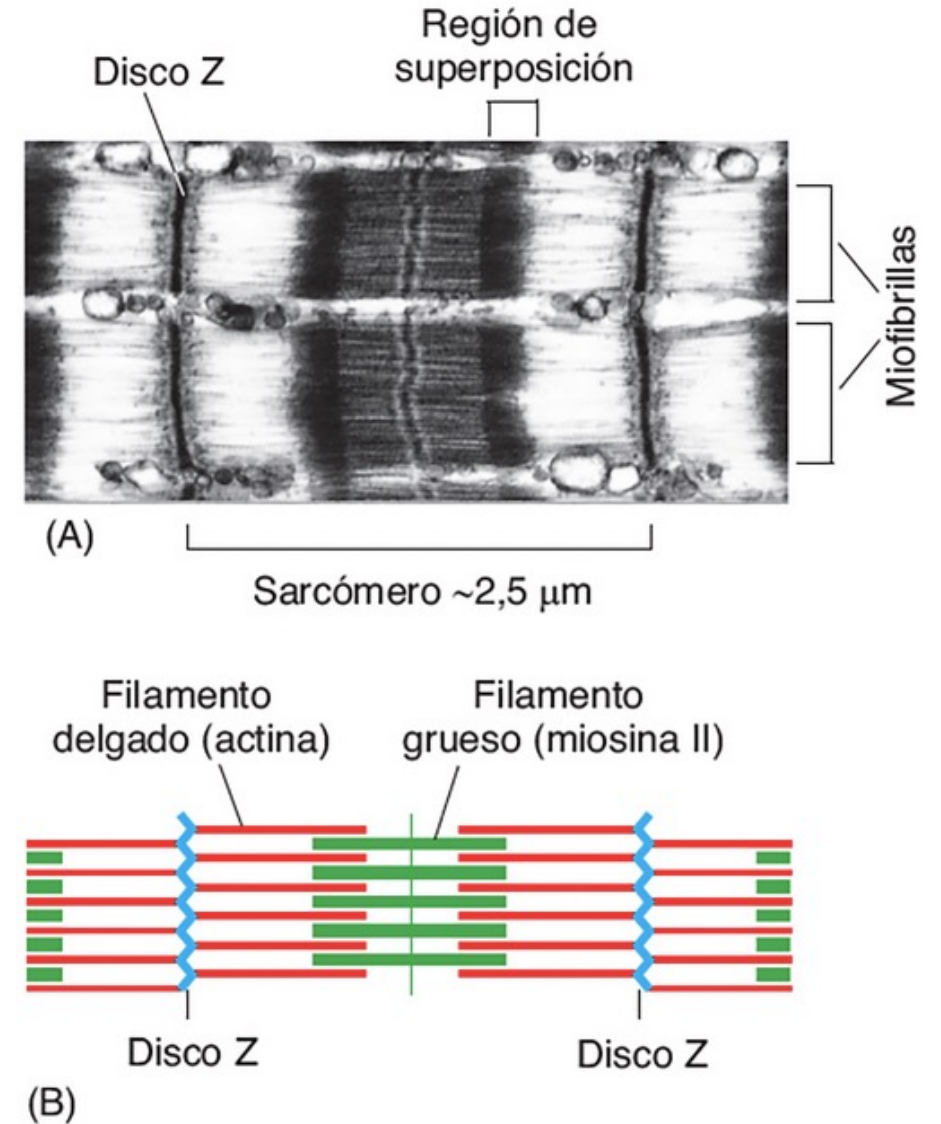
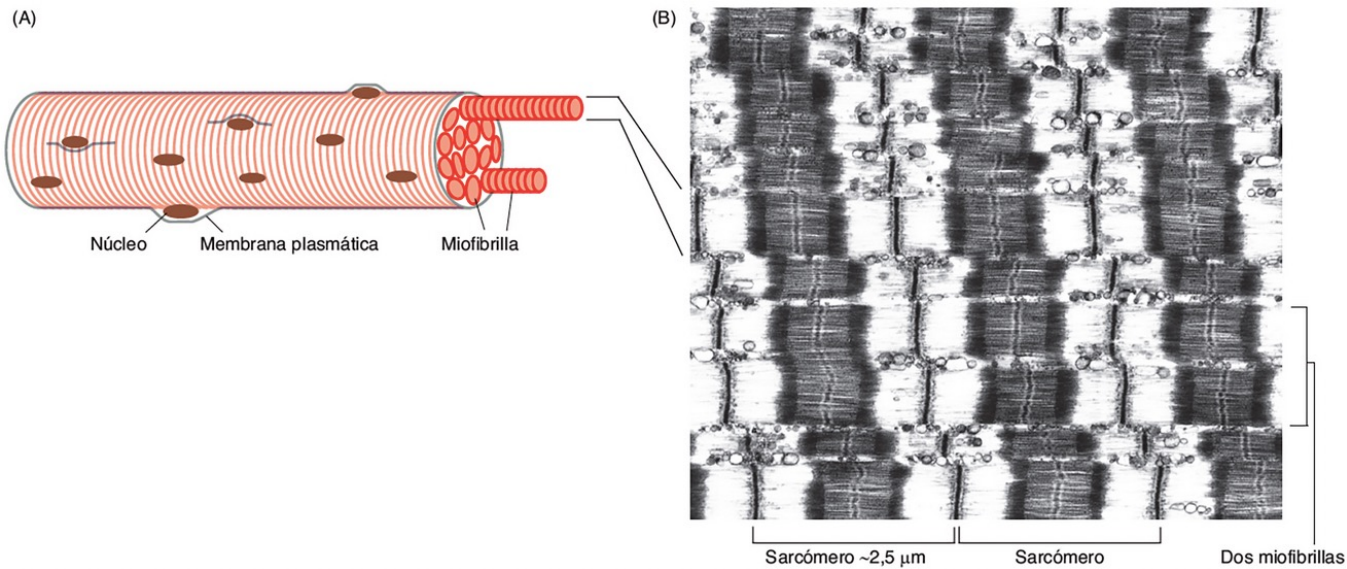


Filamentos de actina: microvellosidades

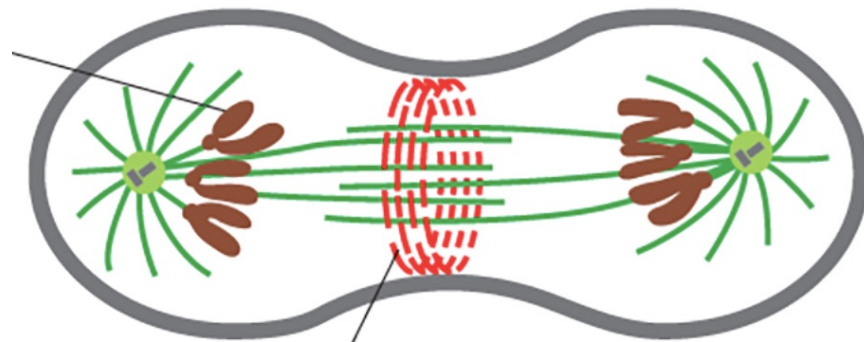


Filamentos de actina: la contracción muscular depende de la interacción actina-miosina II

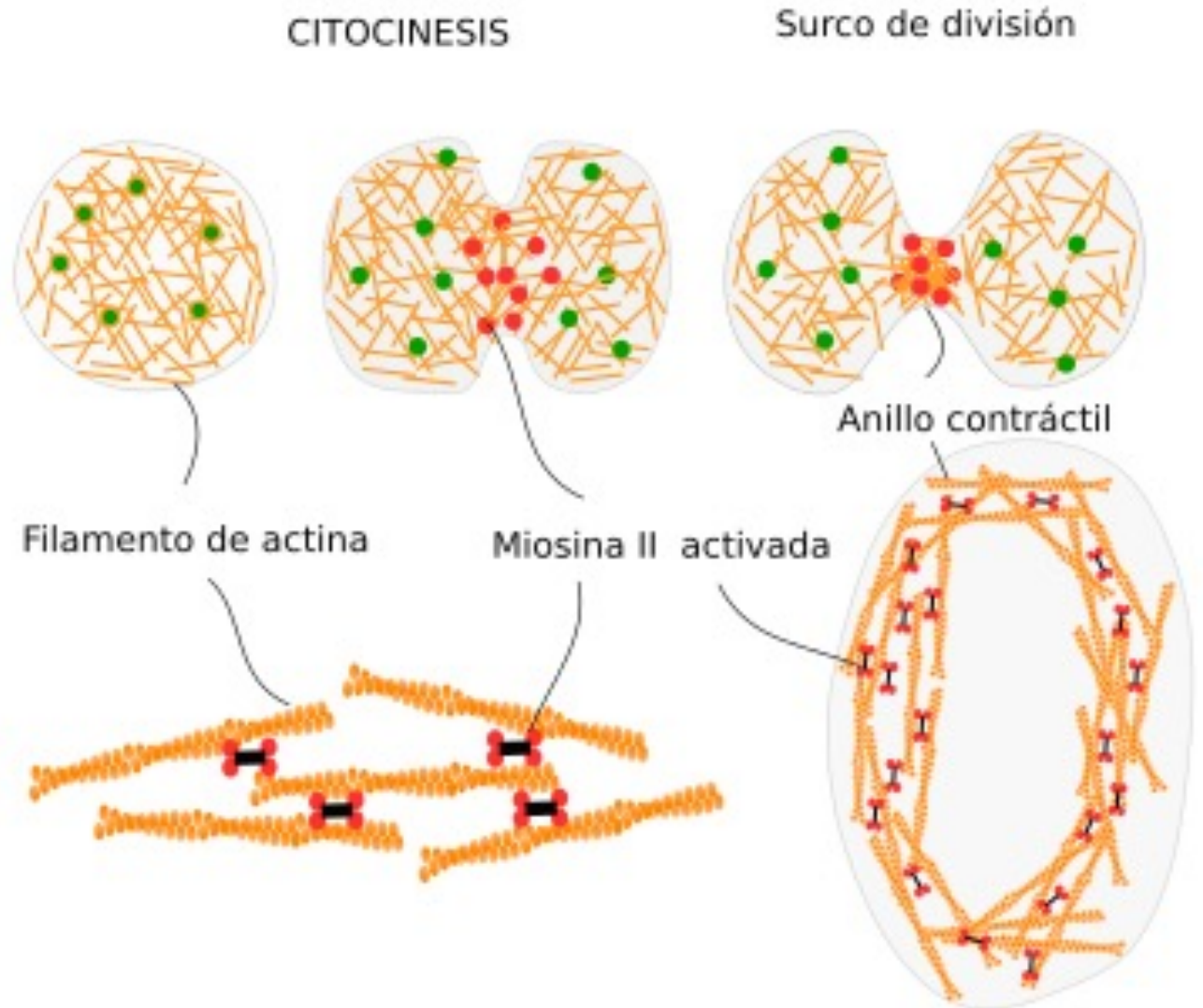
Una célula de músculo esquelético está compuesta por miofibrillas



Filamentos de actina: forman el anillo contráctil durante la citocinesis

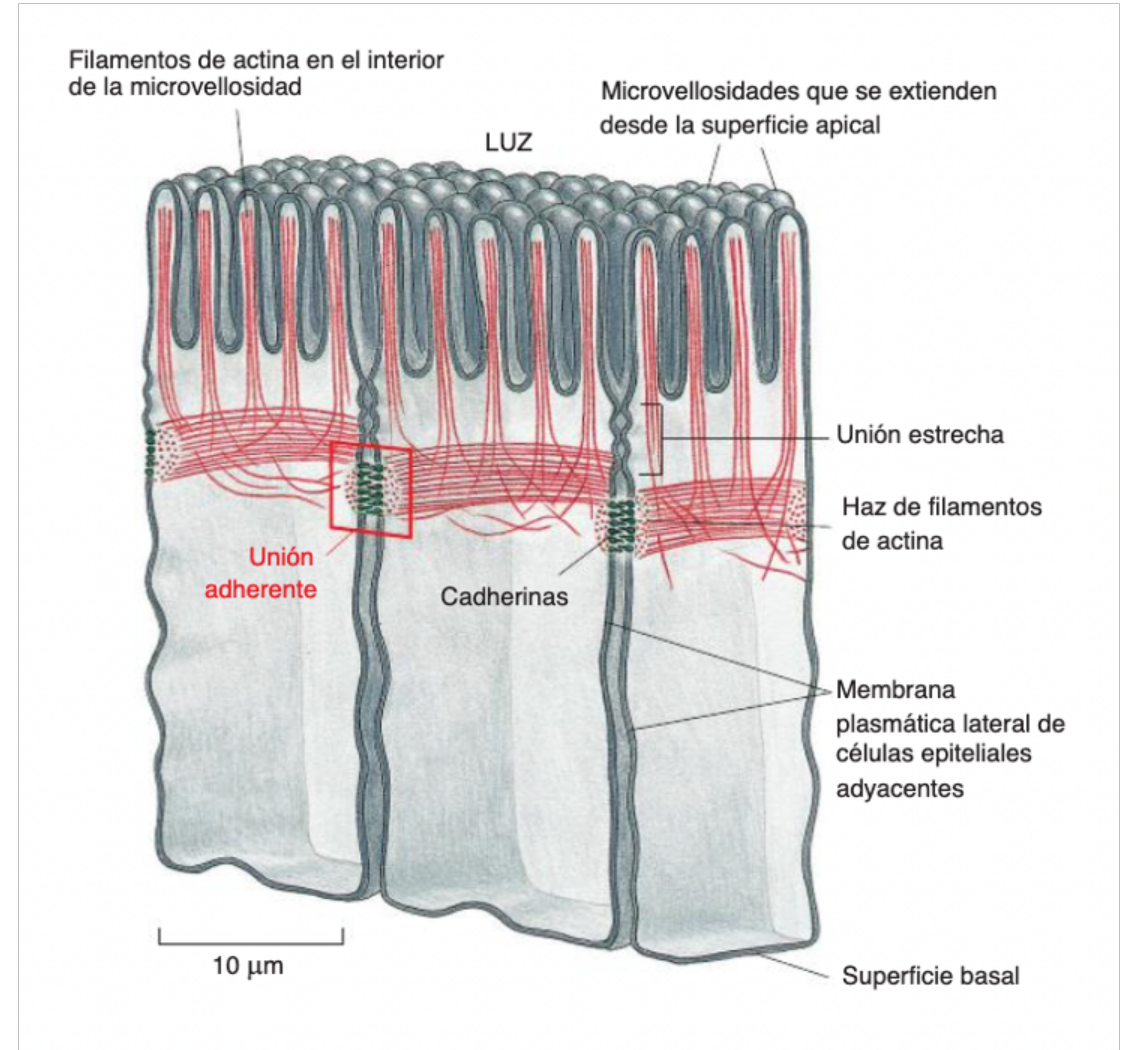
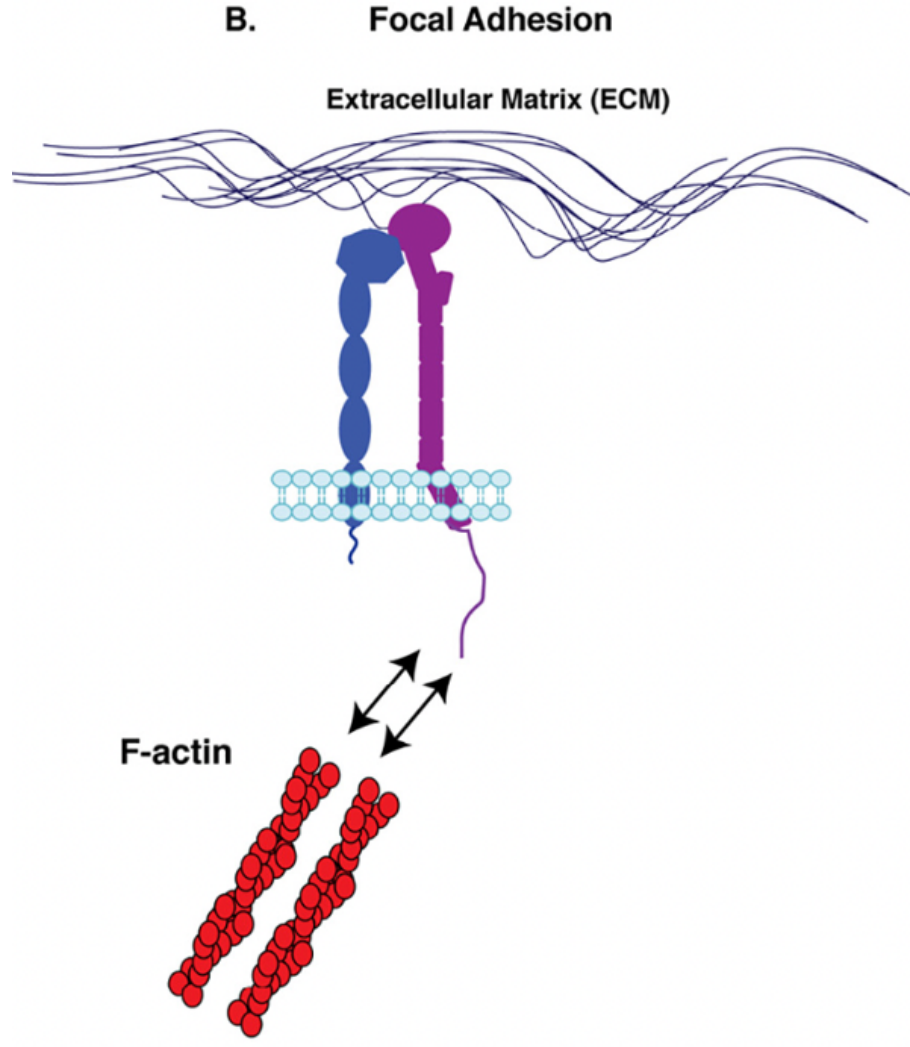


Filamentos de actina y miosina
del anillo contráctil



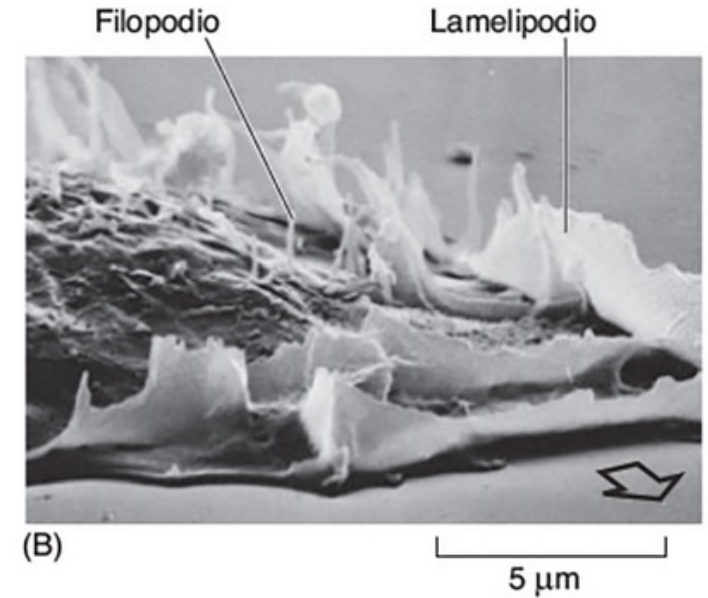
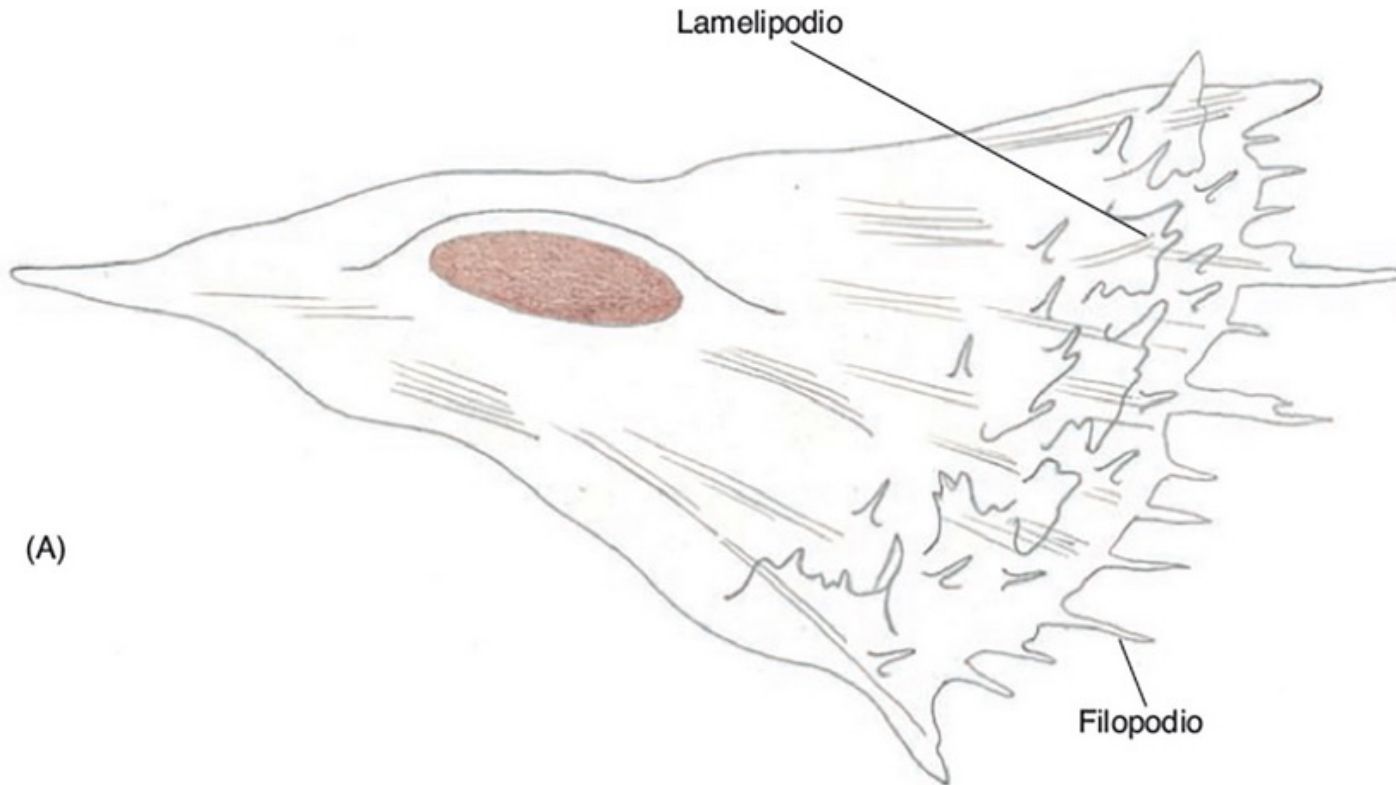
Filamentos de actina: uniones

Los filamentos de actina también participan la unión célula-célula (uniones adherentes) y célula-MEC (adhesiones focales)



Filamentos de actina: la reptación celular depende de la actina cortical

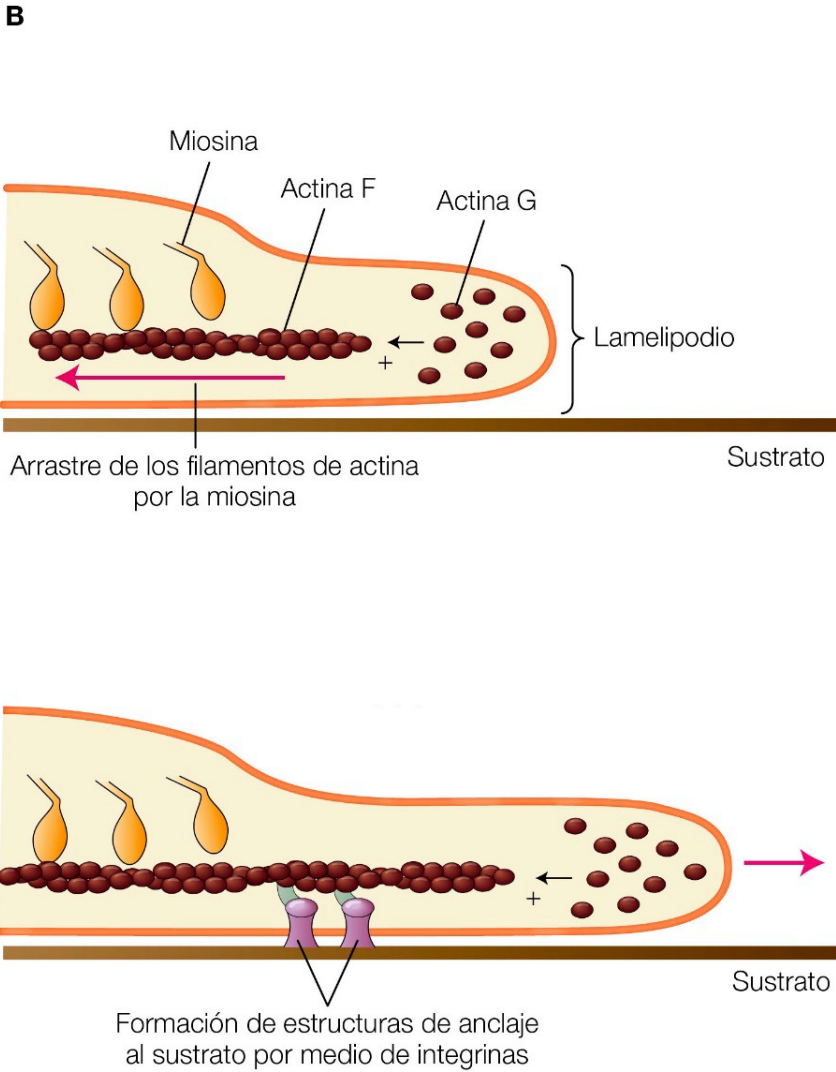
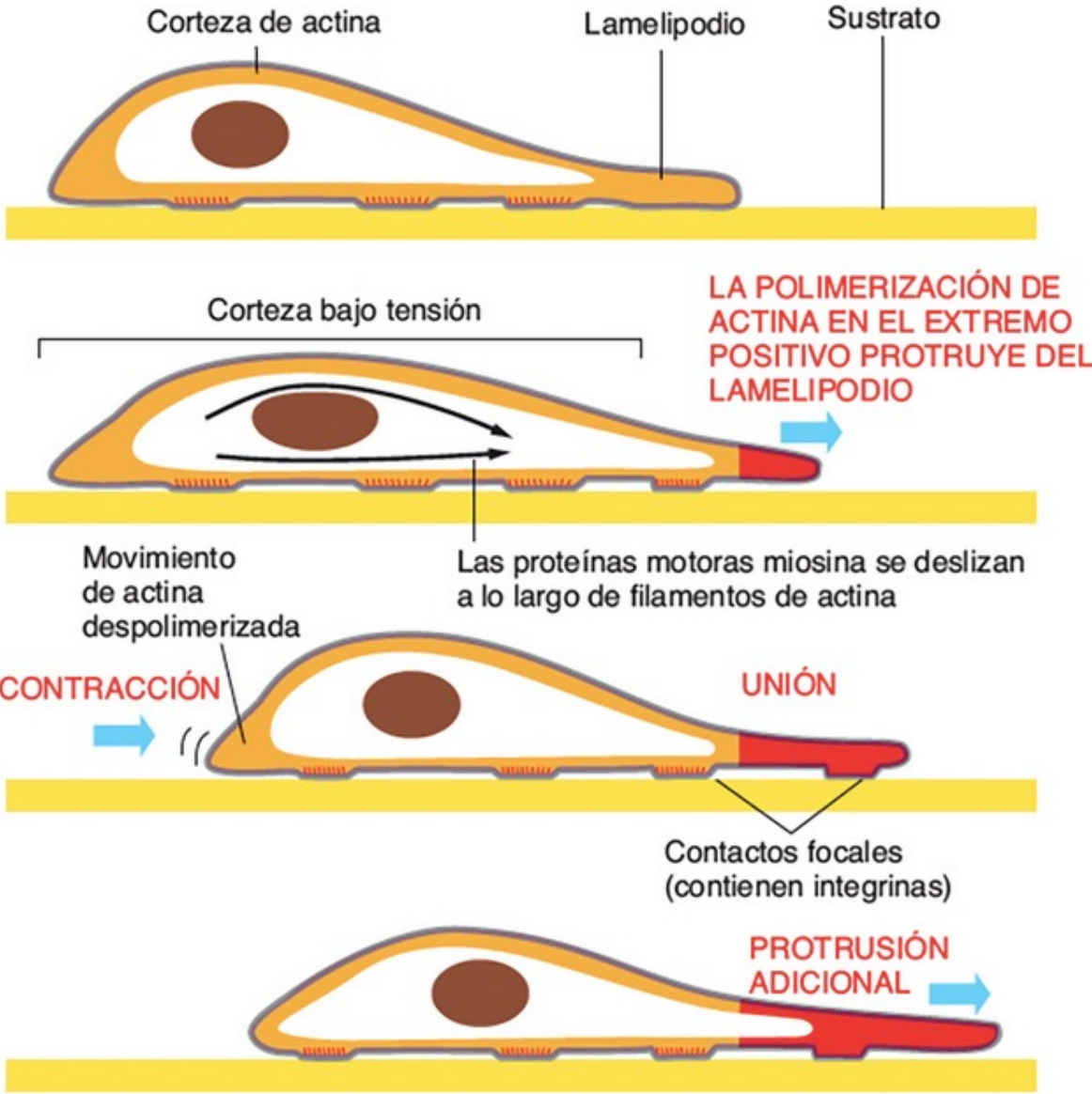
Numerosas células se mueven arrastrándose sobre superficies



Extensiones delgadas y aplanadas vs. extensiones rígidas y delgadas

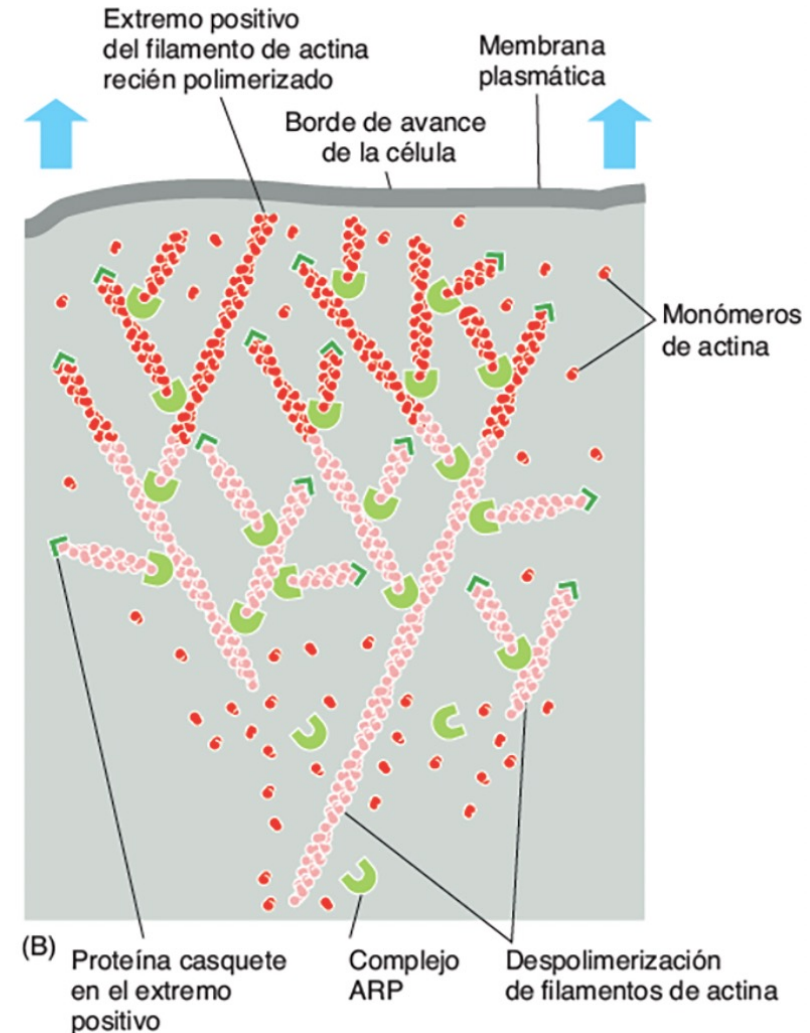
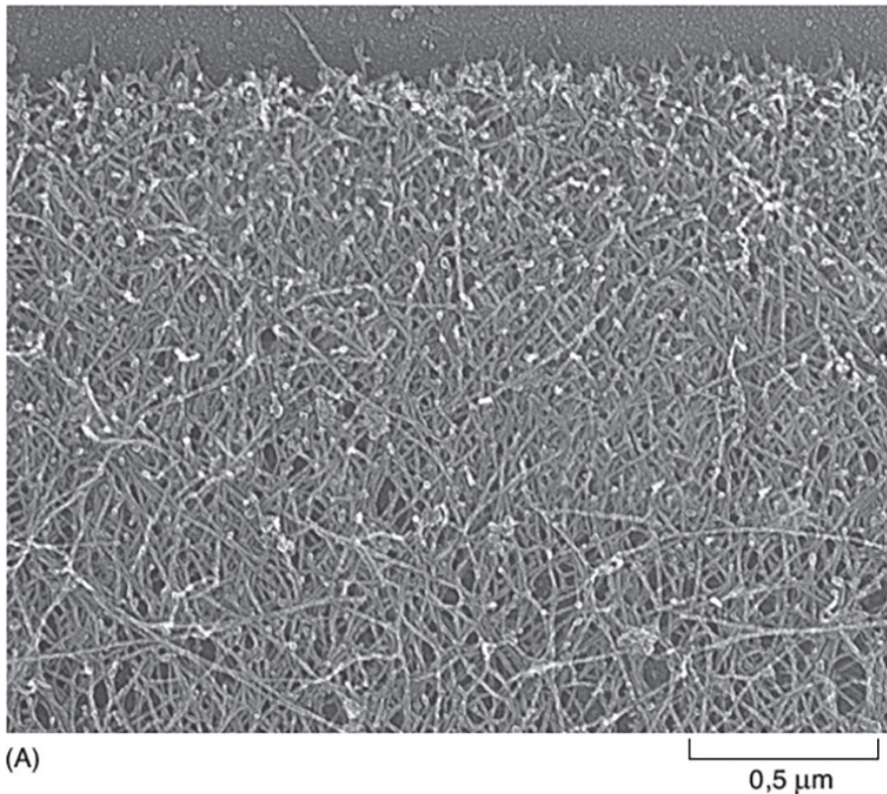
Densa malla vs. haz laxo

Filamentos de actina: la reptación celular depende de la actina cortical



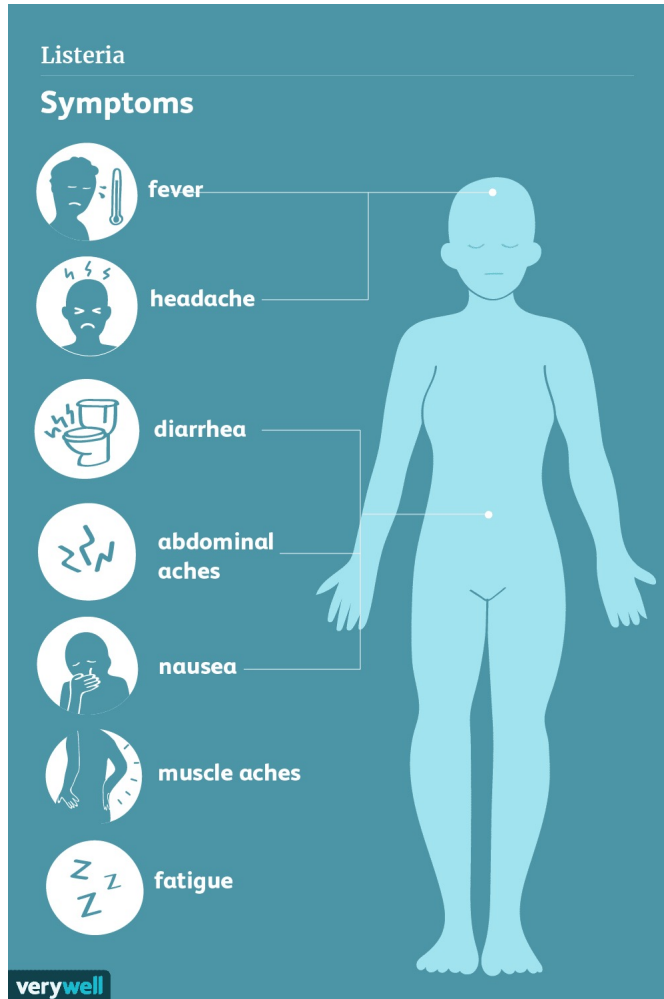
Filamentos de actina: la reptación celular depende de la actina cortical

Una red de filamentos de actina en vías de polimerización empuja, en dirección anterógrada, el borde de avance de un lamelipodio



Filamentos de actina

Determinados microorganismos pueden aprovecharse de la actina celular del huésped para moverse e invadir otras células

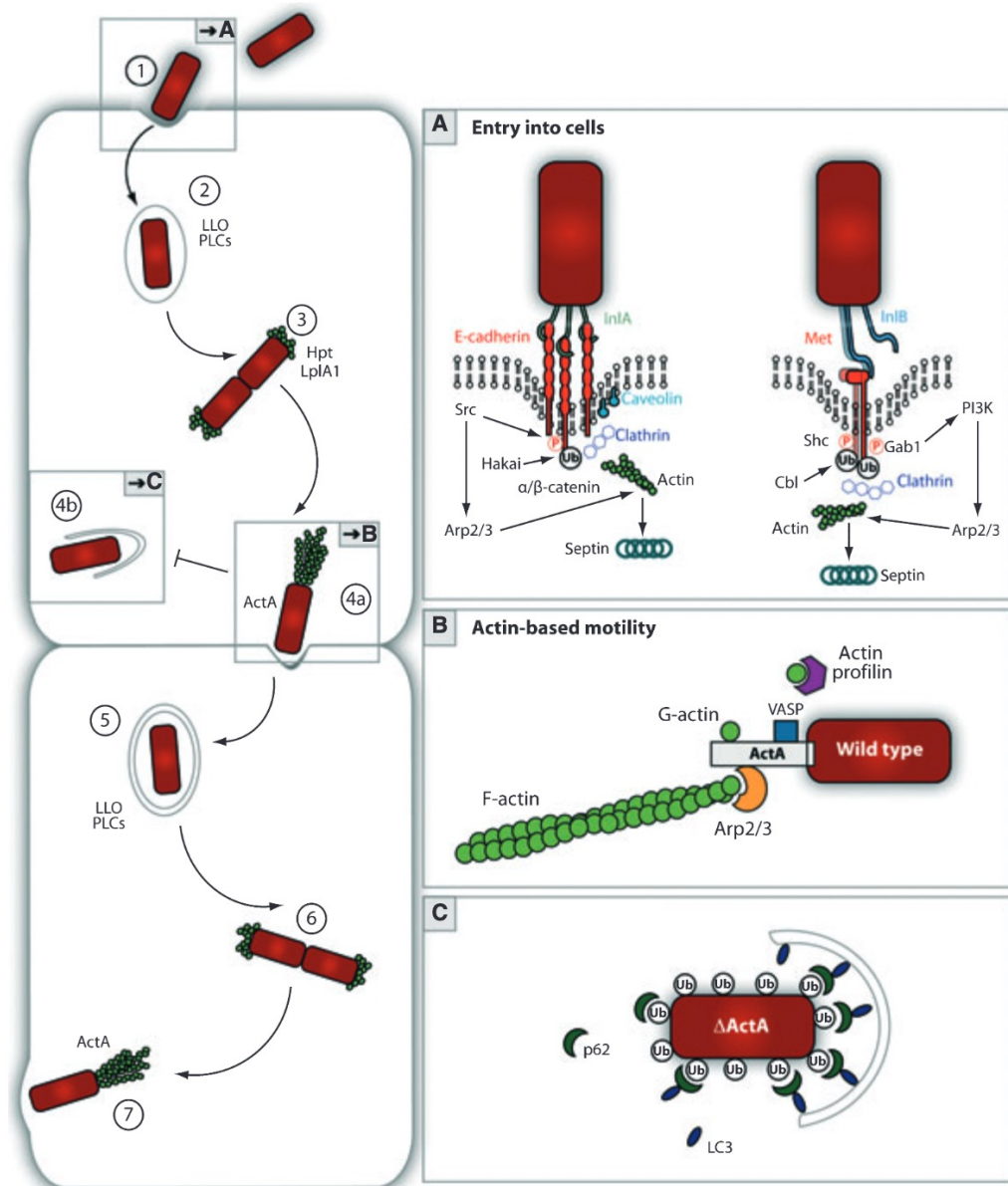
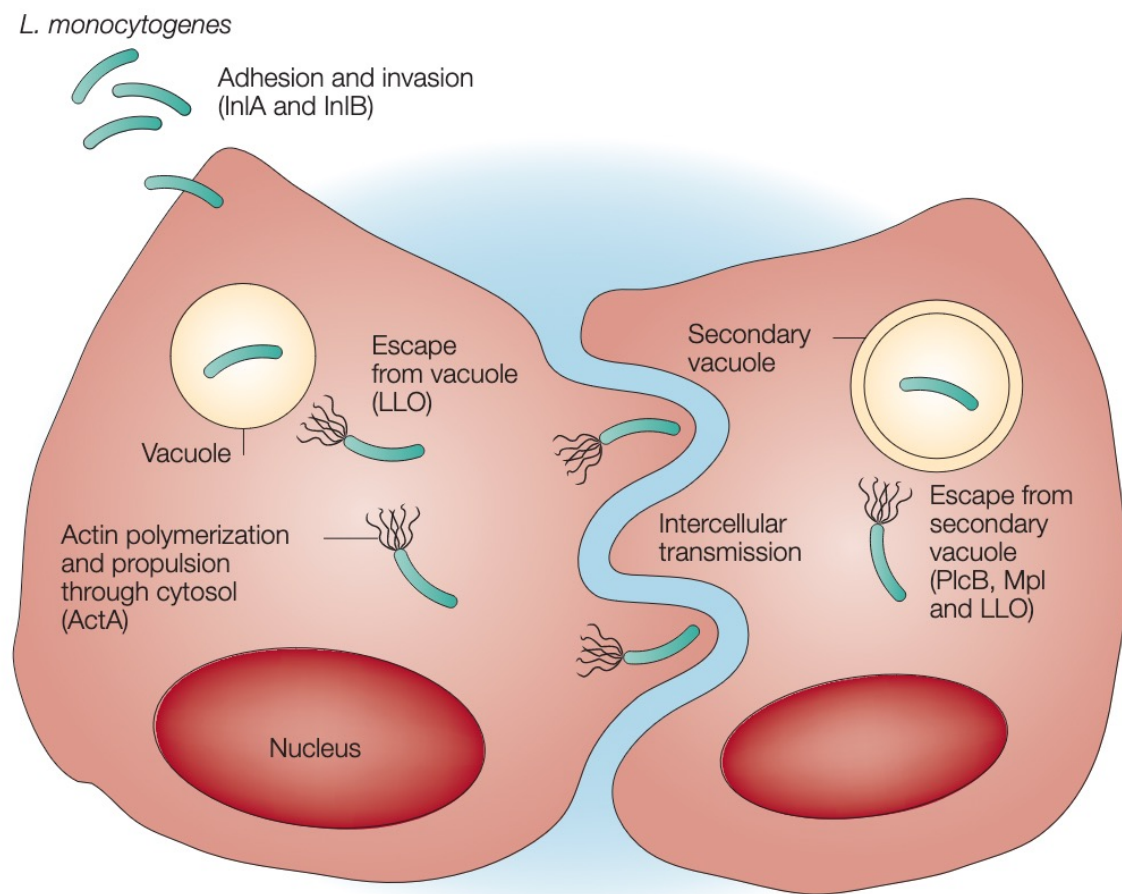


Listeria Monocytogenes



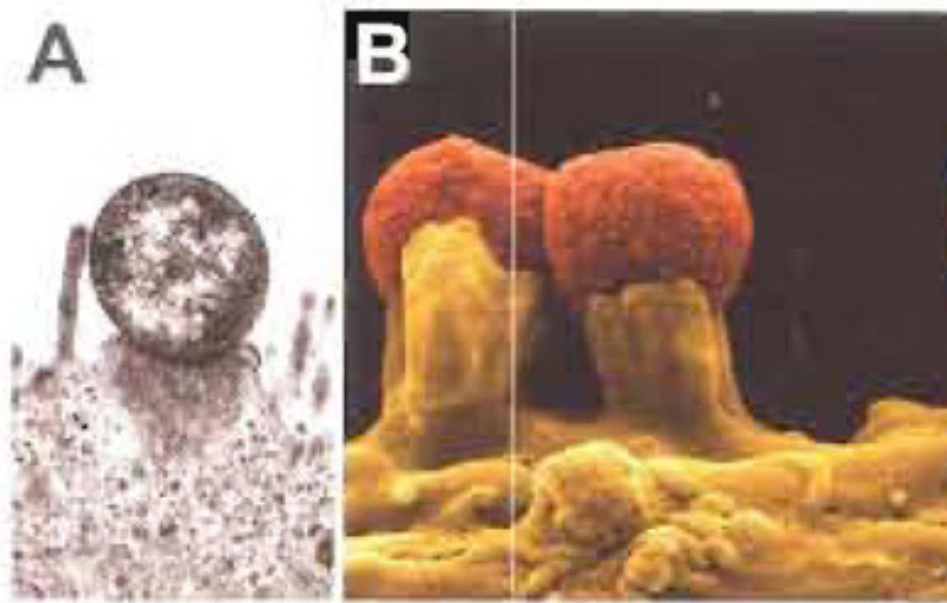
Infecciones intestinales por *E.Coli*

Filamentos de actina

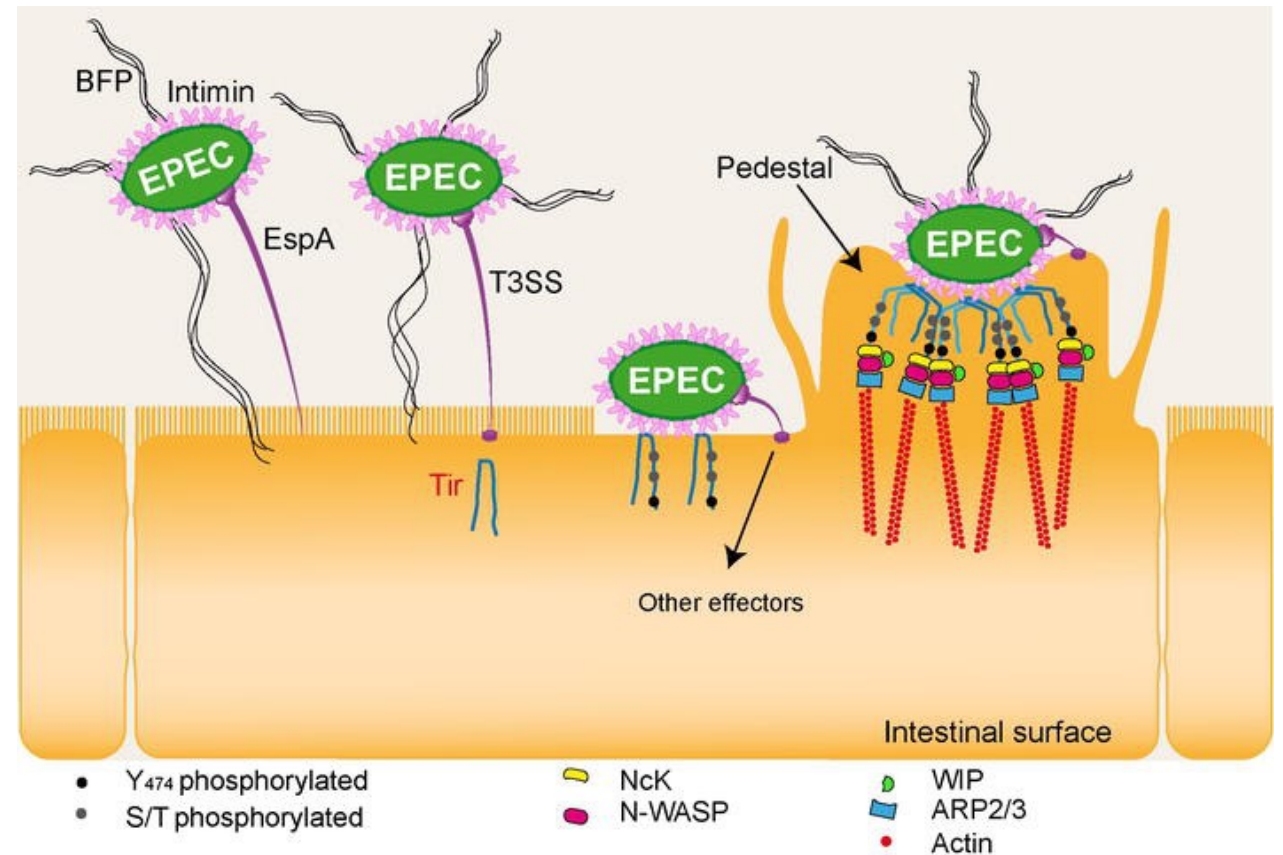


Filamentos de actina

La interacción de E.Coli con proteínas de la membrana apical de los enterocitos provoca la formación del *pedestal*



Escherichia coli enteropatógena





Universidad de Valladolid

Citoesqueleto

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

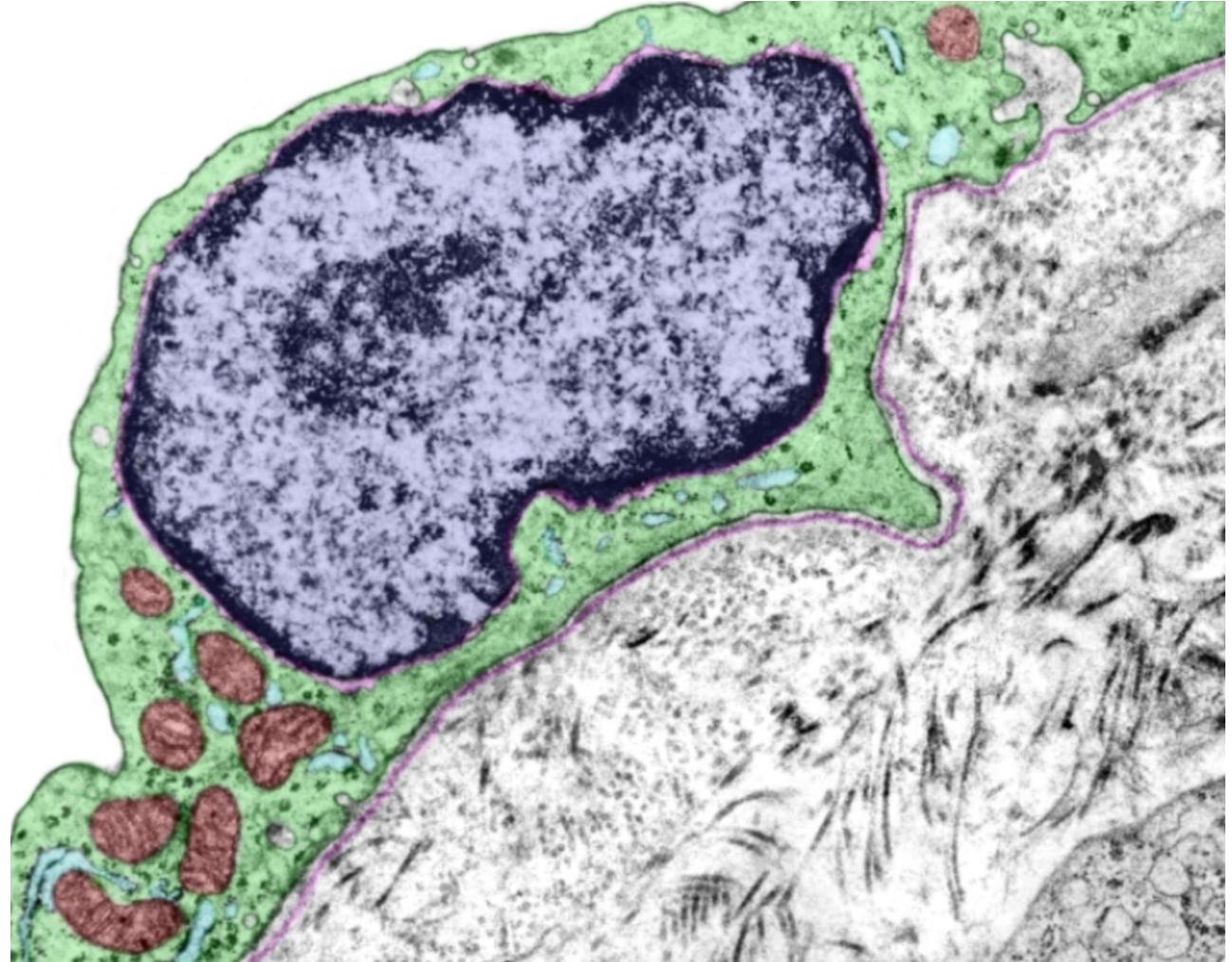
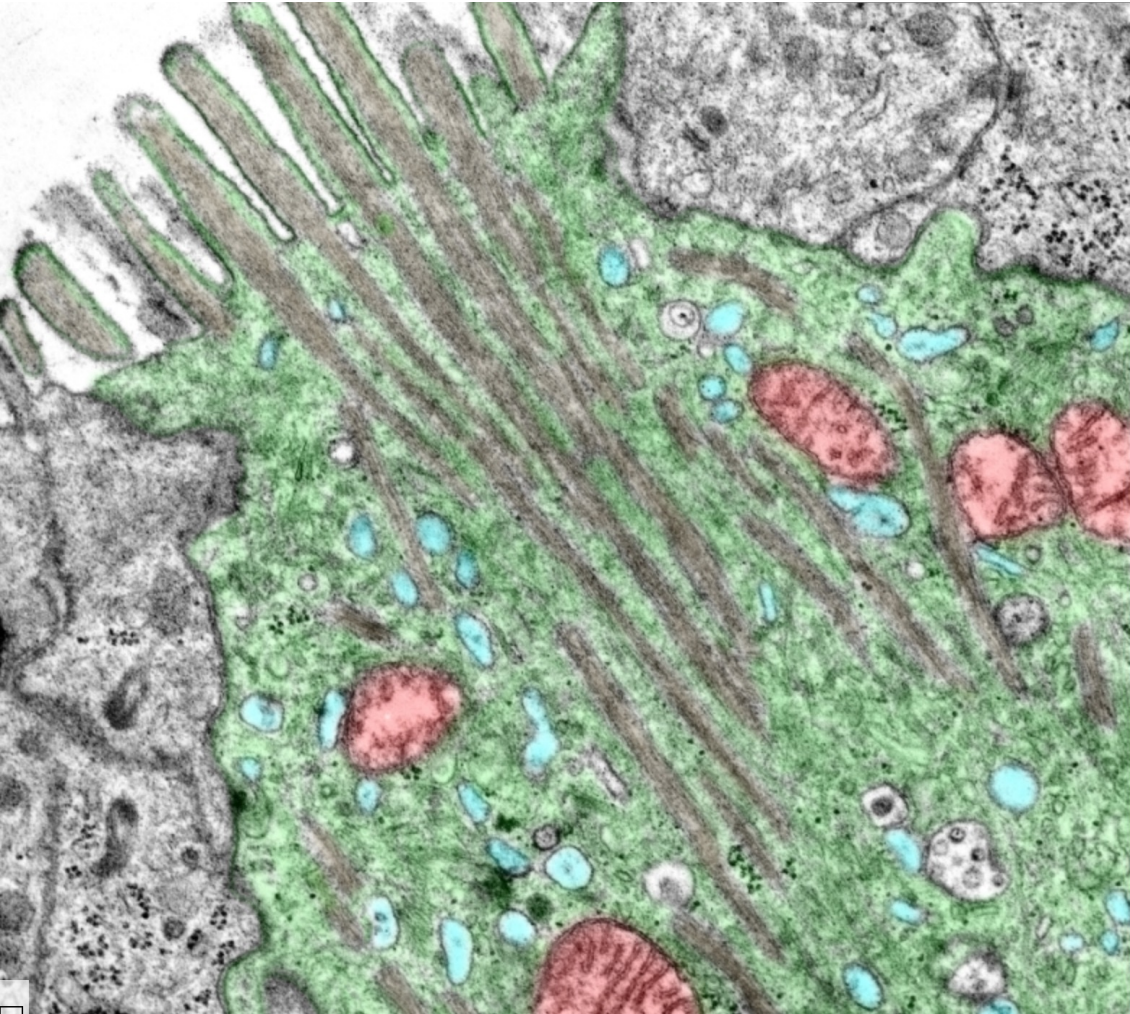
Citosol e inclusiones citoplasmáticas

Prof. Ricardo Usategui Martín

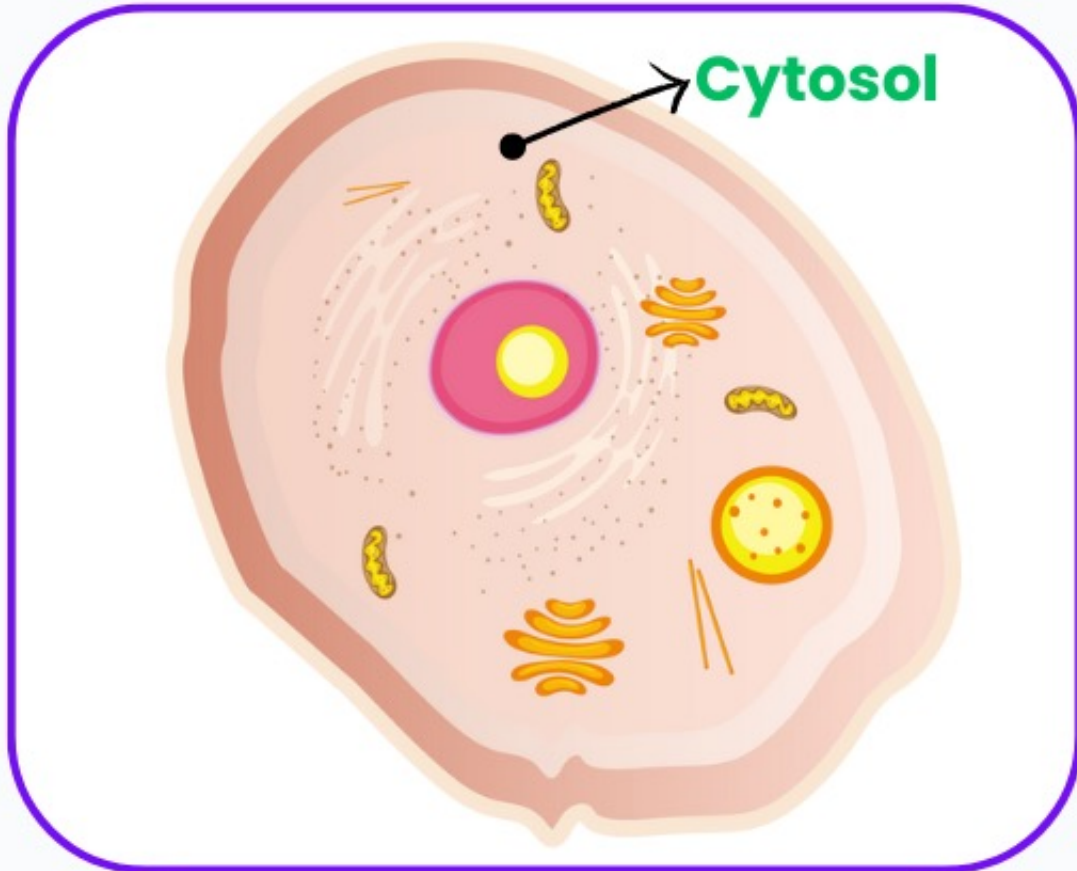
Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es

Fracción del citoplasma

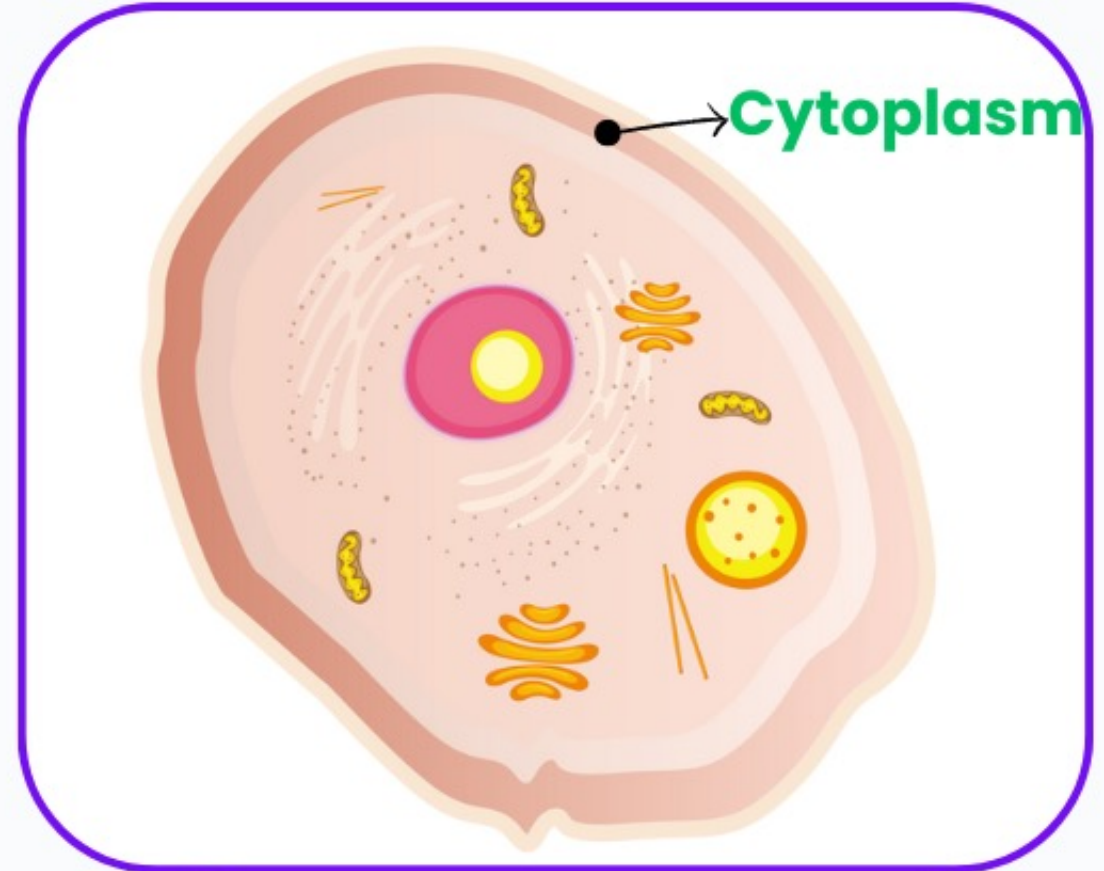


El citosol es un líquido viscoso y acuoso



Cytosol is the liquid part of the cytoplasm, made up mostly of water and soluble molecules

VS



cytoplasm refers to the entire content within the cell membrane, including the cytosol.

El citosol está muy organizado a nivel molecular con gran heterogeneidad

Agua (70-85%) + Proteínas (15-30%) + Metabolitos (ATP, GTP...)

- Heterogeneidad química: MICRODOMINIOS
- Heterogeneidad física: diferente VISCOSIDAD

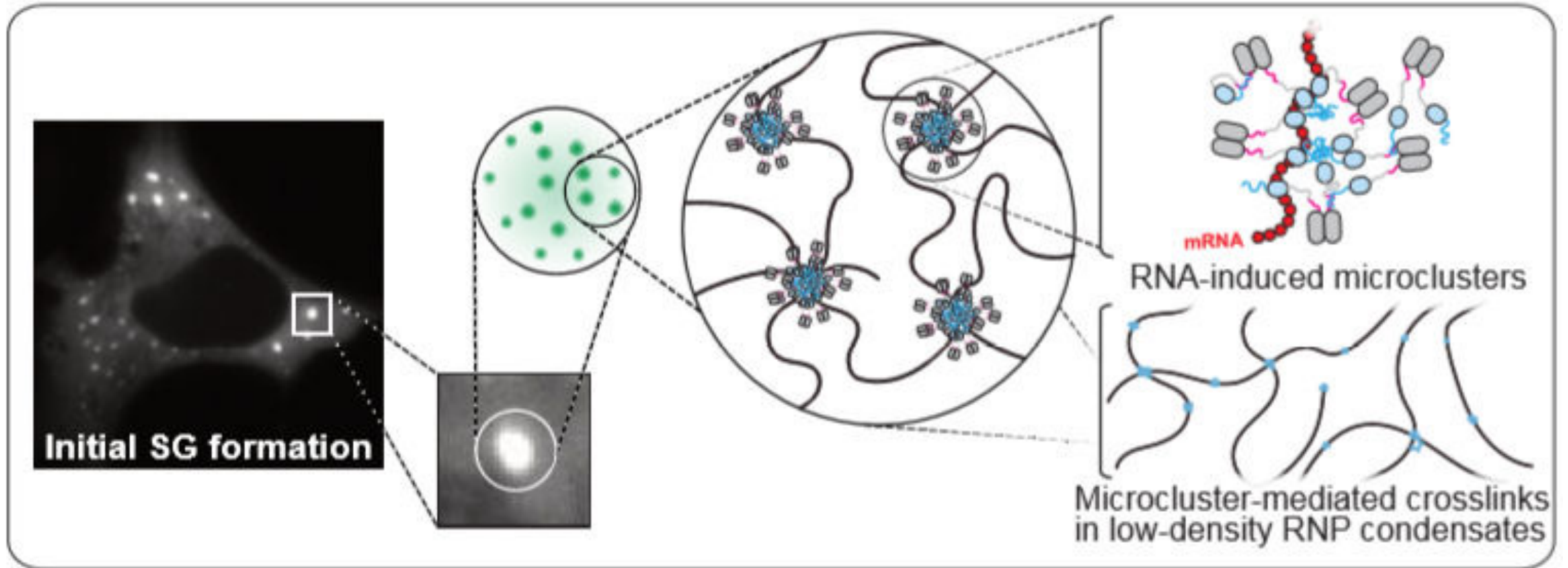
MLO: *membraneless “organelles”*

GRÁNULOS DE ESTRÉS

GRÁNULOS TRANSPORTADORES DE RNA

CUERPOS P

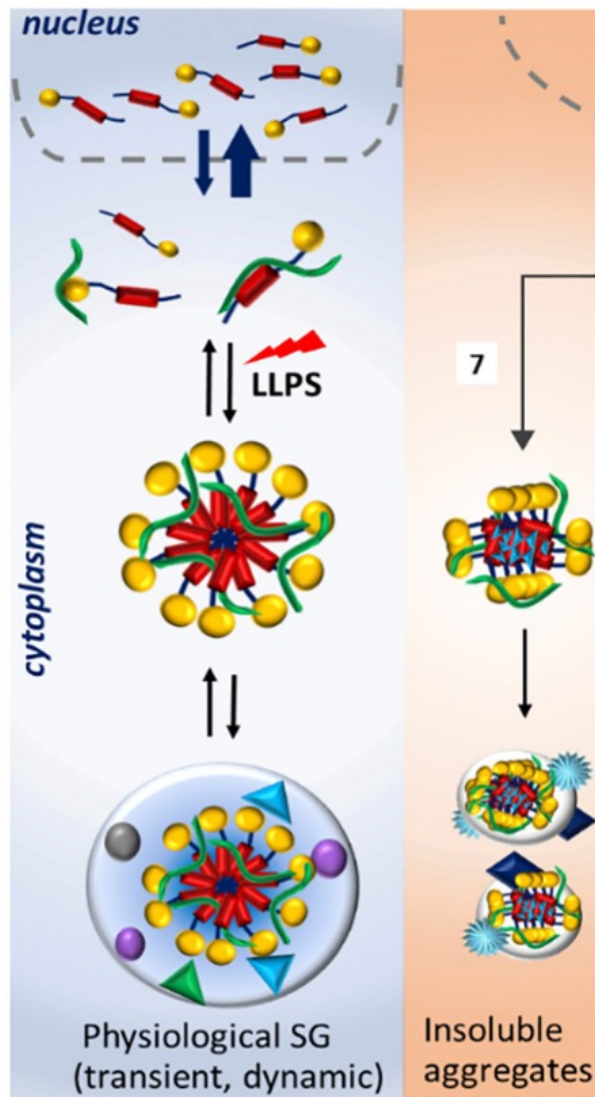
Gránulos de estrés



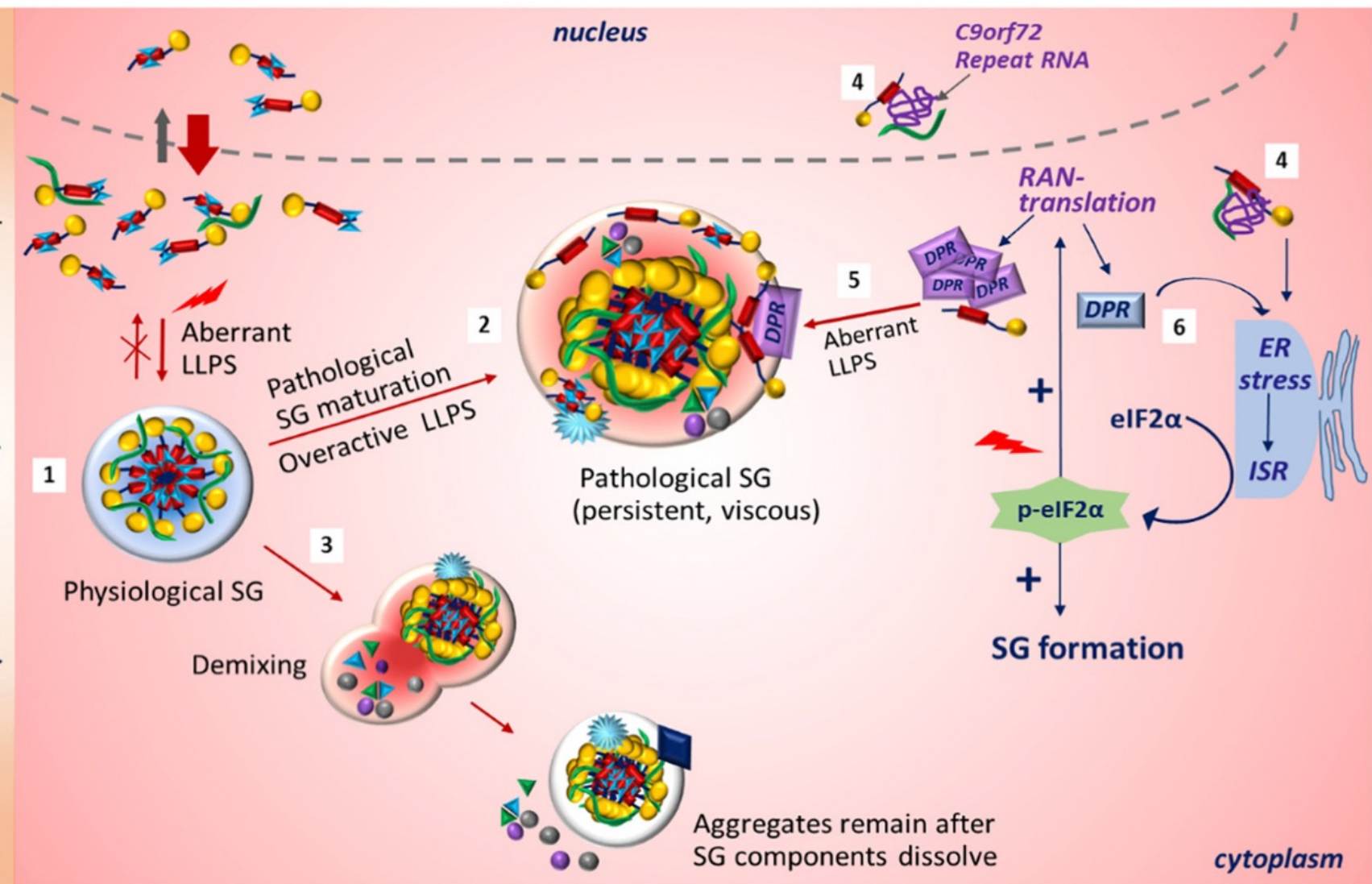
Ahorro de energía y protección del RNA

Gránulos de estrés

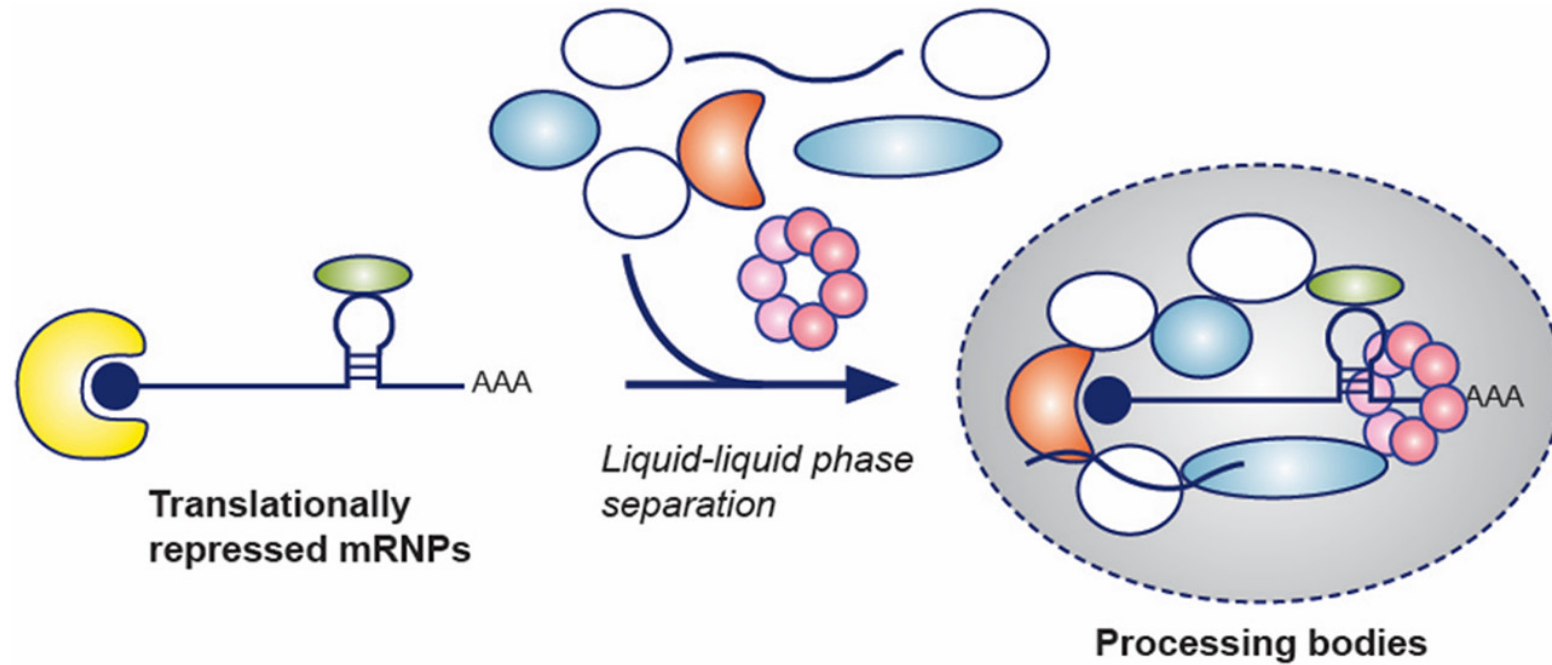
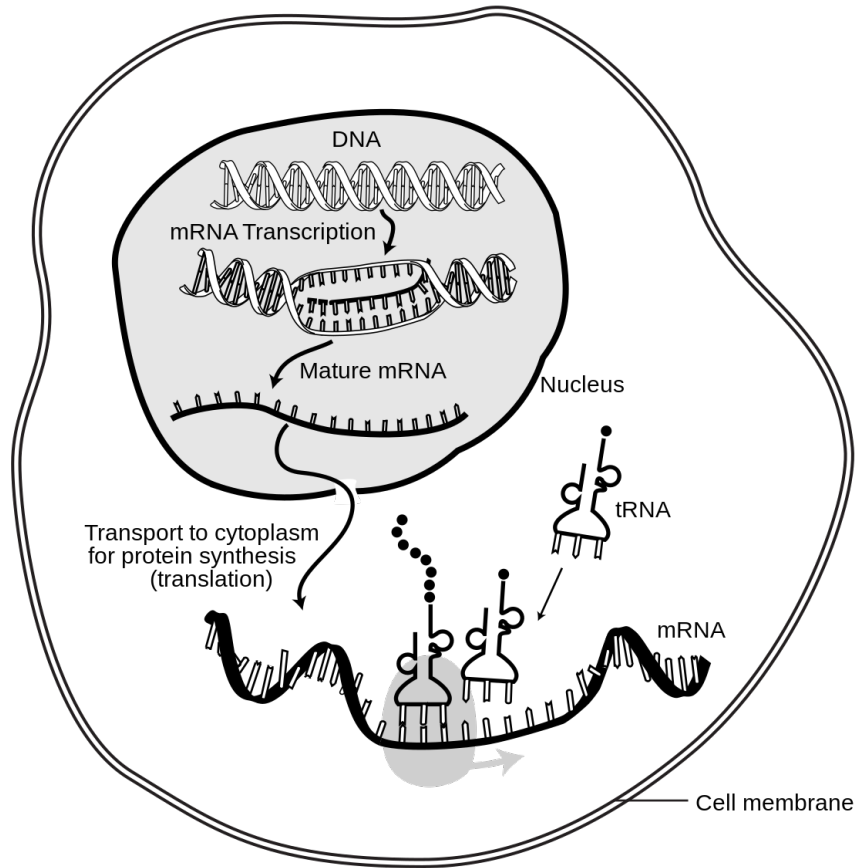
Physiological SG pathway



SG mediated FTD-ALS protein aggregate formation



Gránulos transportadores de RNA y cuerpos de procesamiento (P-bodies)



Funciones reguladoras de la expresión proteica.

Composición del citosol

- **Agua** $\approx$ 70-85 %
- **Proteínas** $\approx$ 15-30 %
 - a) Citoesqueléticas no polimerizadas
 - b) Enzimas:
 - * Biosíntesis (aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos...)
 - * Activación de aminoácidos para síntesis proteica
 - * Modificación de proteínas recién sintetizadas
 - * Glucogenogénesis y glucogenolisis
 - * Glucolisis anaerobia
 - * Fosforilación de proteínas (señalización intracelular - PK)
- ATP, ADP, GTP, ARNm, ARNt, nucleótidos.
- Moléculas de señalización intracelular (AMPc, GMPc, Ca_i^{++} , IP_3 , PK)
- Metabolitos, glúcidos, lípidos, iones (K^+), sales, ...

pH LIC $\approx$ 6,8 – 7,2 (ligeramente más neutro que pH de LEC $\approx$ 7,4)

- Las numerosas moléculas que contiene intervienen en
 - Metabolismo celular**
 - Homeostasia celular**
 - Señalización celular**

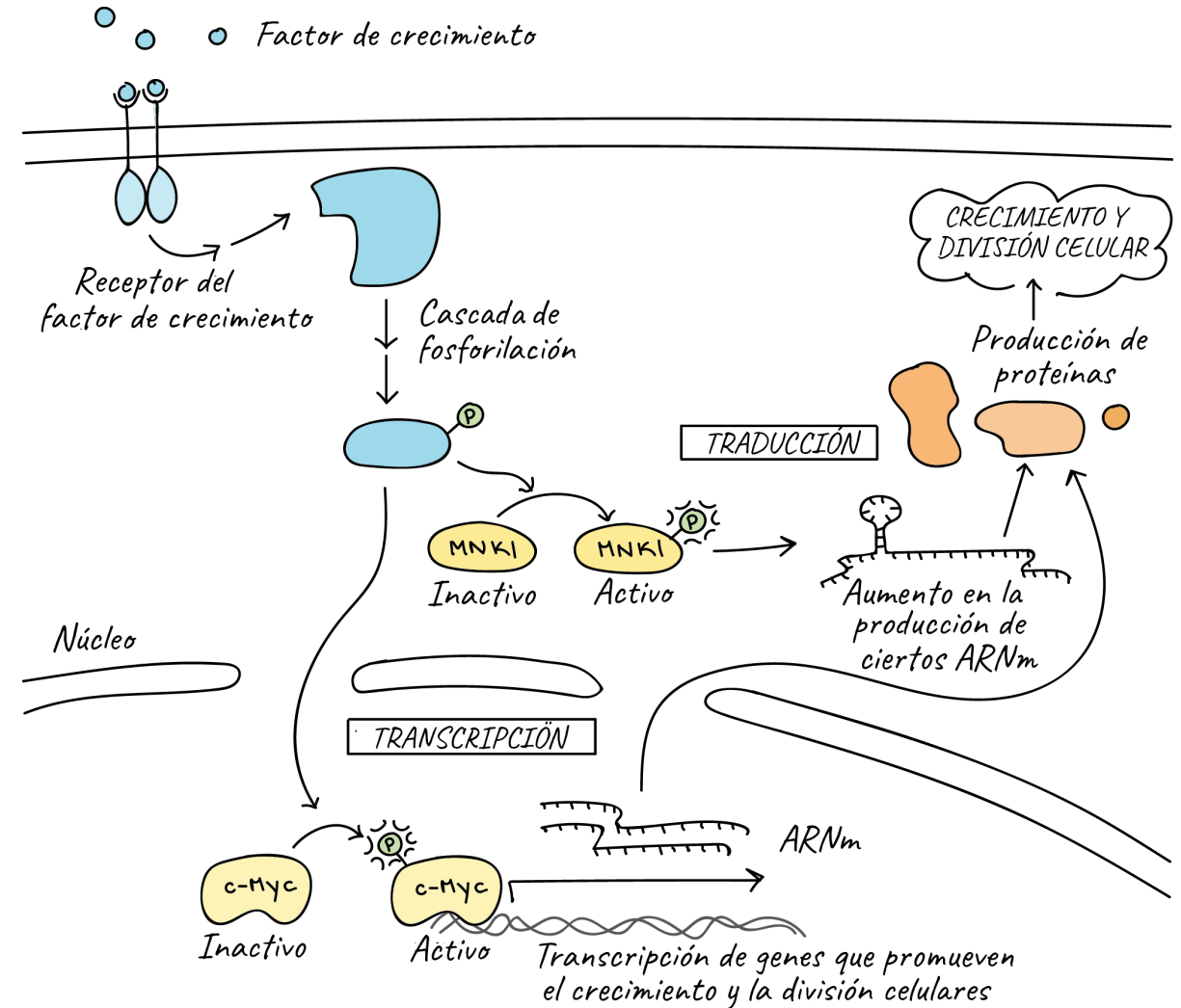
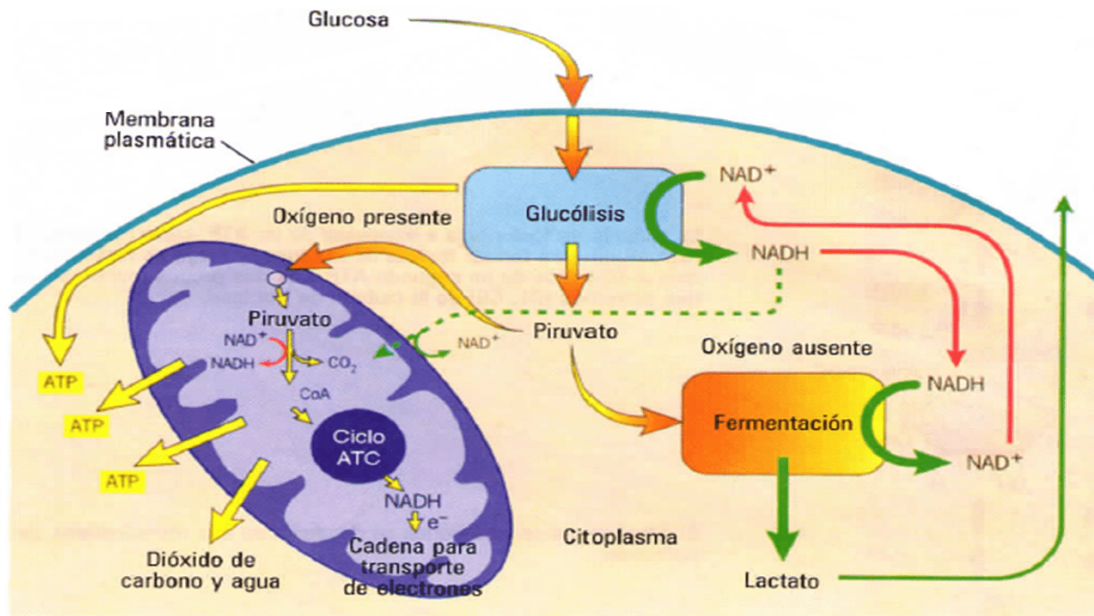
Composición del citosol

Concentraciones típicas de iones en citosol y líquido extracelular

Iones	Concentración en LIC (<u>mM</u>)	Concentración en LEC (<u>mM</u>)
Potasio	140	5
<u>Sodio</u>	5-15	145
<u>Cloruro</u>	5	110
<u>Bicarbonato</u>	12	29
<u>Aminoácidos</u> en proteínas	138	9
<u>Magnesio</u>	0.5	1.5
<u>Calcio</u>	< 0.0002	1.8

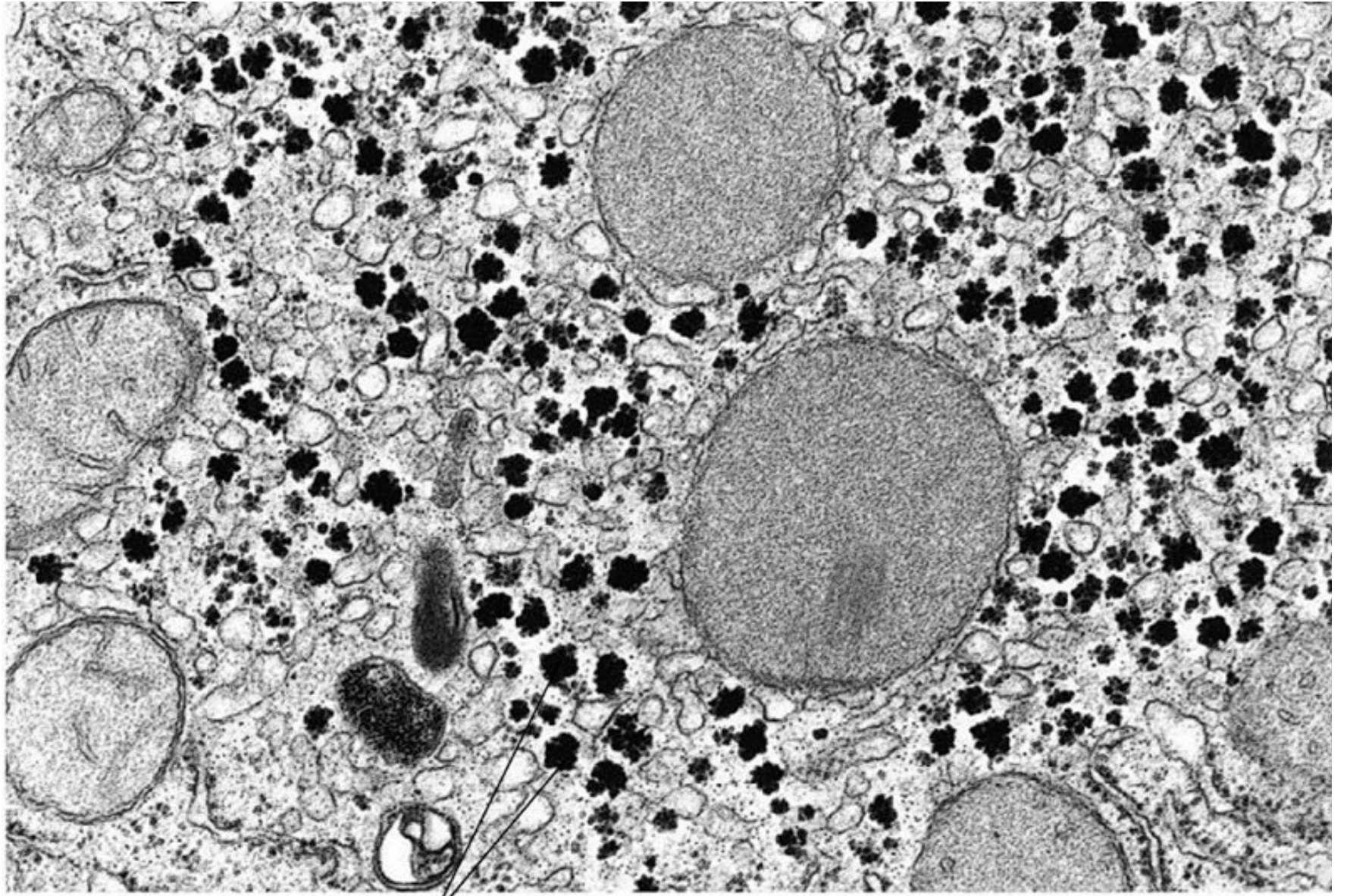
Funciones del citosol

Soporte estructural, el transporte de sustancias, la realización de procesos metabólicos y la transducción de señales.



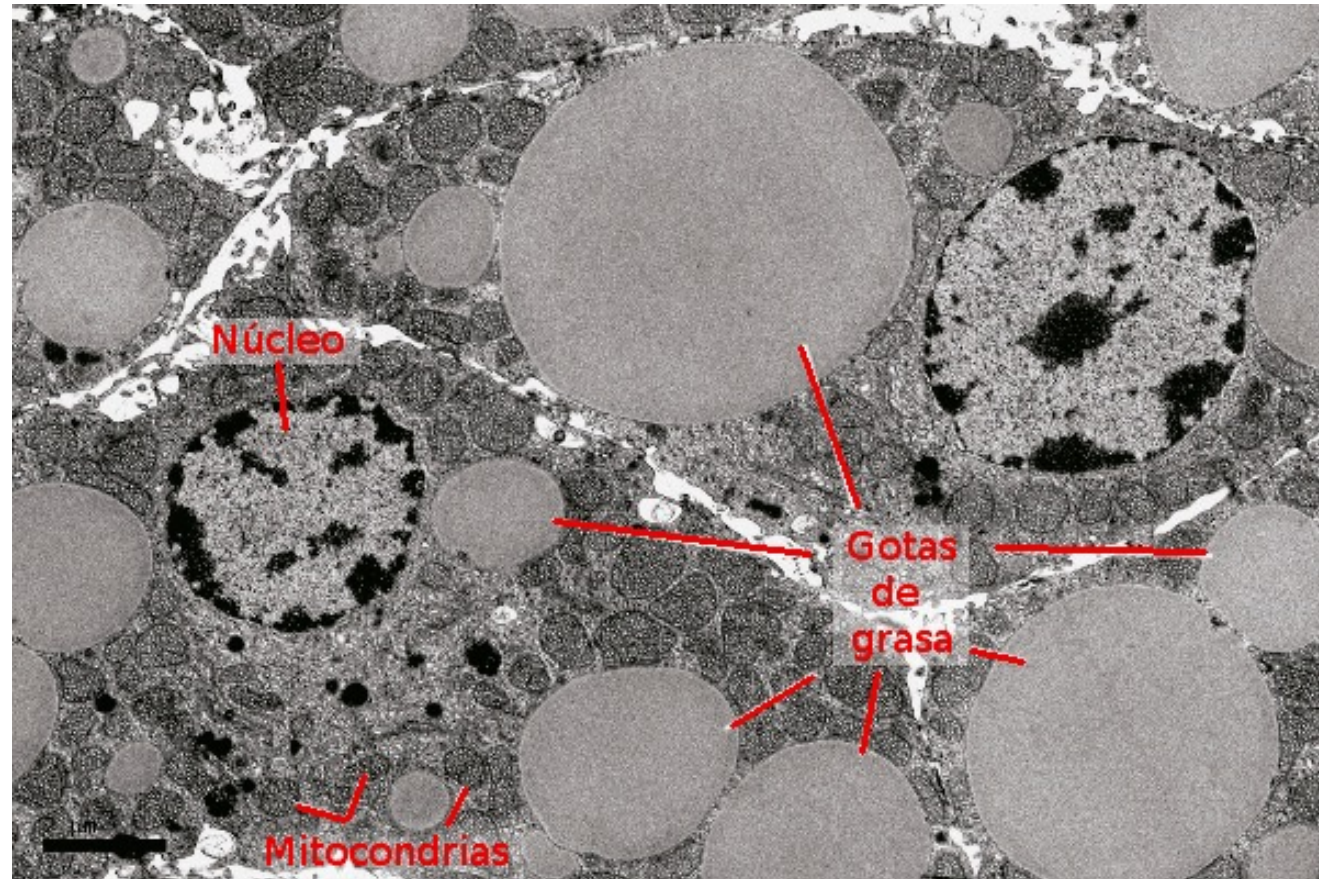
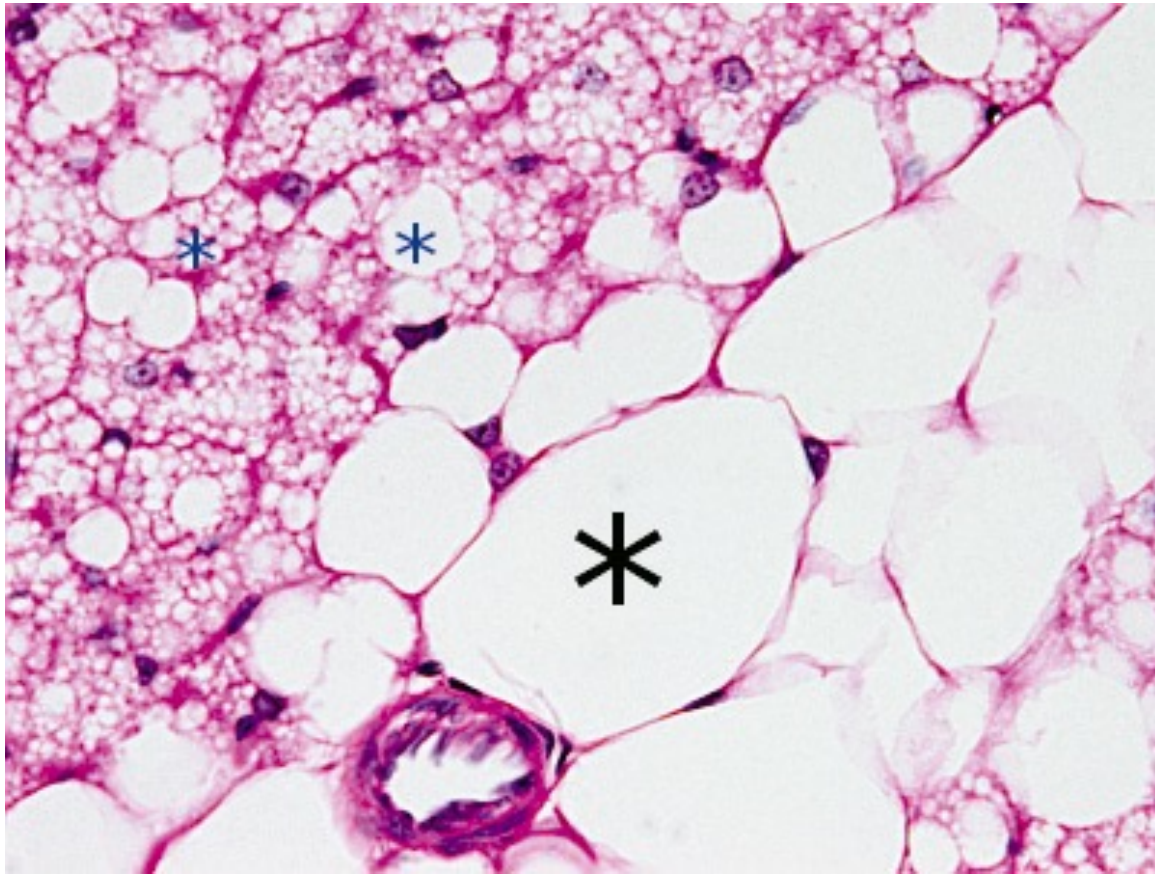
Inclusiones celulares: no tienen membrana

- Lípidos
- Glúcidos
- Proteínas
- Pigmentos



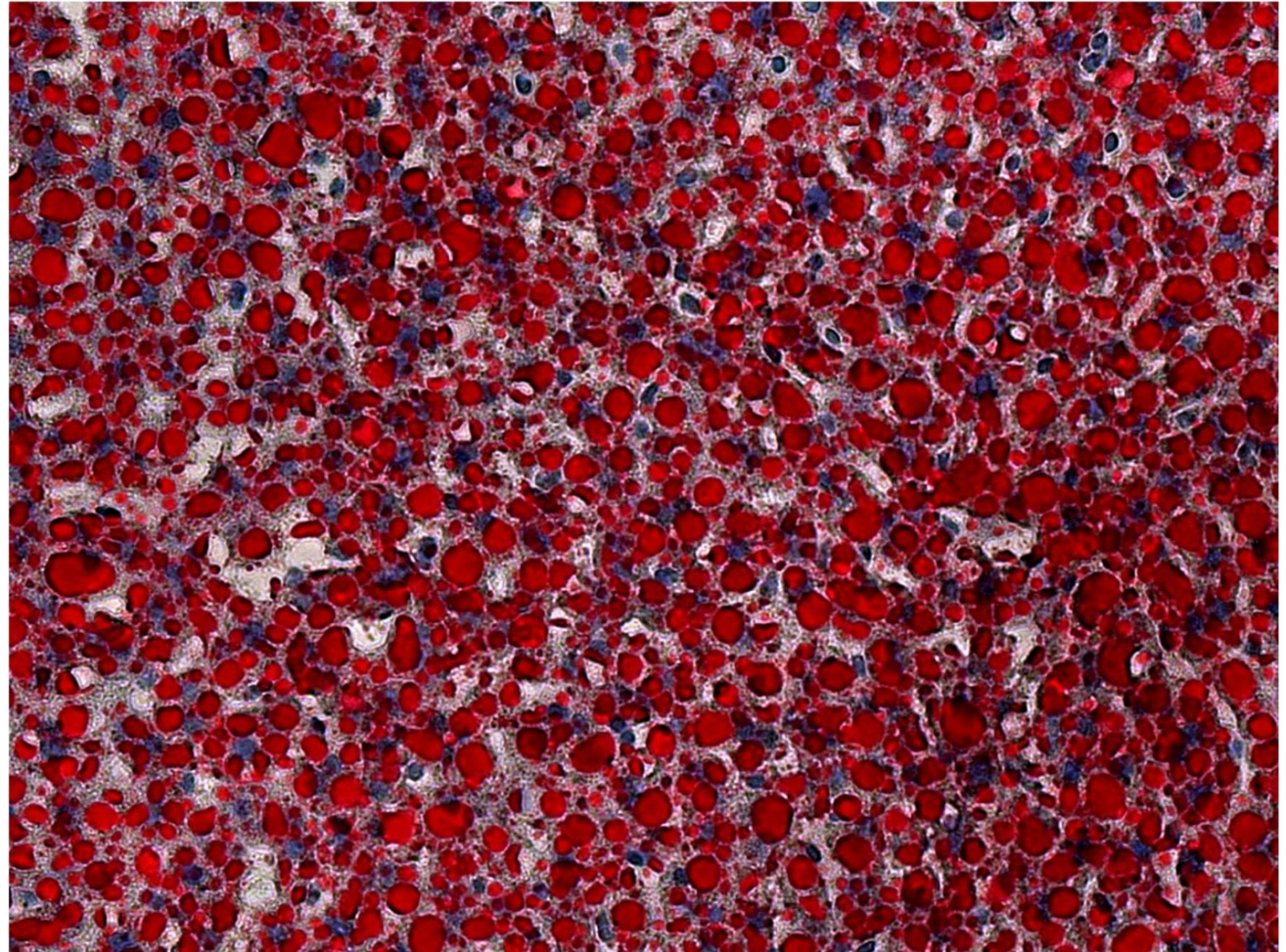
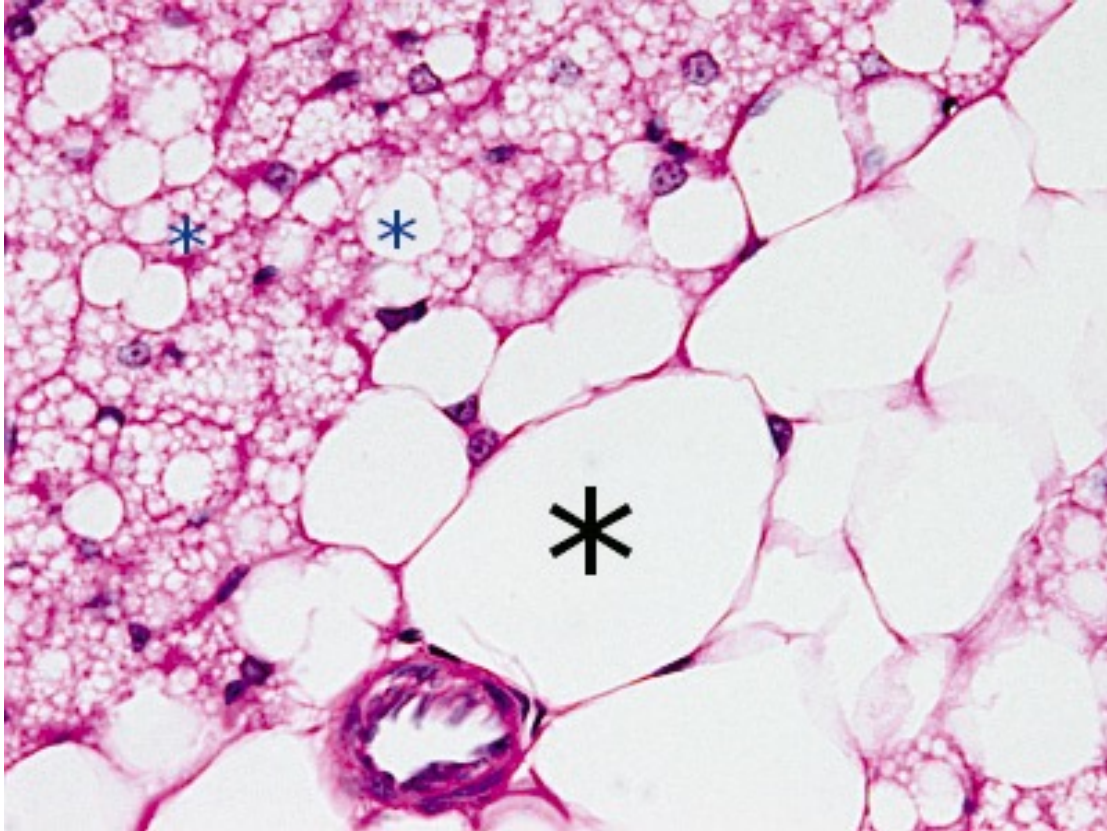
Inclusiones celulares: lípidos

- Adipocitos, hepatocitos, musculares...

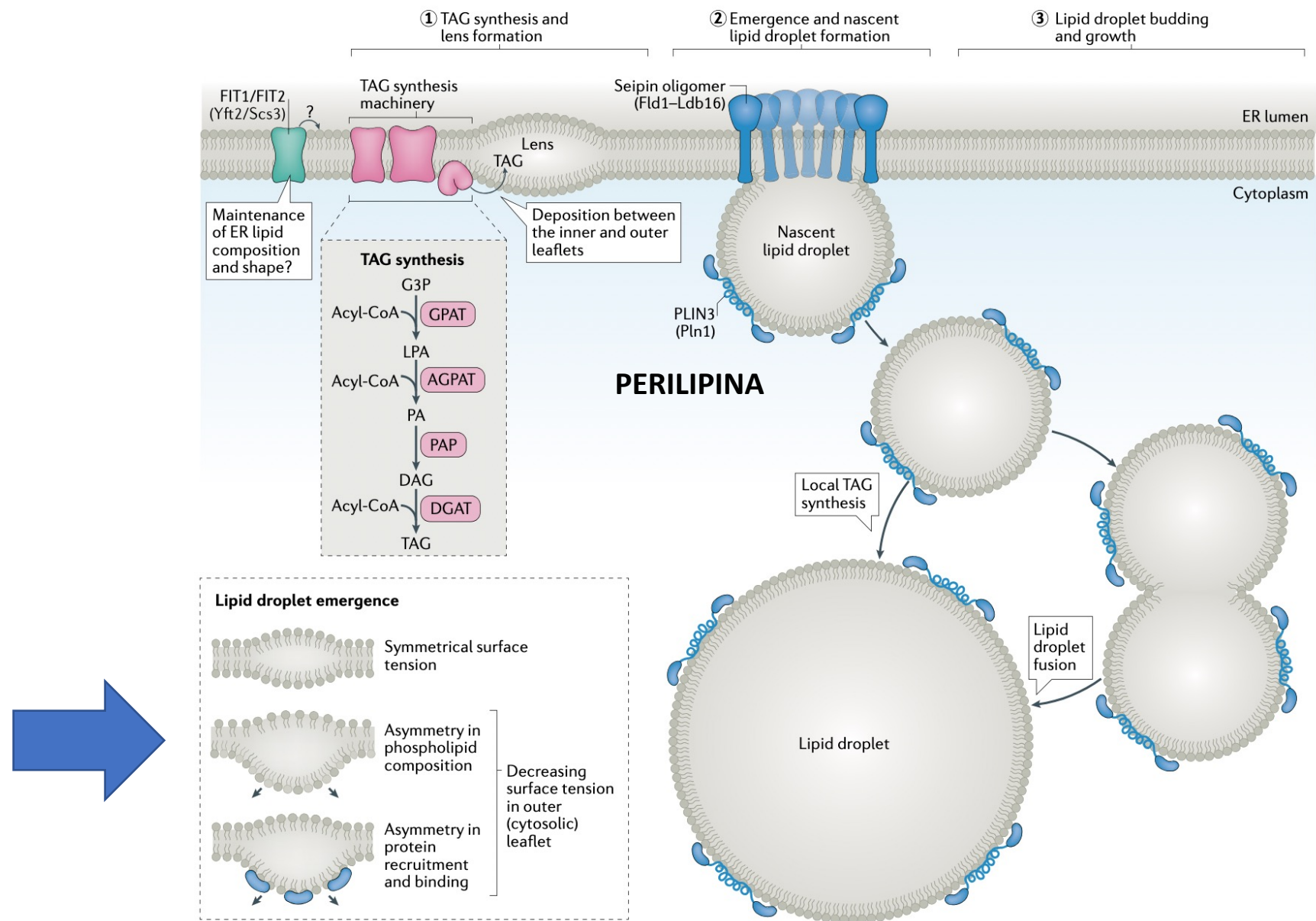


Reserva de energía, síntesis de componentes de membrana, metabolismo lipídico...

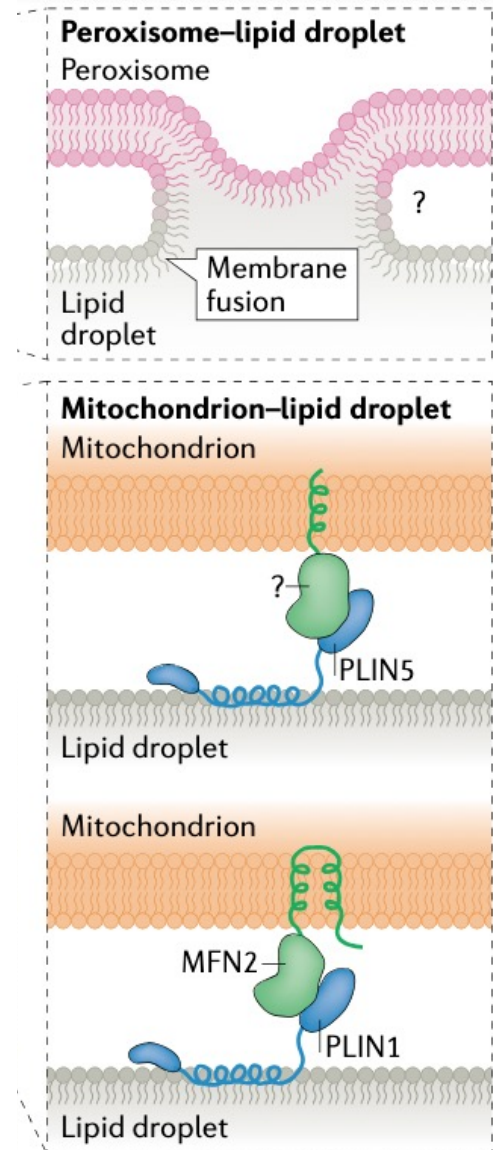
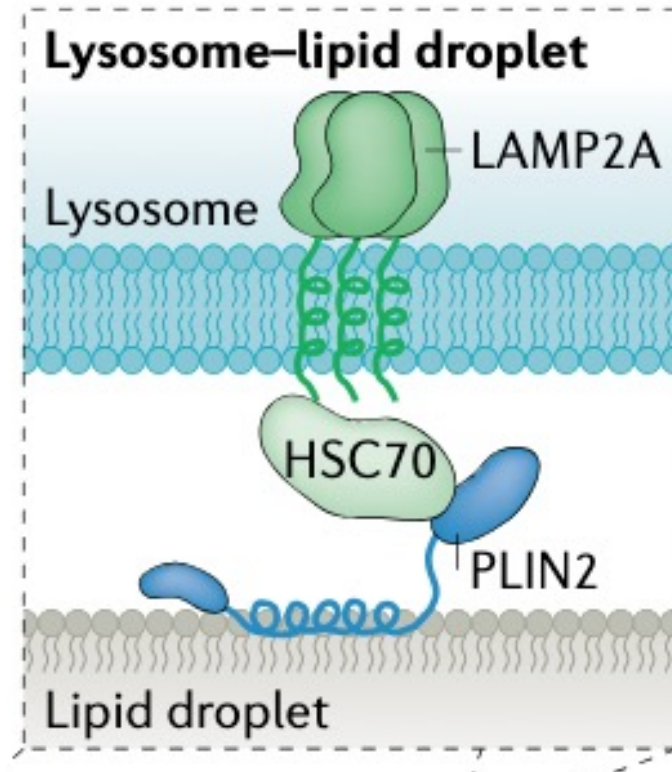
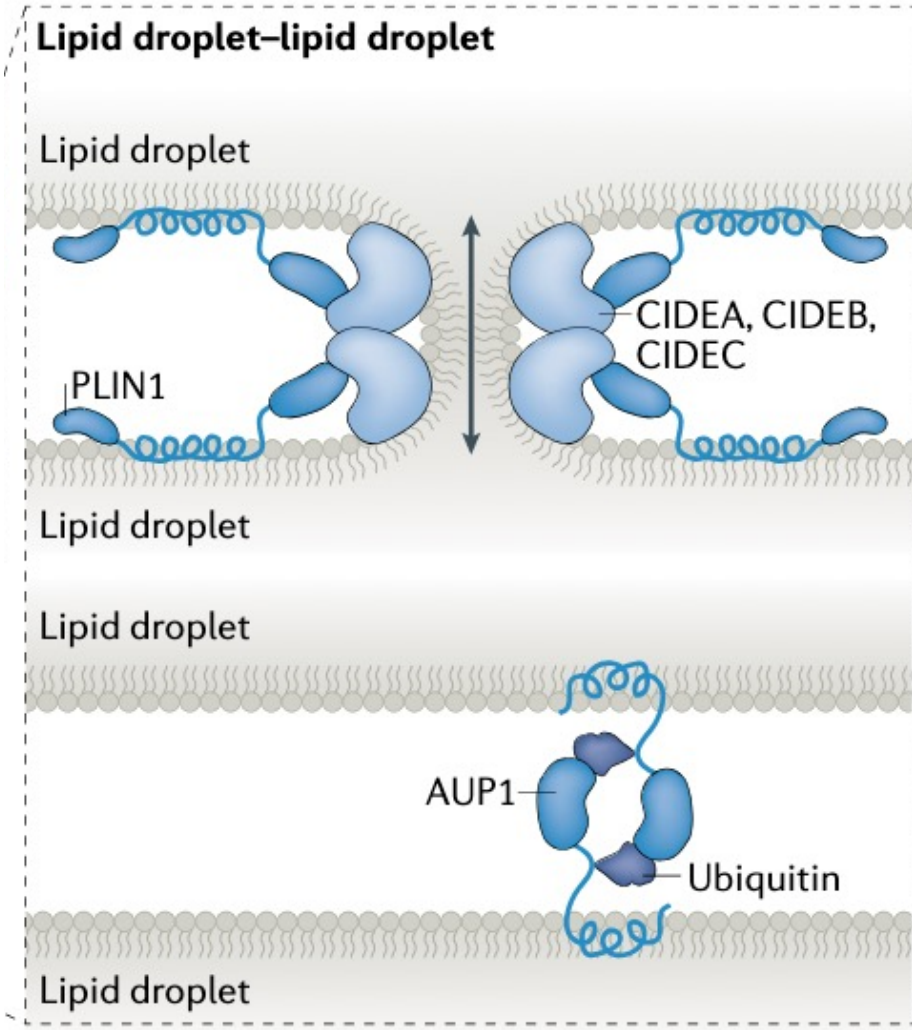
Inclusiones celulares: lípidos



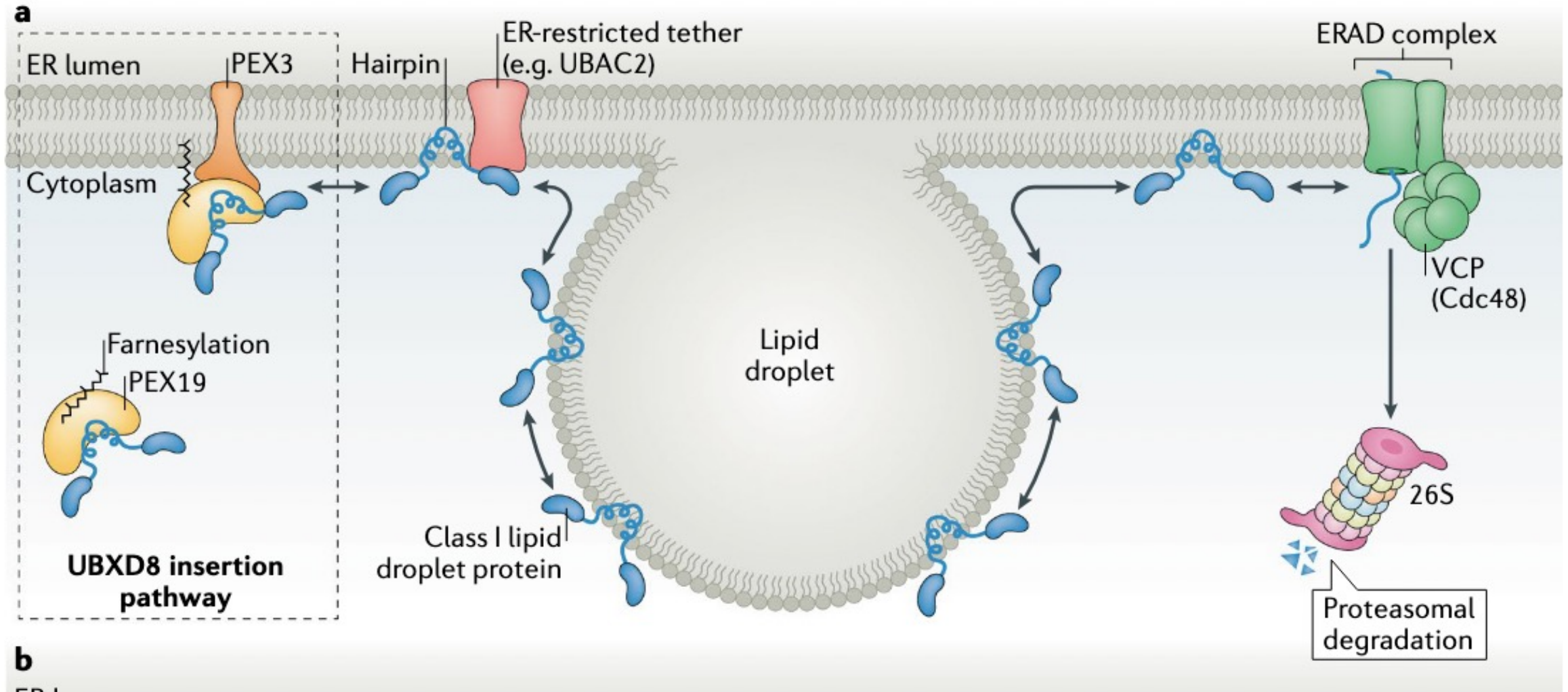
Lípidos neutros rodeados de lípidos antipáticos con proteínas asociadas



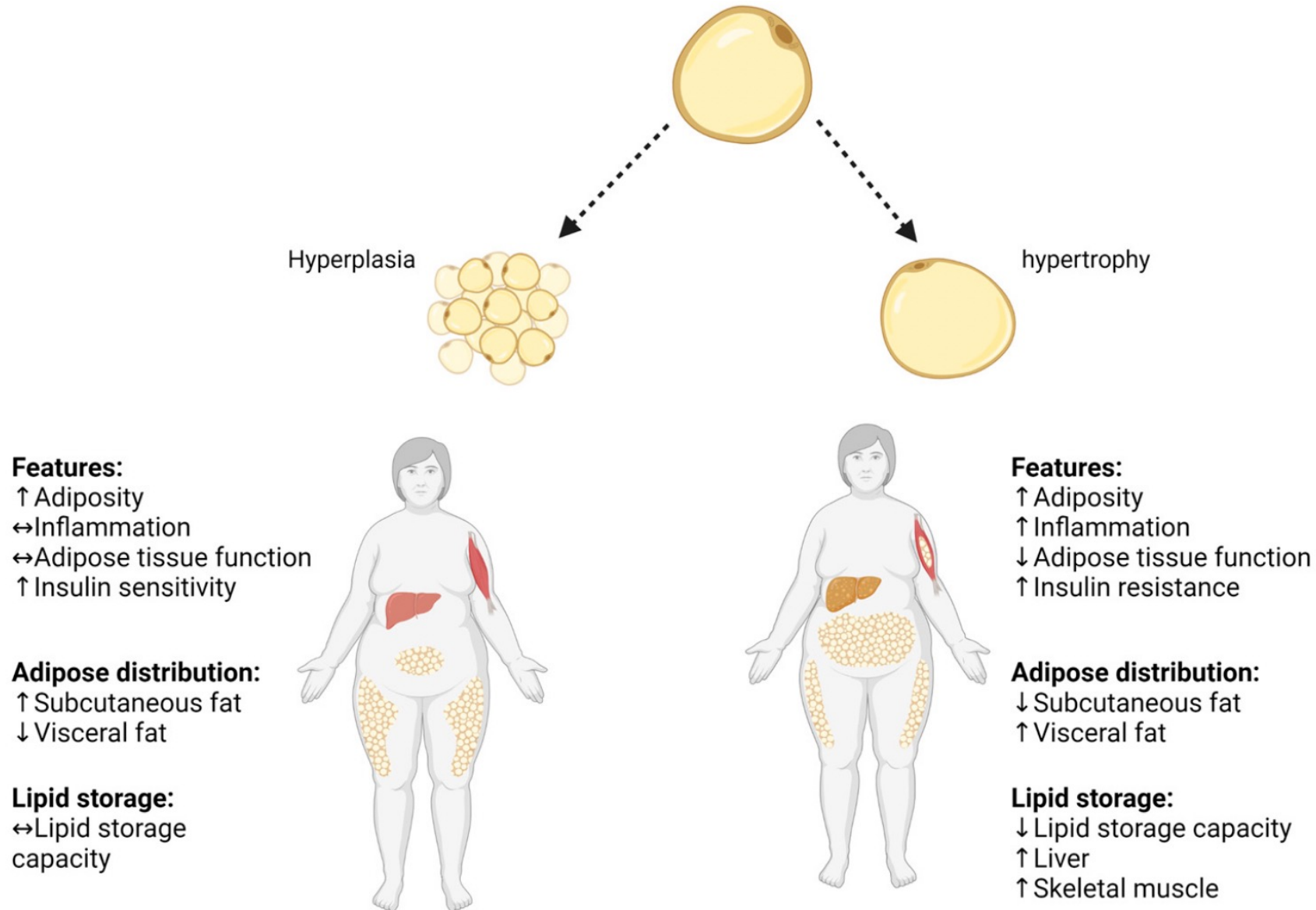
Lípidos neutros rodeados de lípidos antipáticos con proteínas asociadas



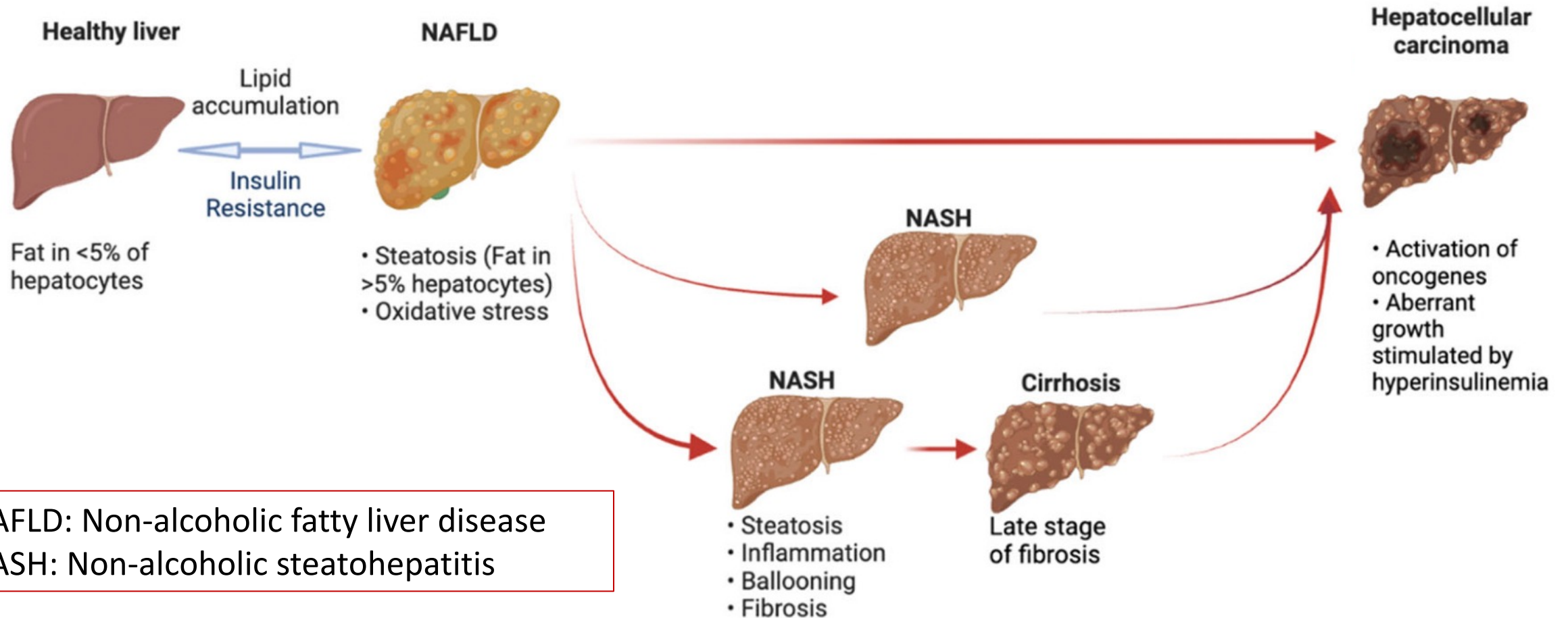
Lípidos neutros rodeados de lípidos antipáticos con proteínas asociadas



Desregulación de las gotas lipídicas

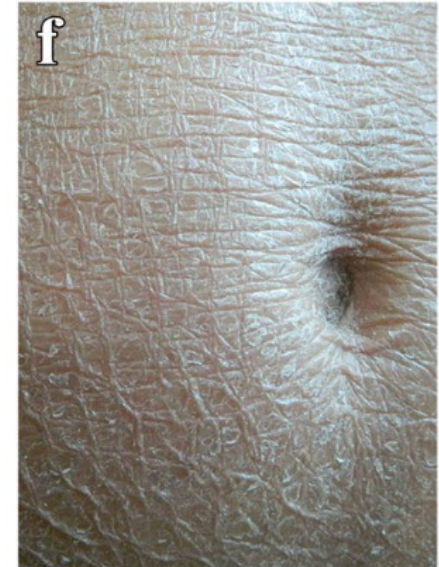
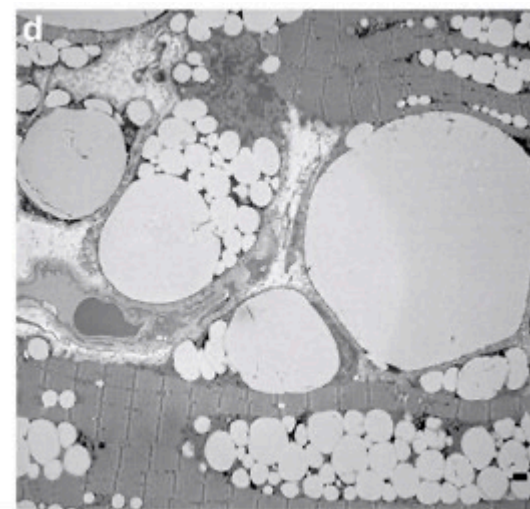
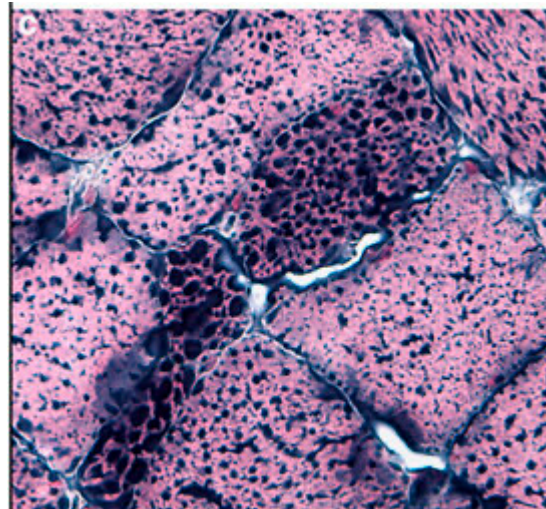
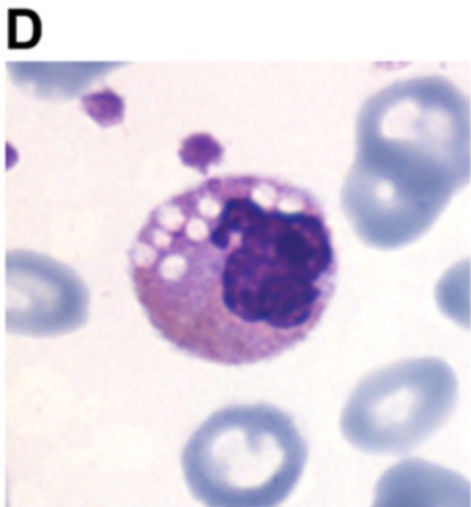
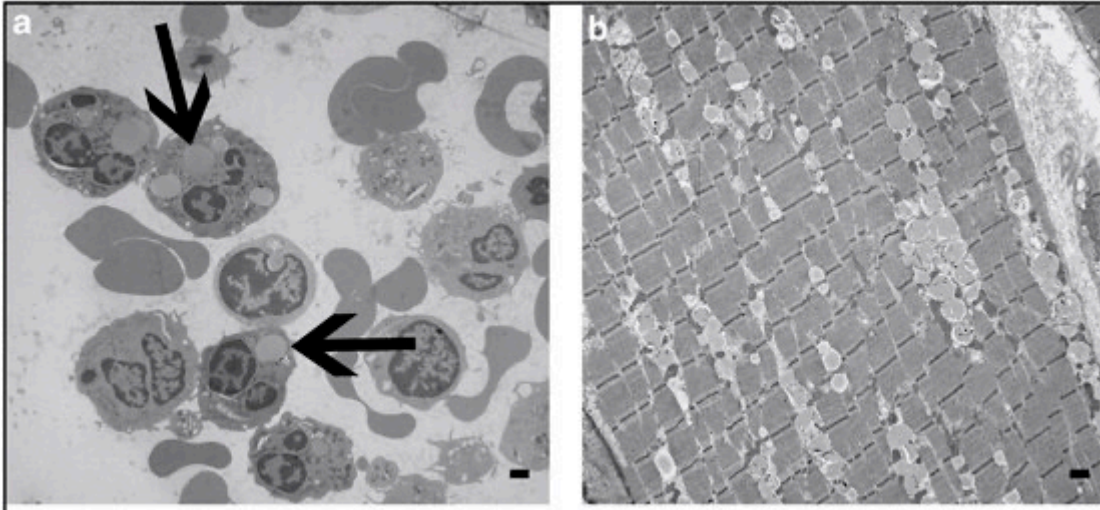


Desregulación de las gotas lipídicas



Desregulación de las gotas lipídicas

Enfermedad por almacenamiento de lípidos neutros (NLSD)



Desregulación de las gotas lipídicas

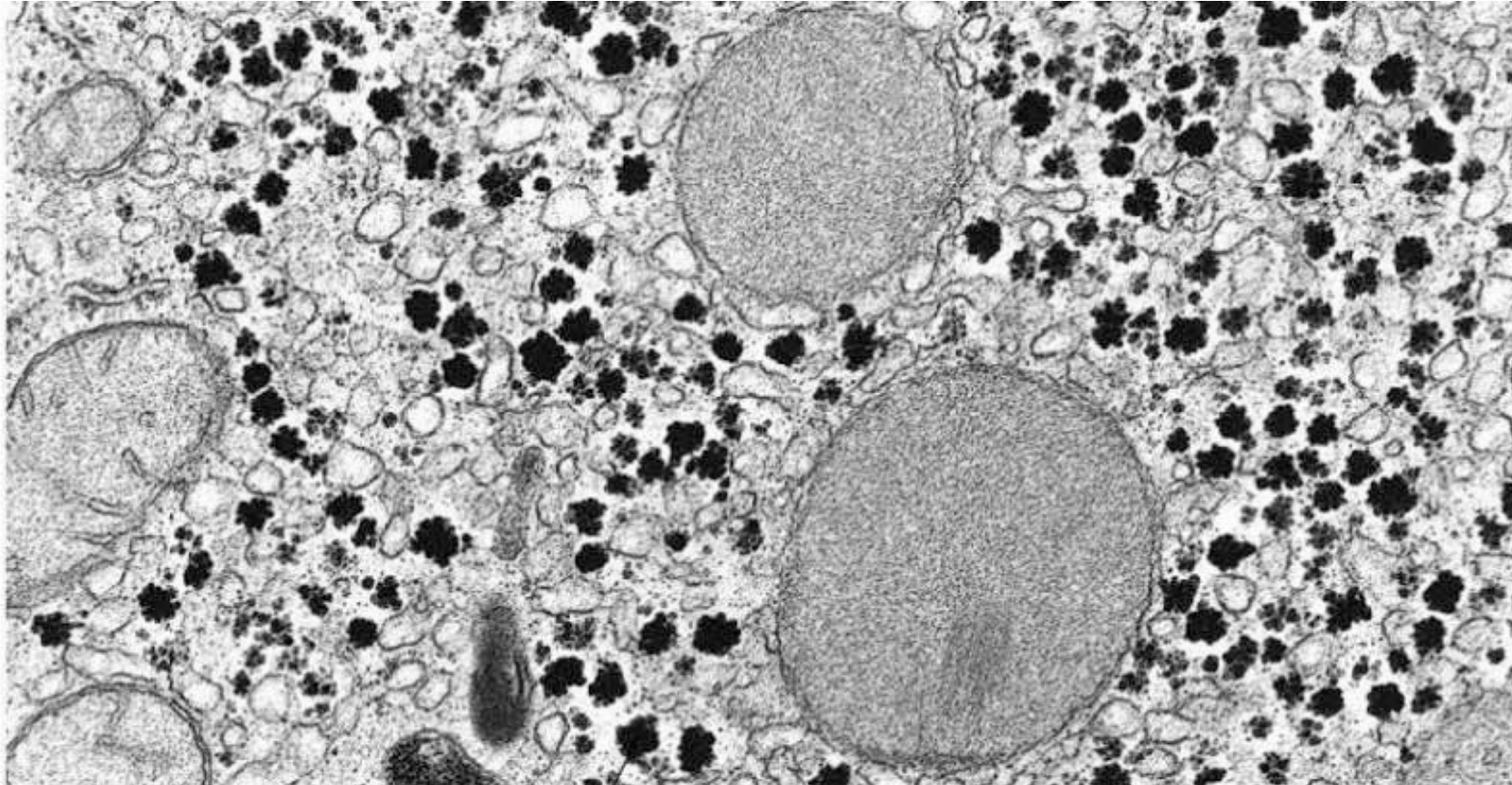
Lipodystrophies

- Loss of sc fat
 - Primary event
 - Ectopic storage of fat
- Severe hypertriglyceridemia
 - Acute pancreatitis
- Heart disease
 - Atherogenic lipid profile
 - Atherosclerosis
 - Cardiomyopathy
 - Arrhythmias
- Liver disease
 - Increased *de novo* lipogenesis
 - MAFLD
 - MASH
 - Cirrhosis
- Neuromuscular disease
 - Bone cysts
 - Myopathy
- High mortality
 - Cardiovascular disease
 - Sepsis
 - Liver disease
 - Kidney disease



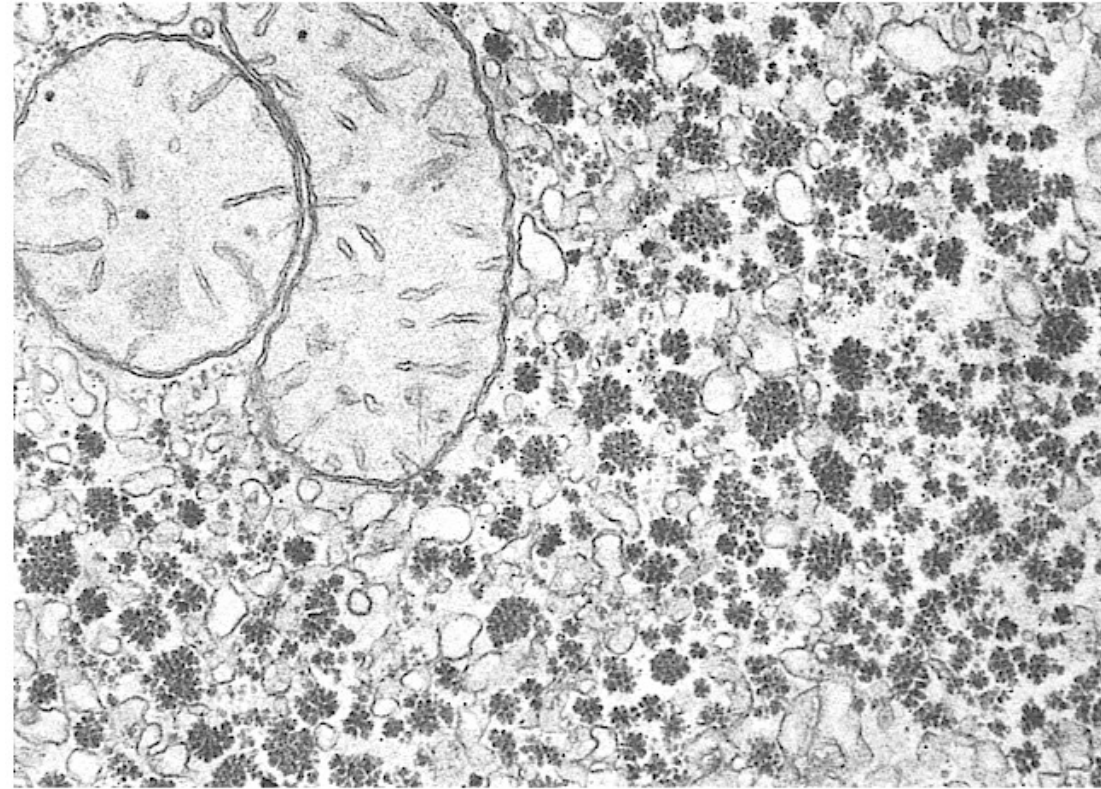
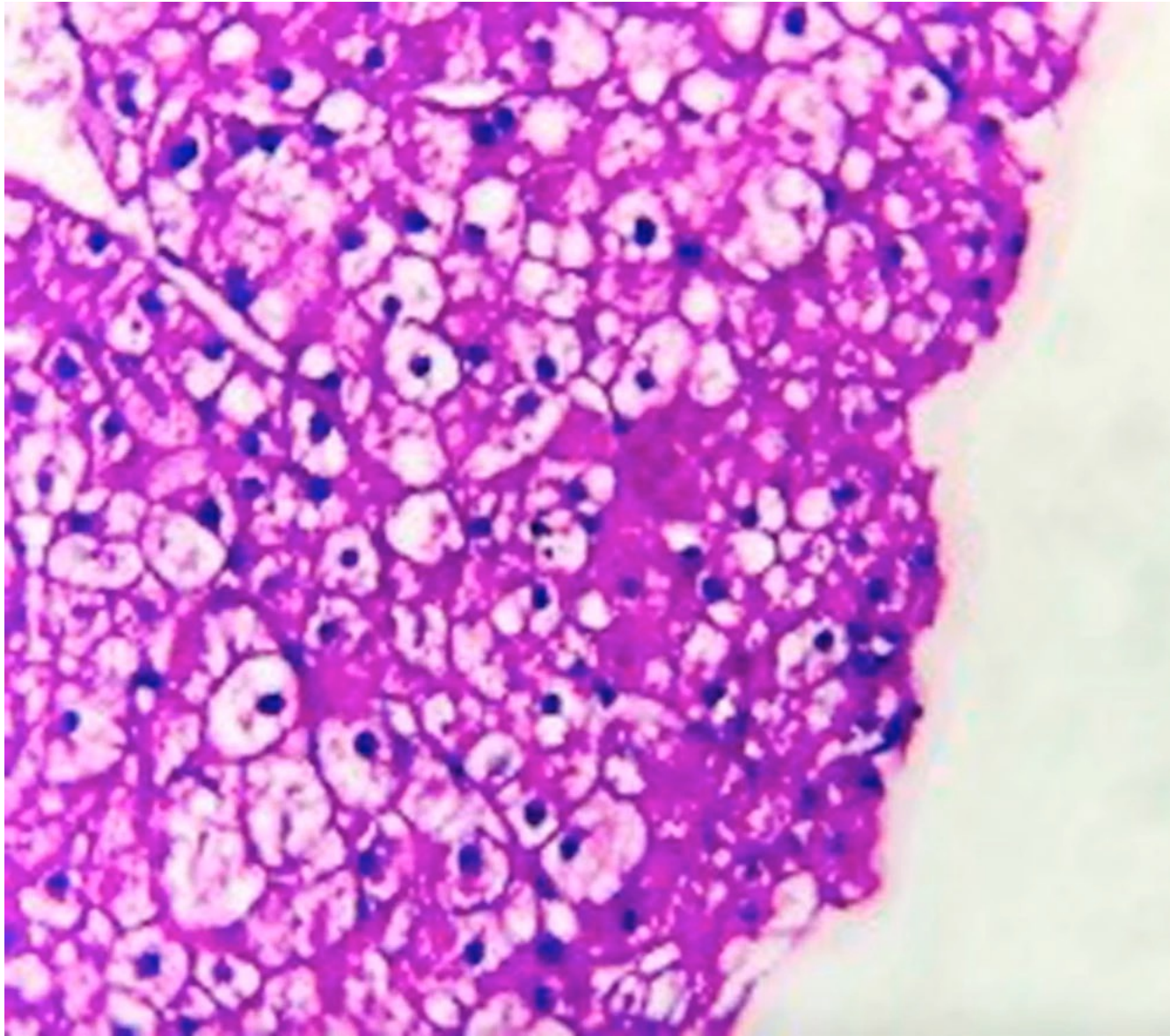
- Leptin deficiency
 - Hyperphagia
 - Core pathophysiology leading to metabolic abnormalities
- Severe insulin resistance
 - Poorly controlled diabetes
 - Complications of diabetes
- Kidney disease
 - Proteinuria
 - End stage renal disease
- Reproductive abnormalities in females
 - Failure in puberty progression
 - Hyperandrogenism
 - Polycystic ovaries
 - Infertility
- Autoimmunity in acquired cases
 - Autoimmune hepatitis
 - Glomerulonephritis
- Poor quality of life
 - Low self esteem
 - High rates of depression and anxiety
 - Attention deficit problems
 - Fatigue
 - Pain

Inclusiones de glúcidos: glucógeno



Partículas isodiamétricas - gránulos α y β

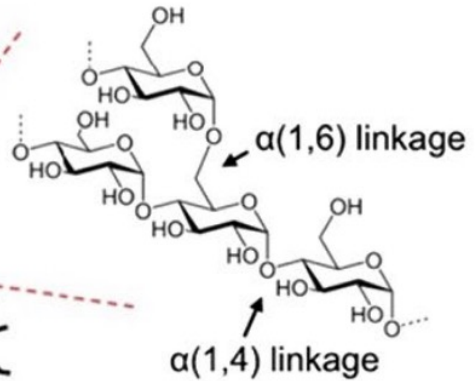
Inclusiones de glúcidos: glucógeno



Inclusiones de glúcidos: glucógeno

(A)

Level 1: Glycogen chains
Glucose units connected by $\alpha(1,4)$ glycosidic linkages

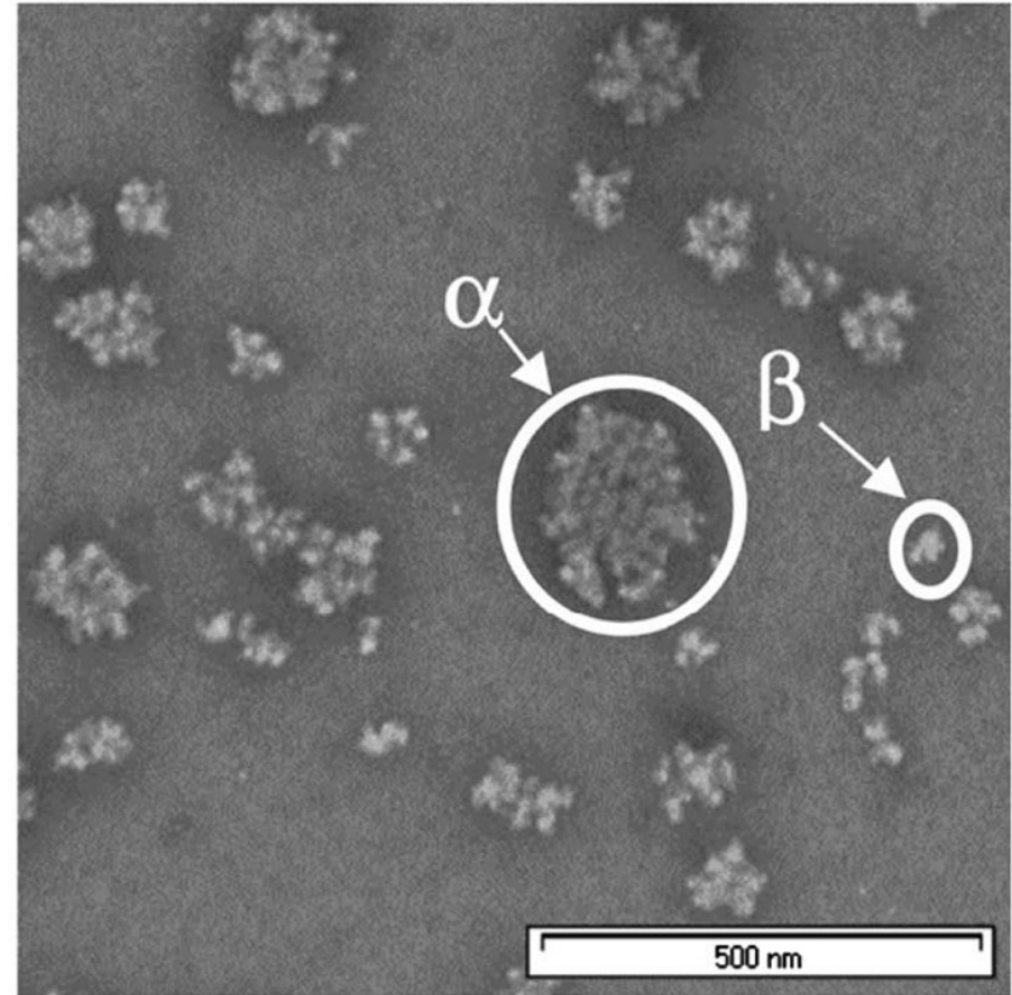


Glycogenin

Level 2: Glycogen β particle
Chains connected by $\alpha(1,6)$ glycosidic linkages

Level 3: Glycogen α particle
 β particles glued together by possibly protein bonding

(B)



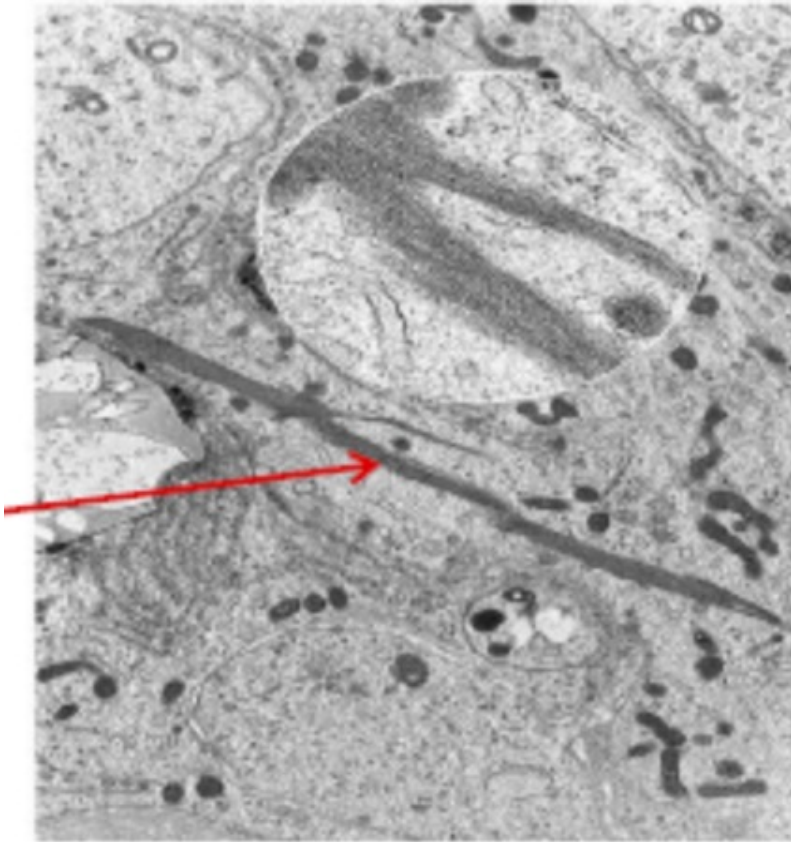
Inclusiones de glúcidos: glucógeno

TRASTORNOS POR DEPÓSITO DE GLUCÓGENO

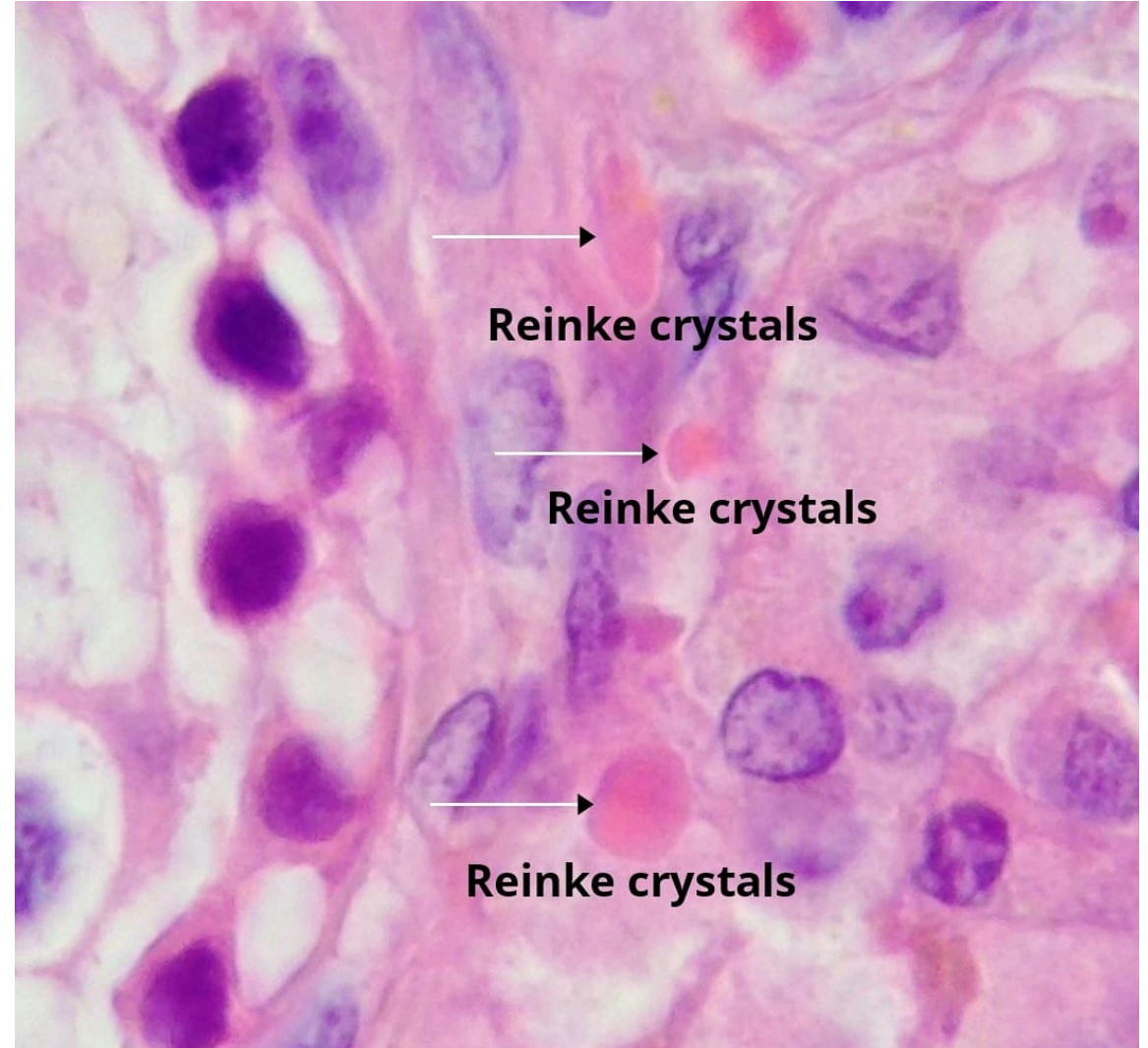
Tipo	Enzima deficiente	Alteración morfológica	Signos clínicos
Enfermedad de von Gierke	Glucosa-6-fosfatasa	Acumulación de glucógeno en hepatocitos y T. corticales renales	↑ tamaño órganos Hipoglucemia
Síndrome de McArdle	Glucógeno Fosforilasa muscular	Acumulación de glucógeno en músculo esquelético	Calambres y fatiga intensa tras ejercicio.
Enfermedad de Pompe	α-glucógeno oxidasa lisosomal	Acumulación de glucógeno lisosómico en hepatocitos	↑ tamaño corazón e hígado (Cardiomegalia y hepatomegalia)

Inclusiones proteicas: subproductos metabólicos

Cristales de Charcot-Böttcher

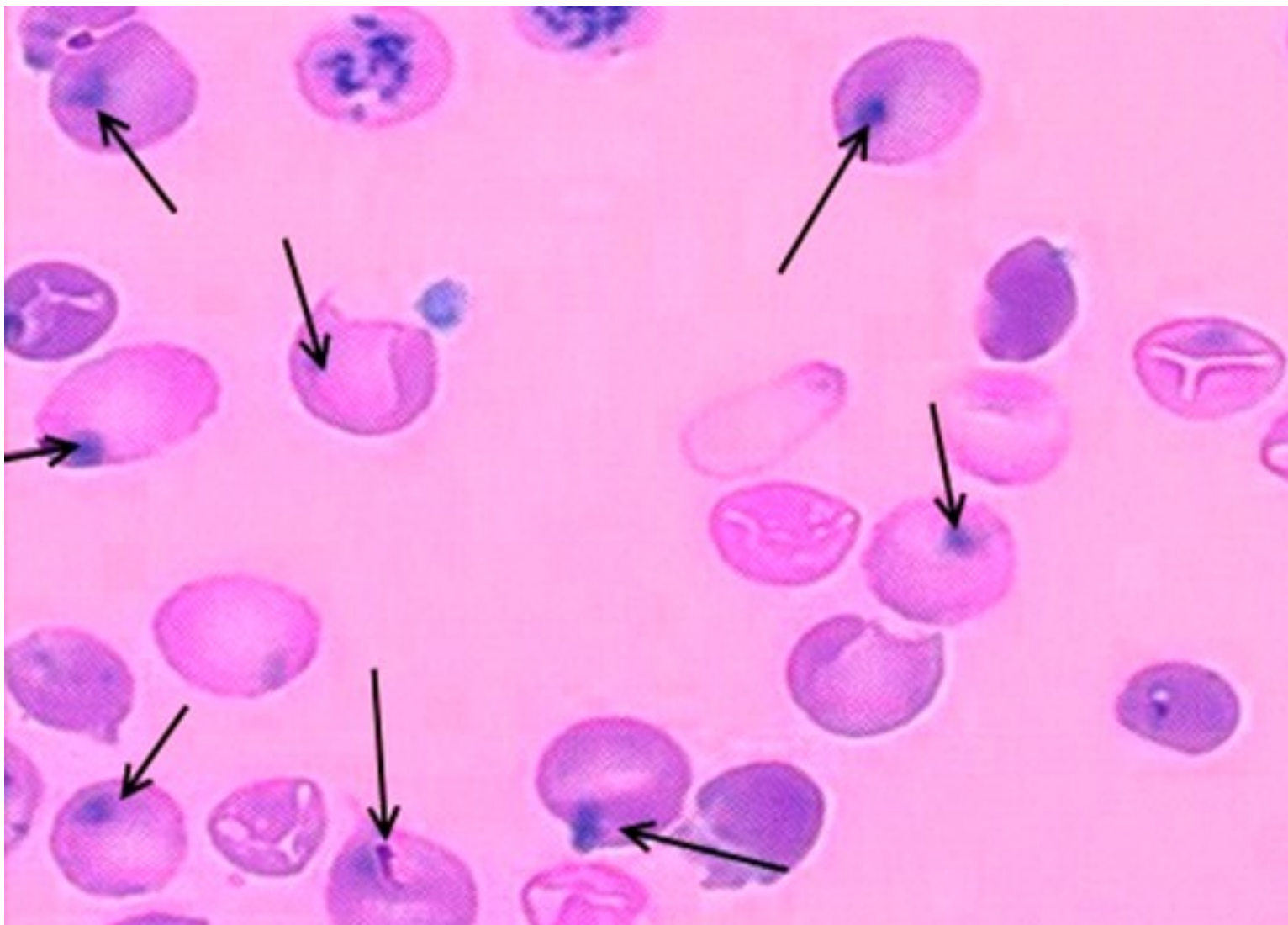


Células de Sertoli



Células de Leyding

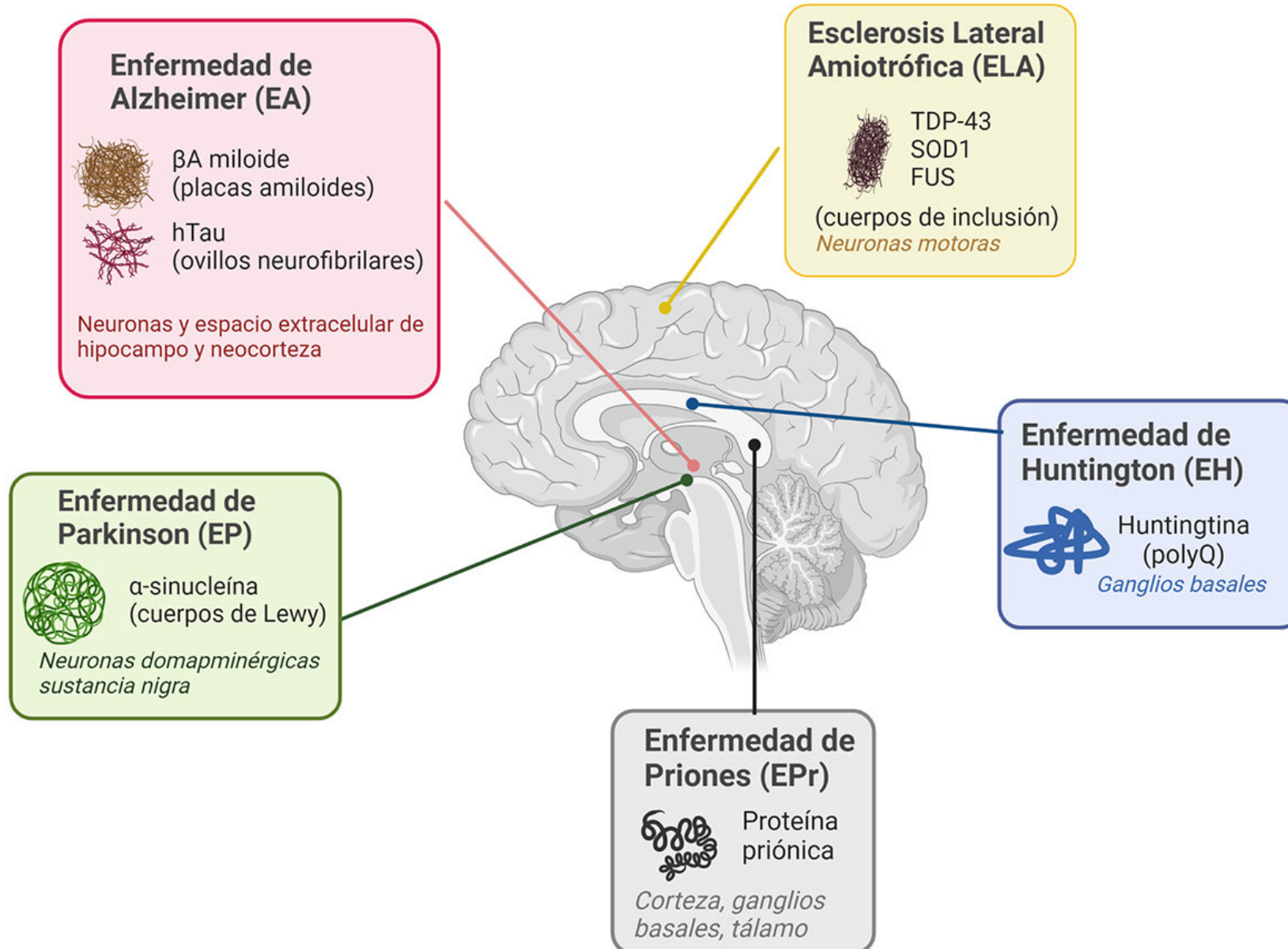
Inclusiones proteicas



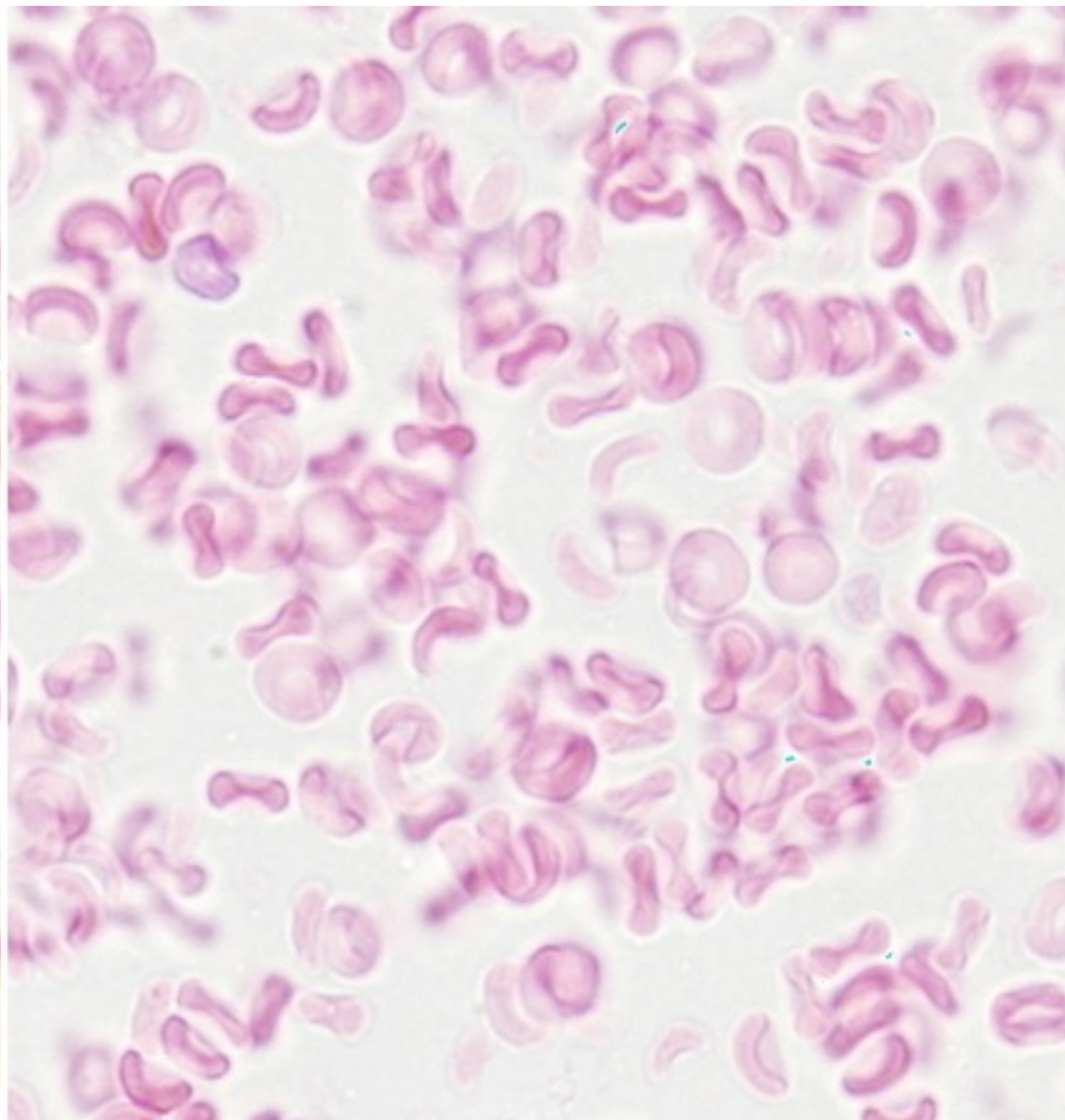
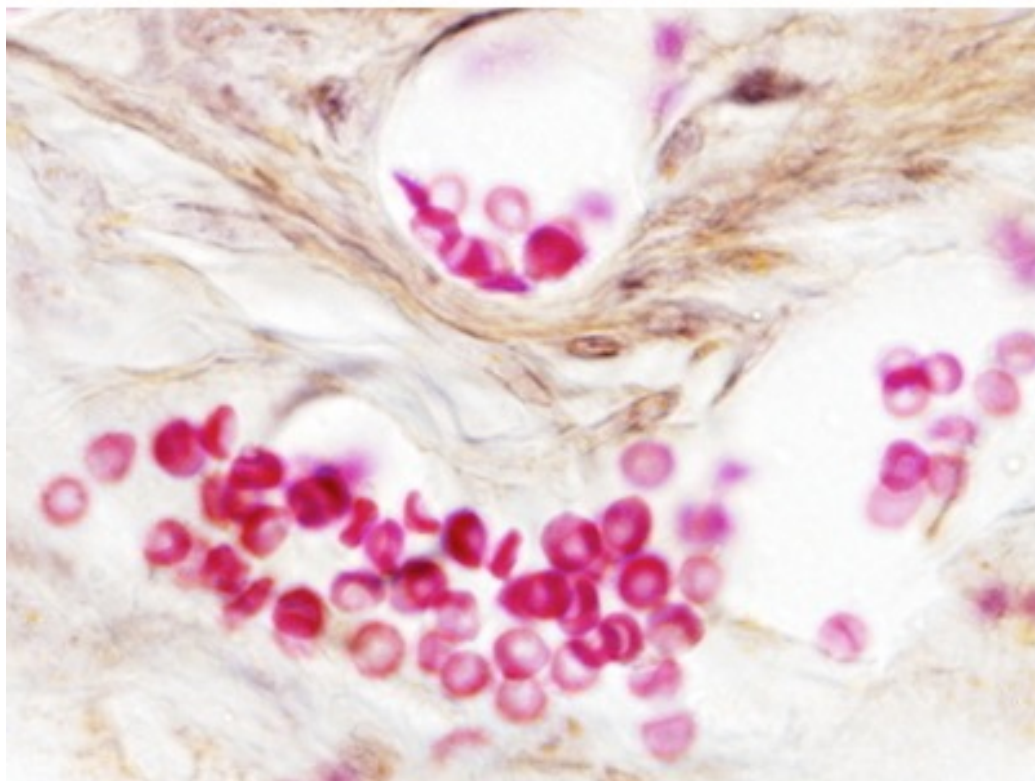
Síndromes talasémicos
Hemoglobinas inestables

Cuerpos de Heinz

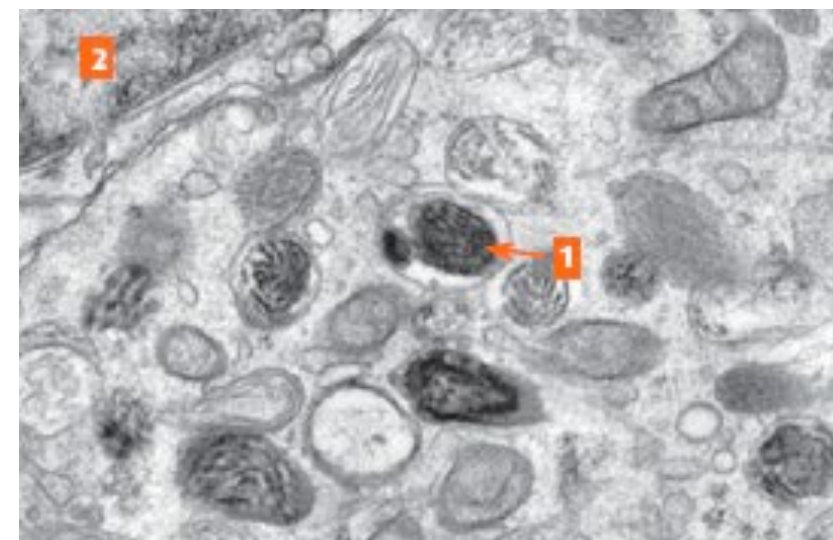
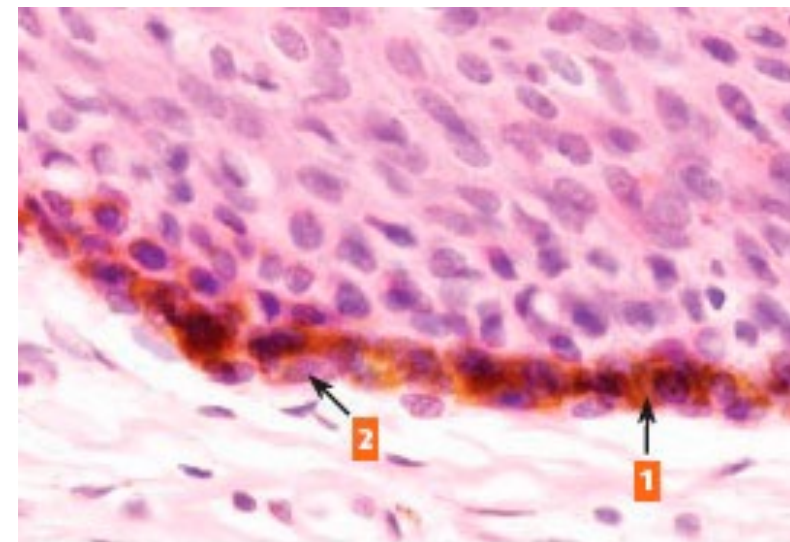
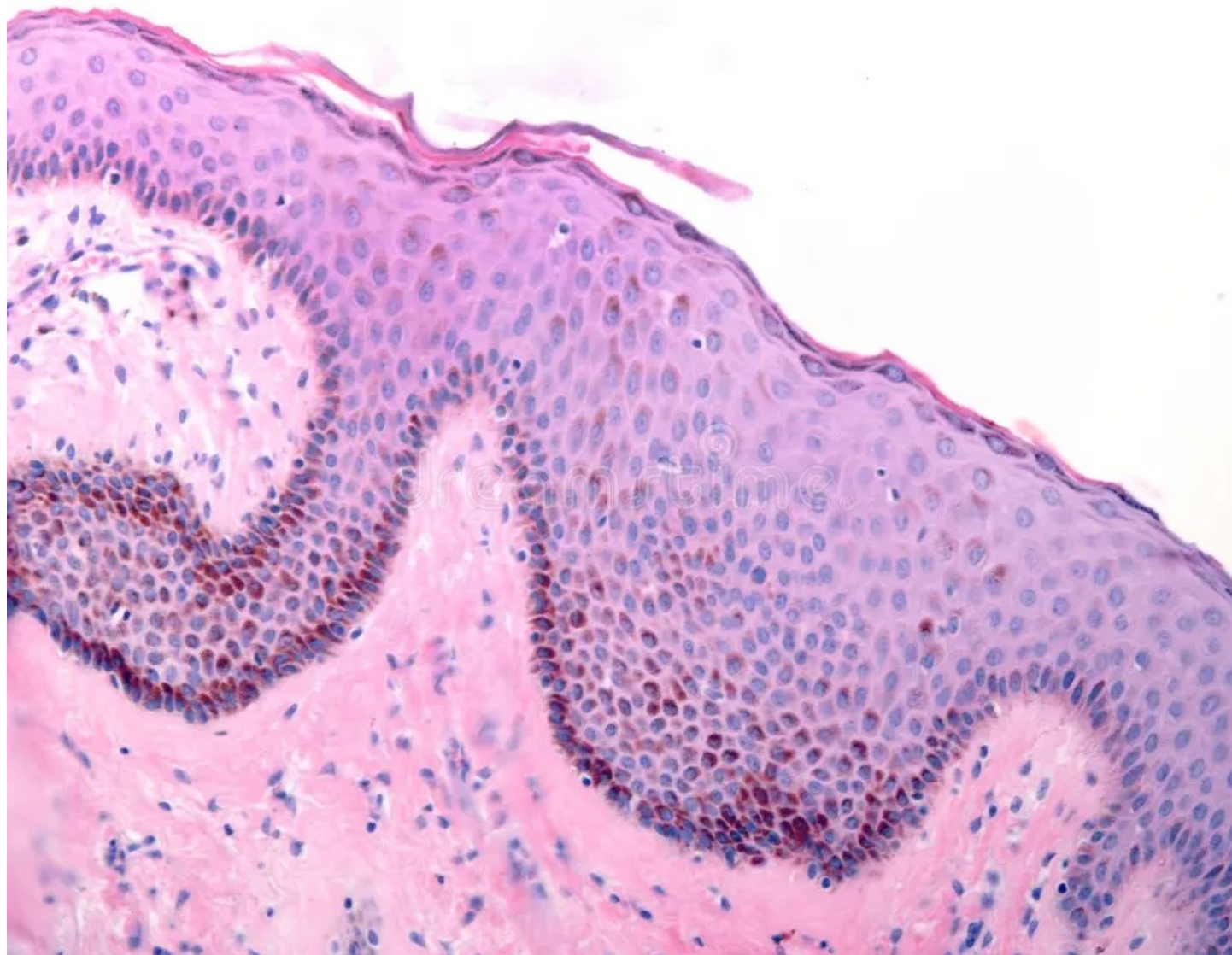
Inclusiones proteicas



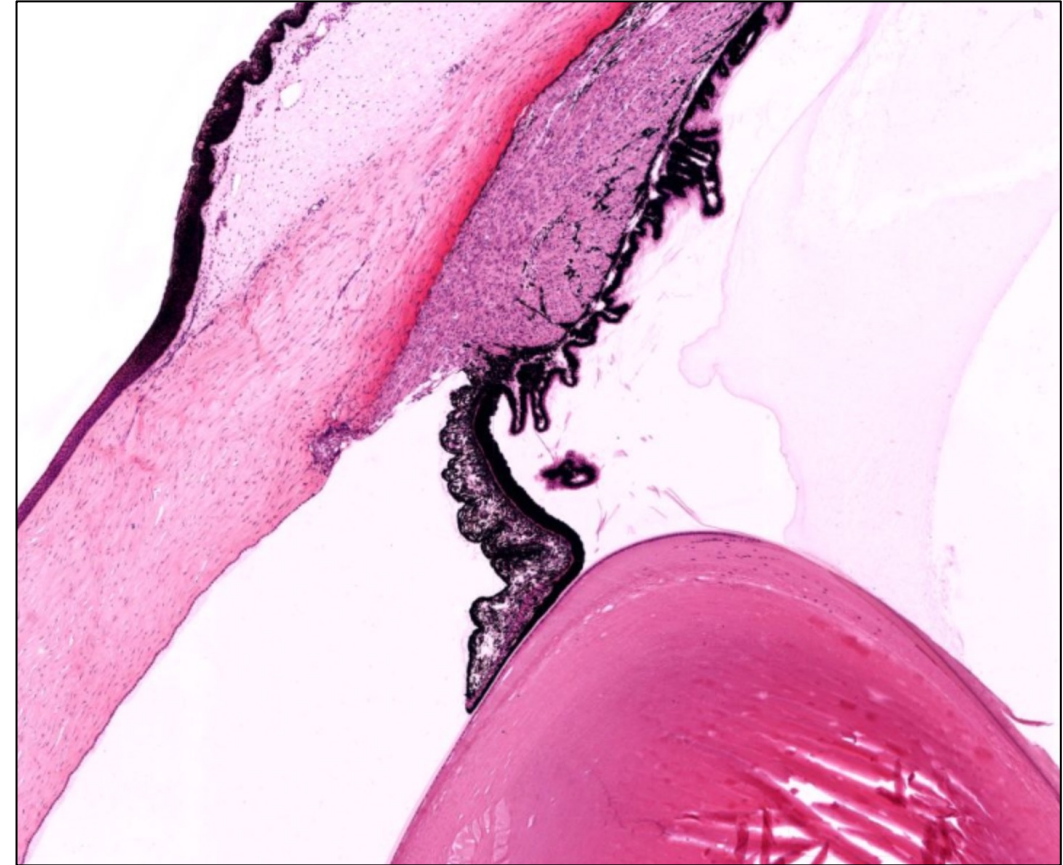
Pigmentos



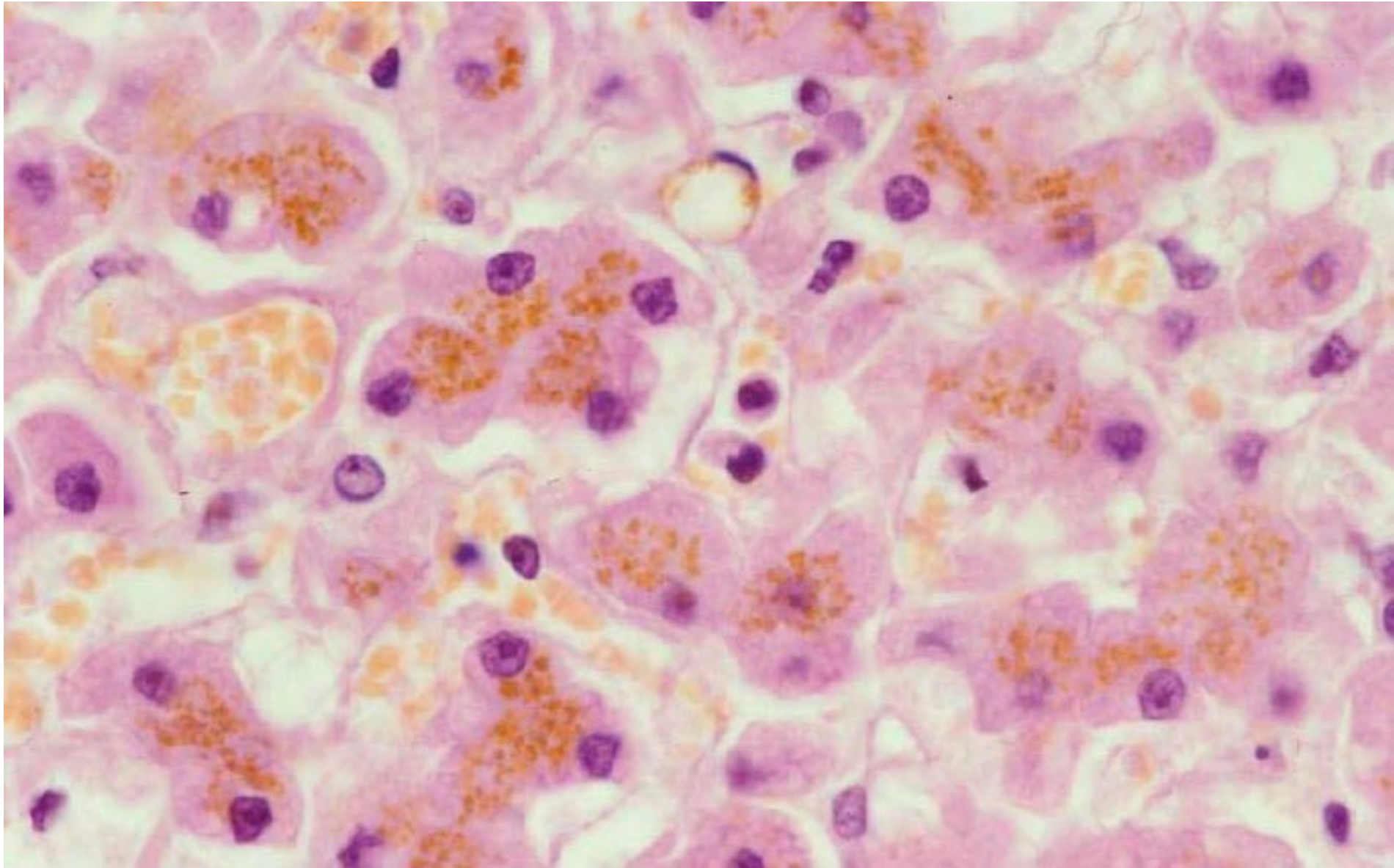
Pigmentos



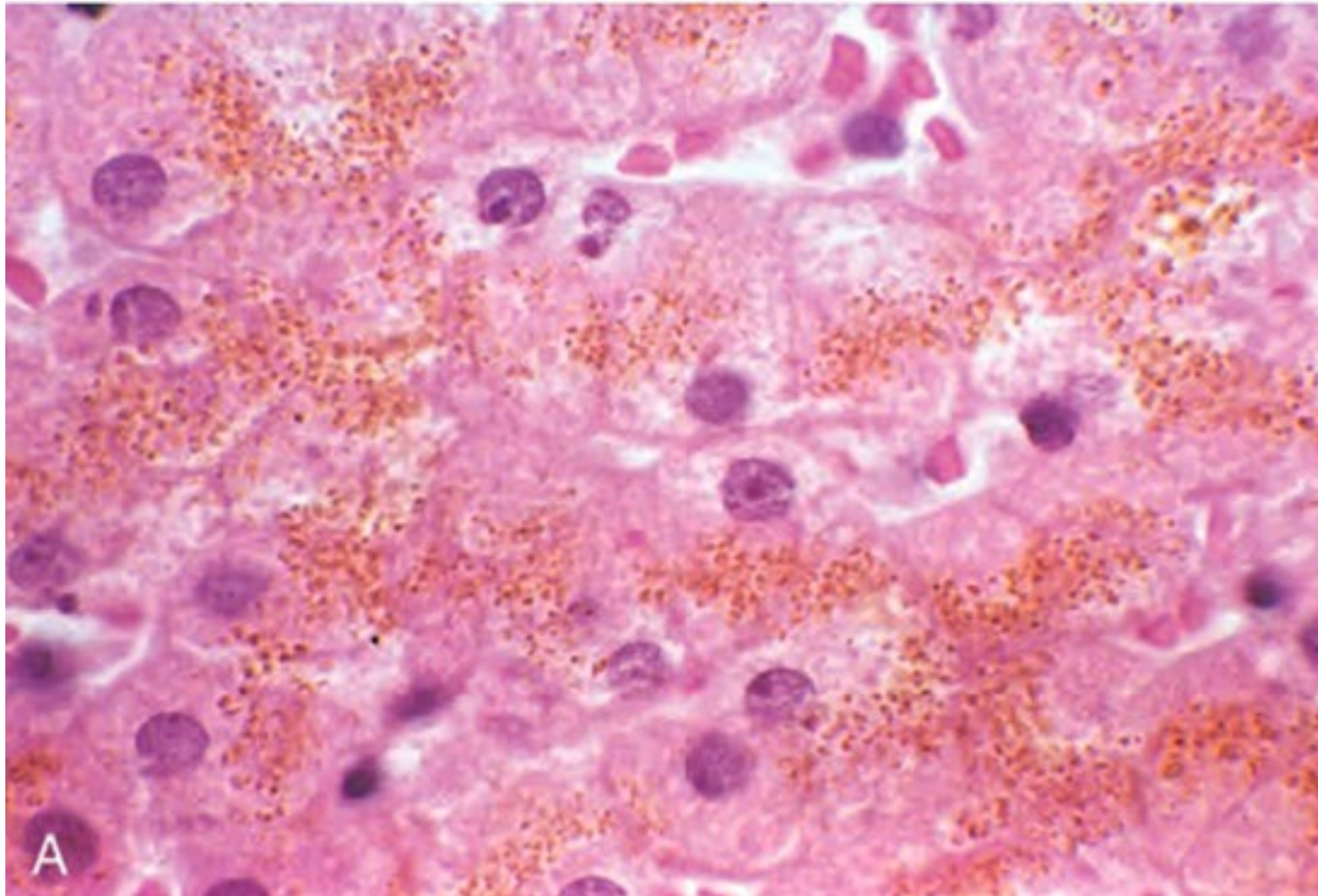
Pigmentos



Pigmentos



Pigmentos





Universidad de Valladolid

Citosol e inclusiones citoplasmáticas

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

Ribosomas. Síntesis y degradación de proteínas

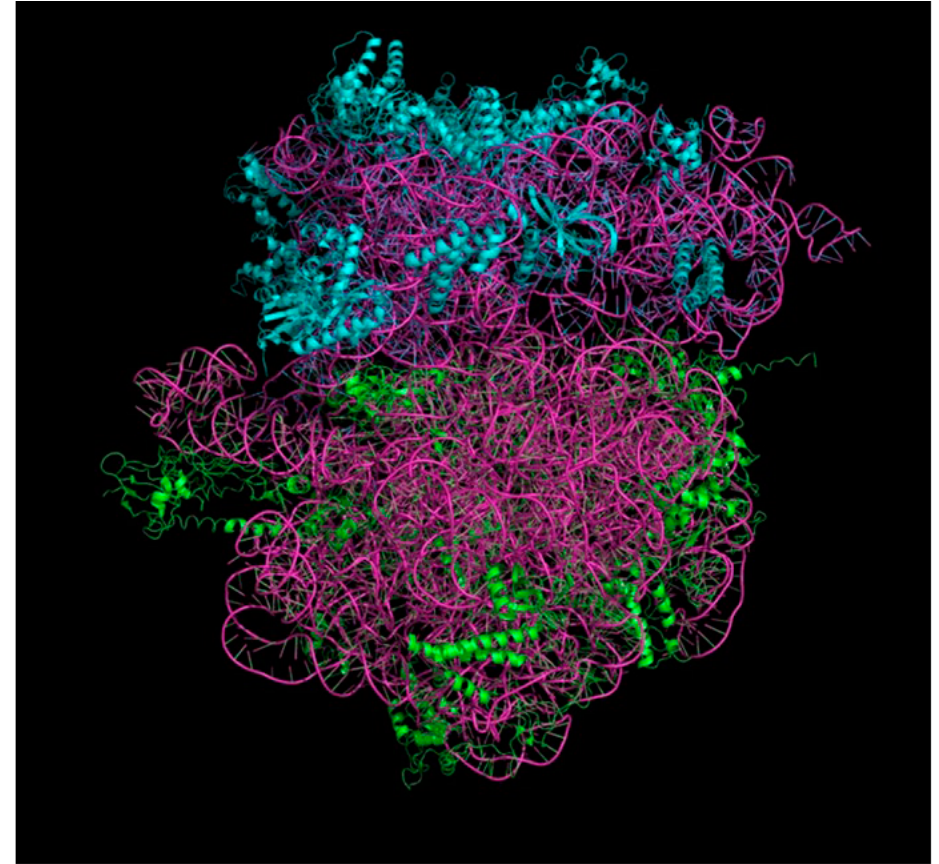
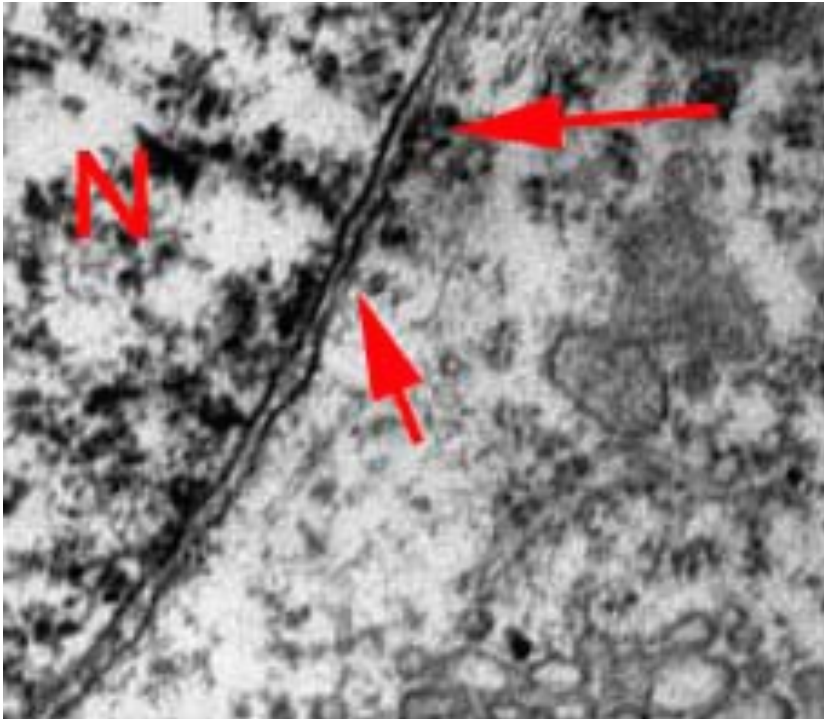
Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

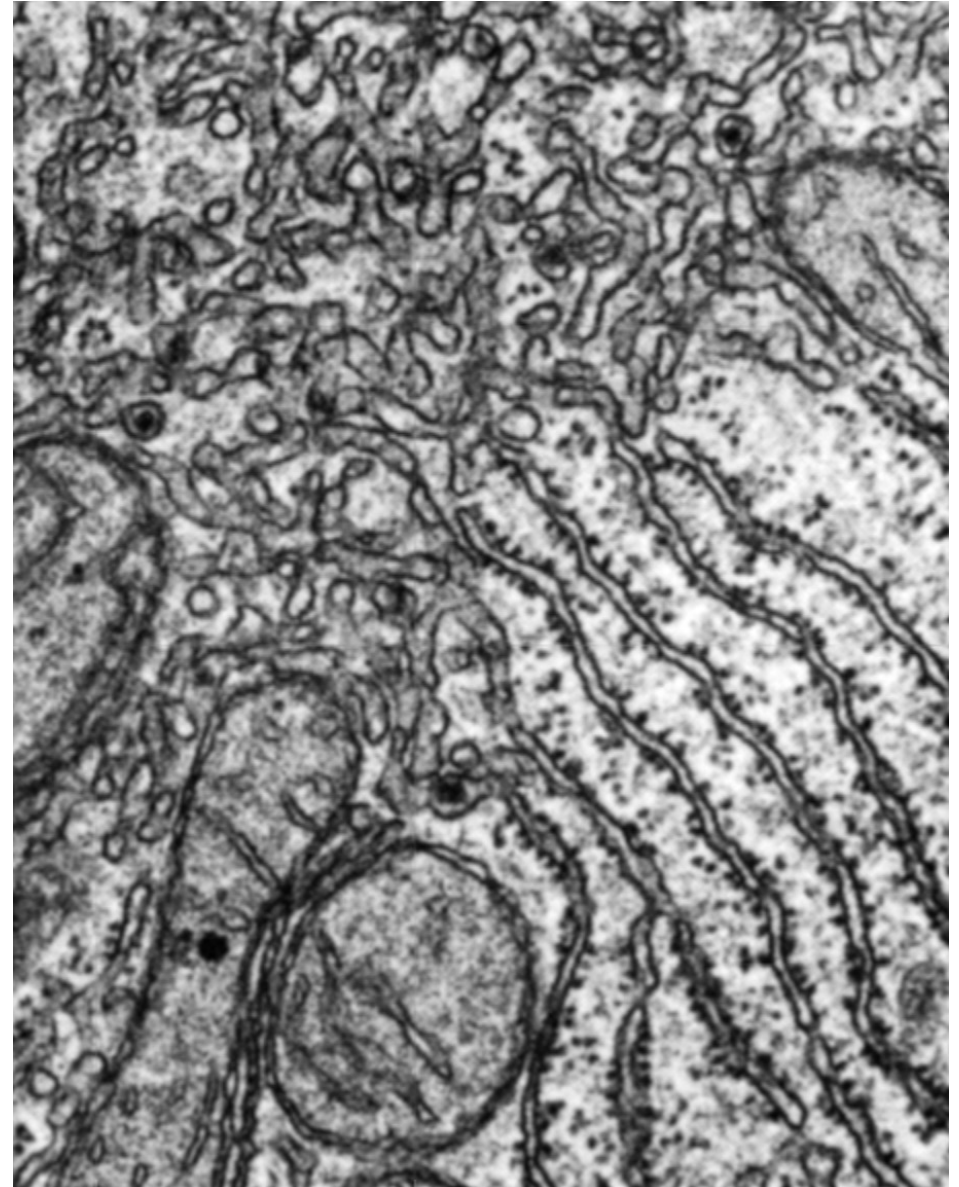
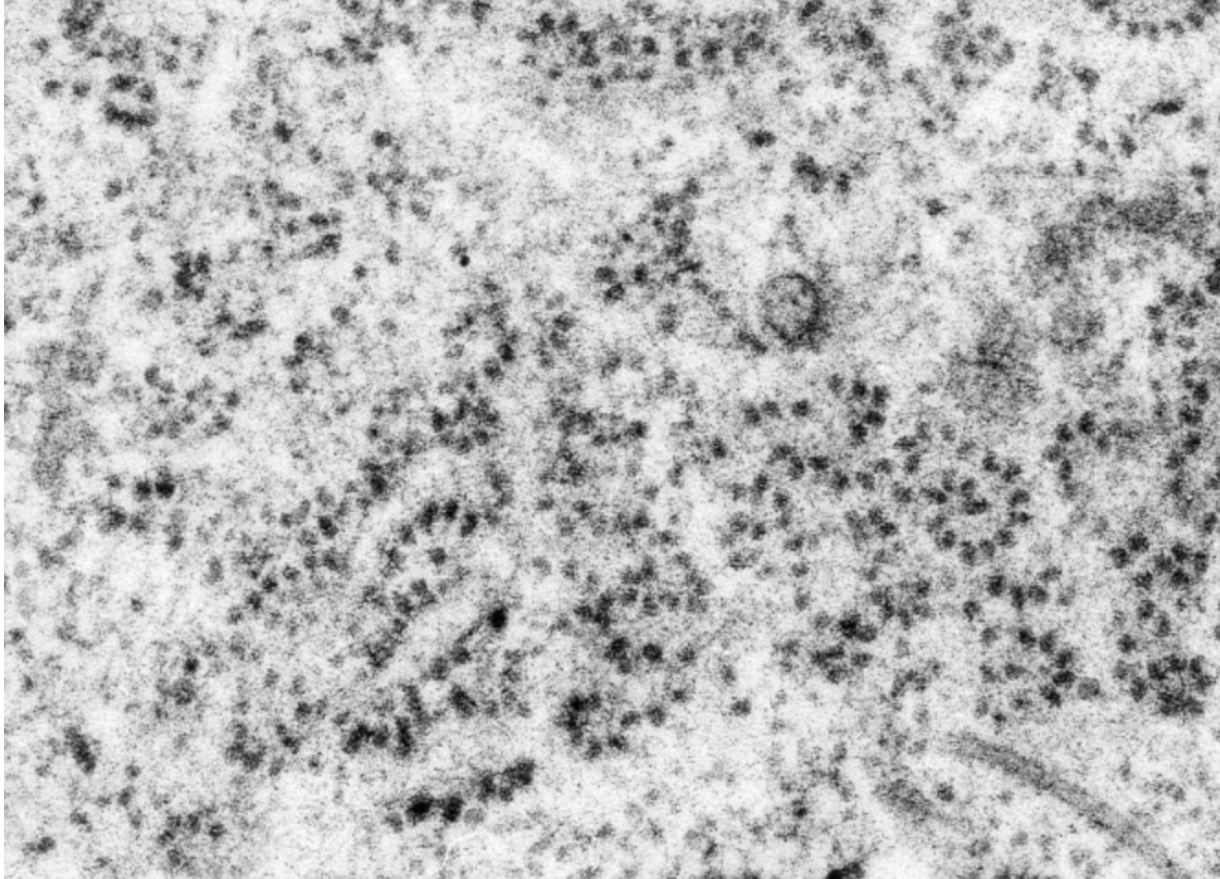
ricardo.usategui@uva.es

Ribosomas. Características generales

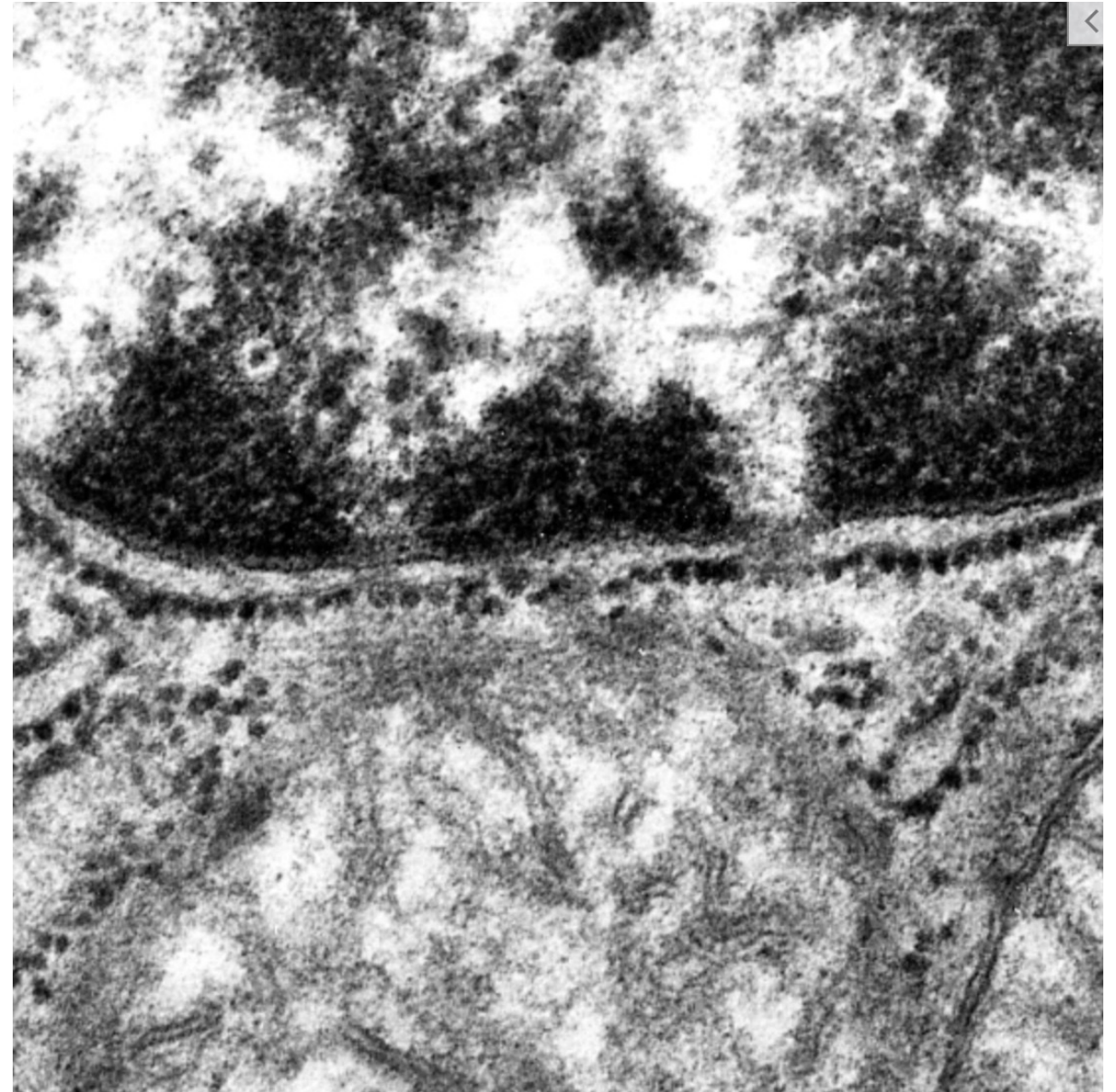
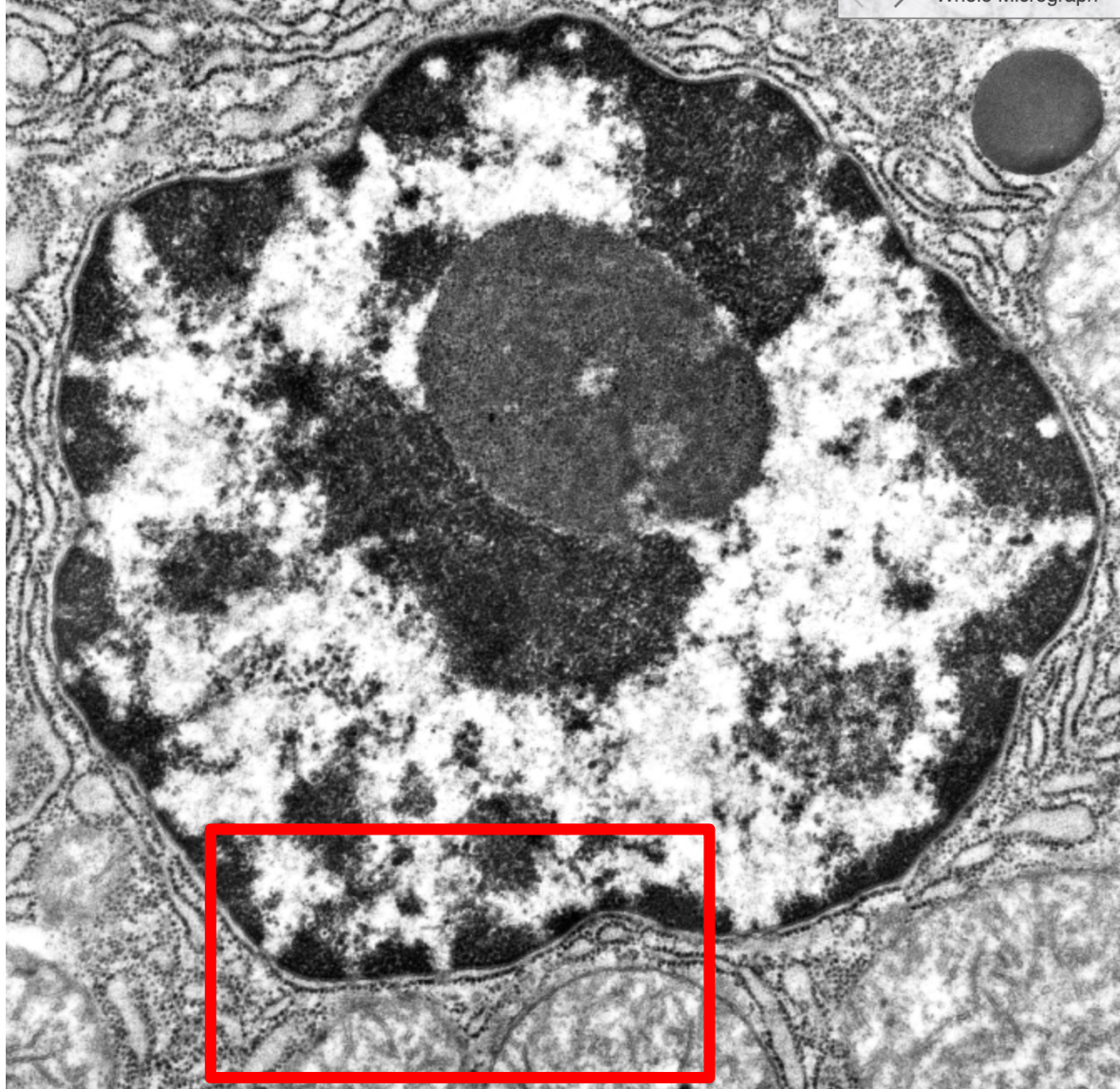
- Partículas sub-celulares
- Síntesis proteica
- Presenten es todas las células (eritrocitos y espermatozoides)
- Formados por rRNA y proteínas
- M. electrónica (32 nm en eucariotas y 29 nm en procariotas)
- Dos subunidades



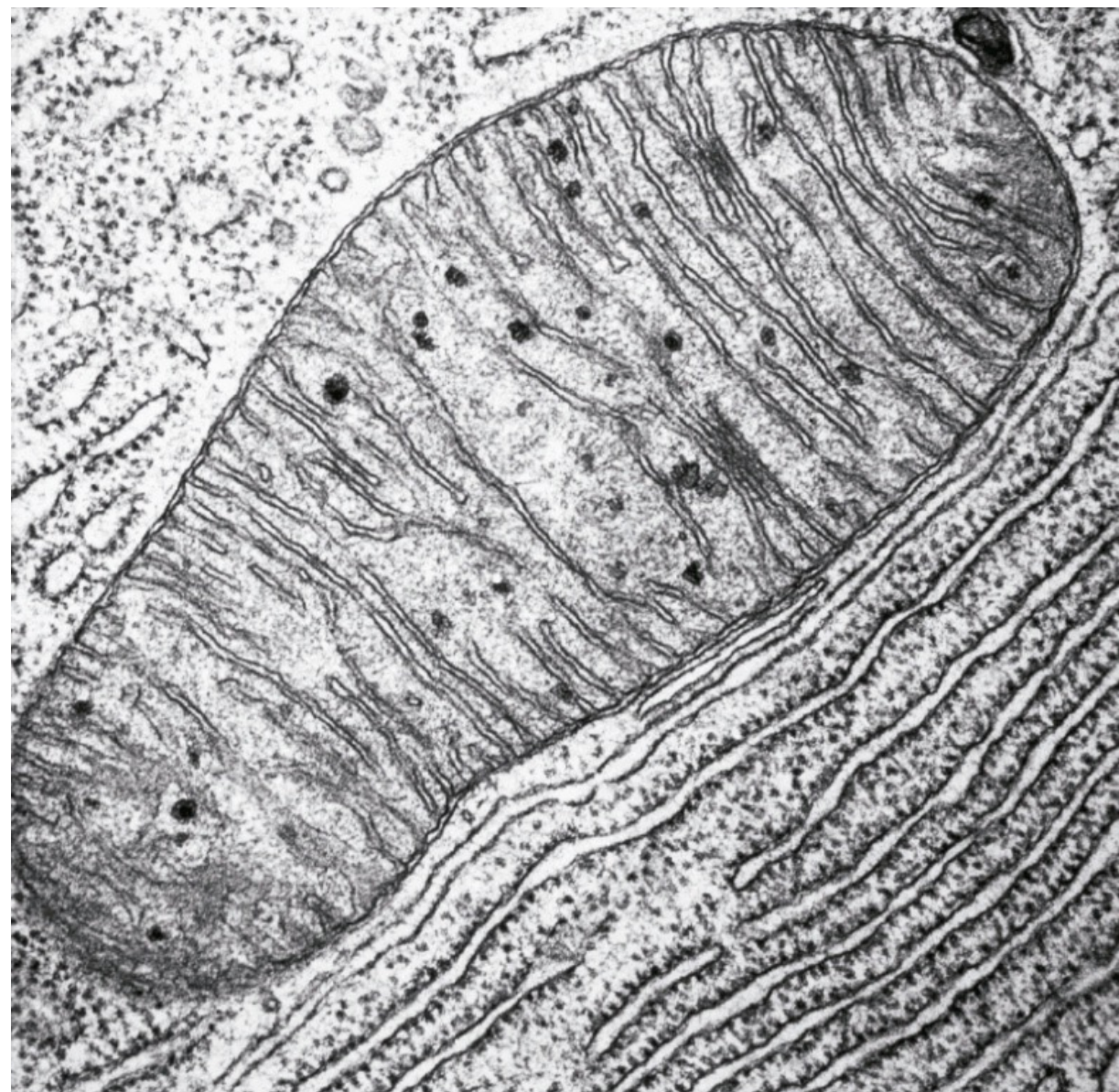
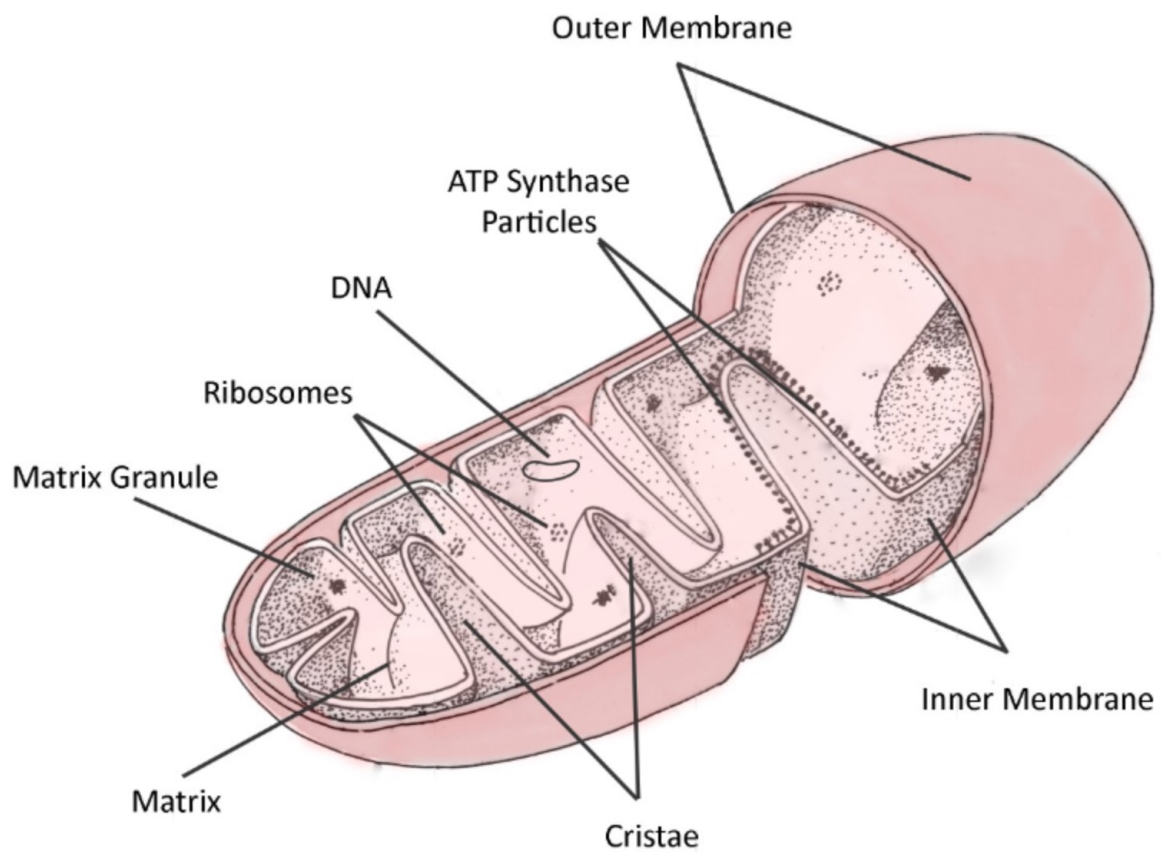
Ribosomas. Localización



Ribosomas. Localización



Ribosomas. Localización

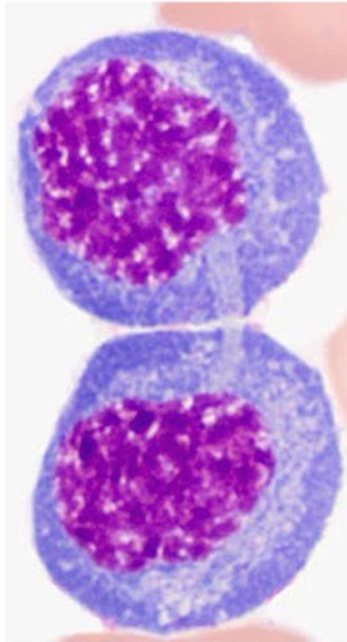


Los ribosomas sólo son visibles con ME

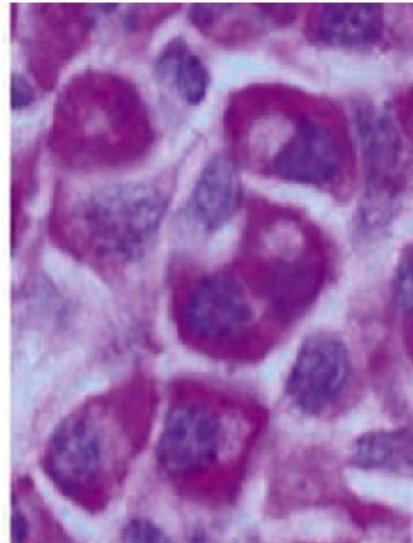
Visualización MO

Basofilia (colorantes básicos – H-) puede ser:

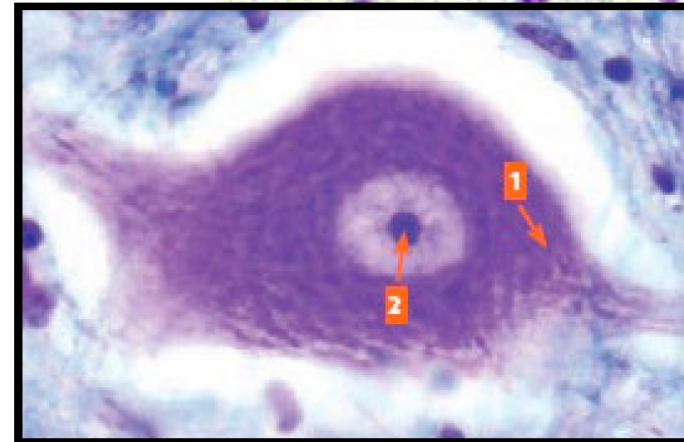
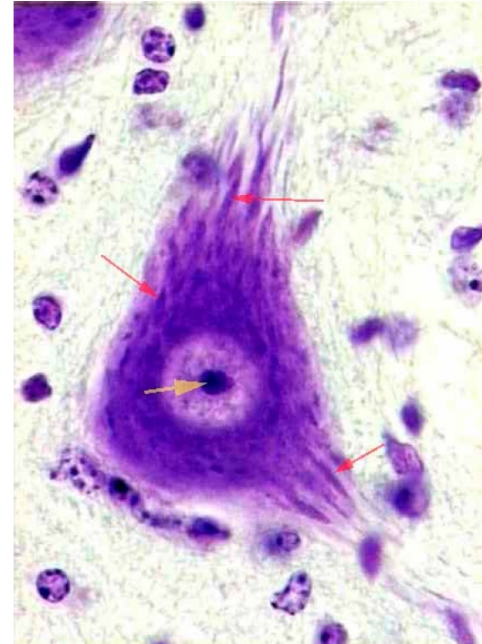
- **Difusa** (c. embrionarias, eritroblastos)
- **Grumos** (hepatocitos, neuronas)
- **Localizada** (base de células acinares de páncreas)



Basofilia difusa
eritroblastos basófilos

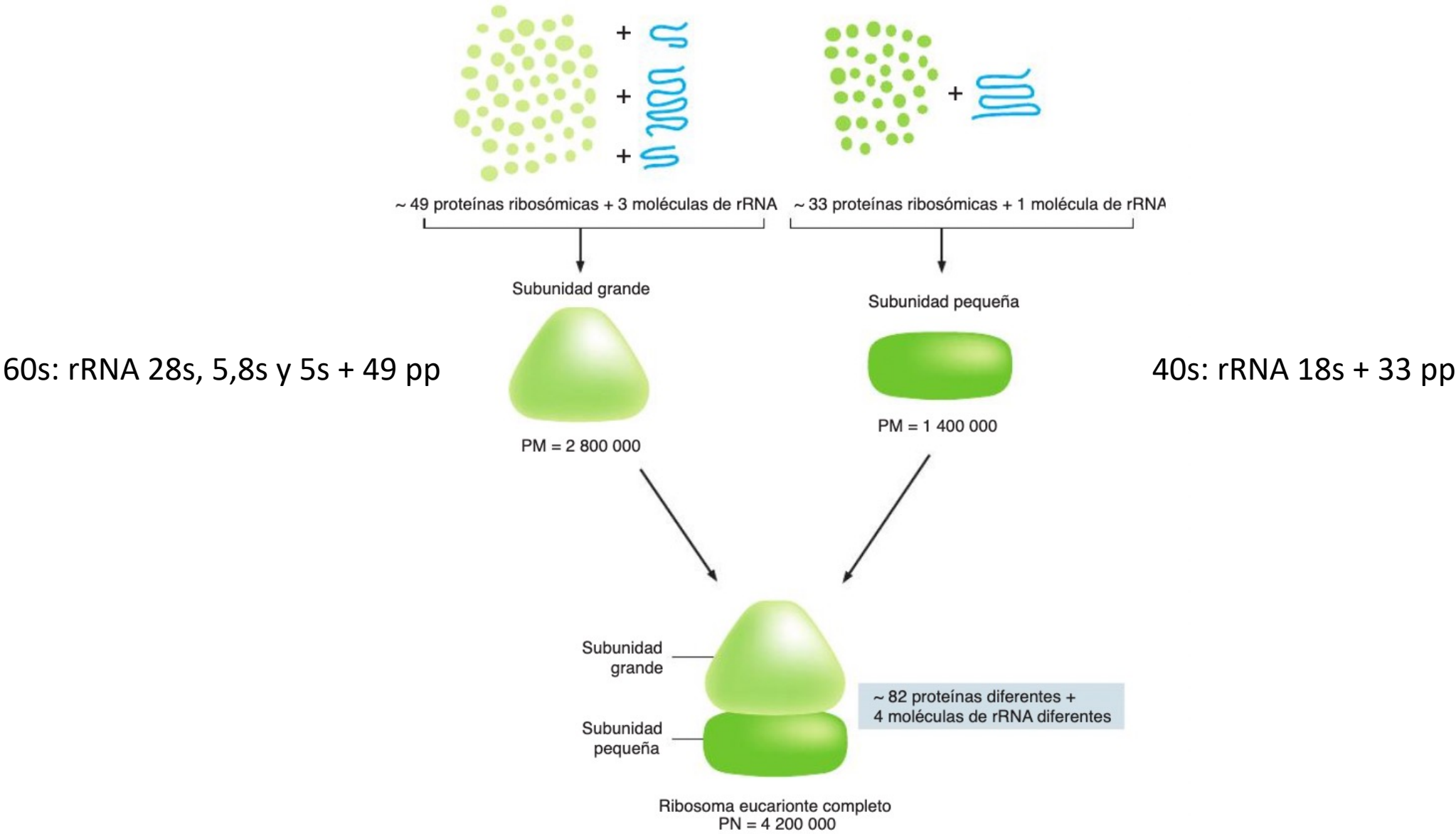


Basofilia difusa
células plasmáticas

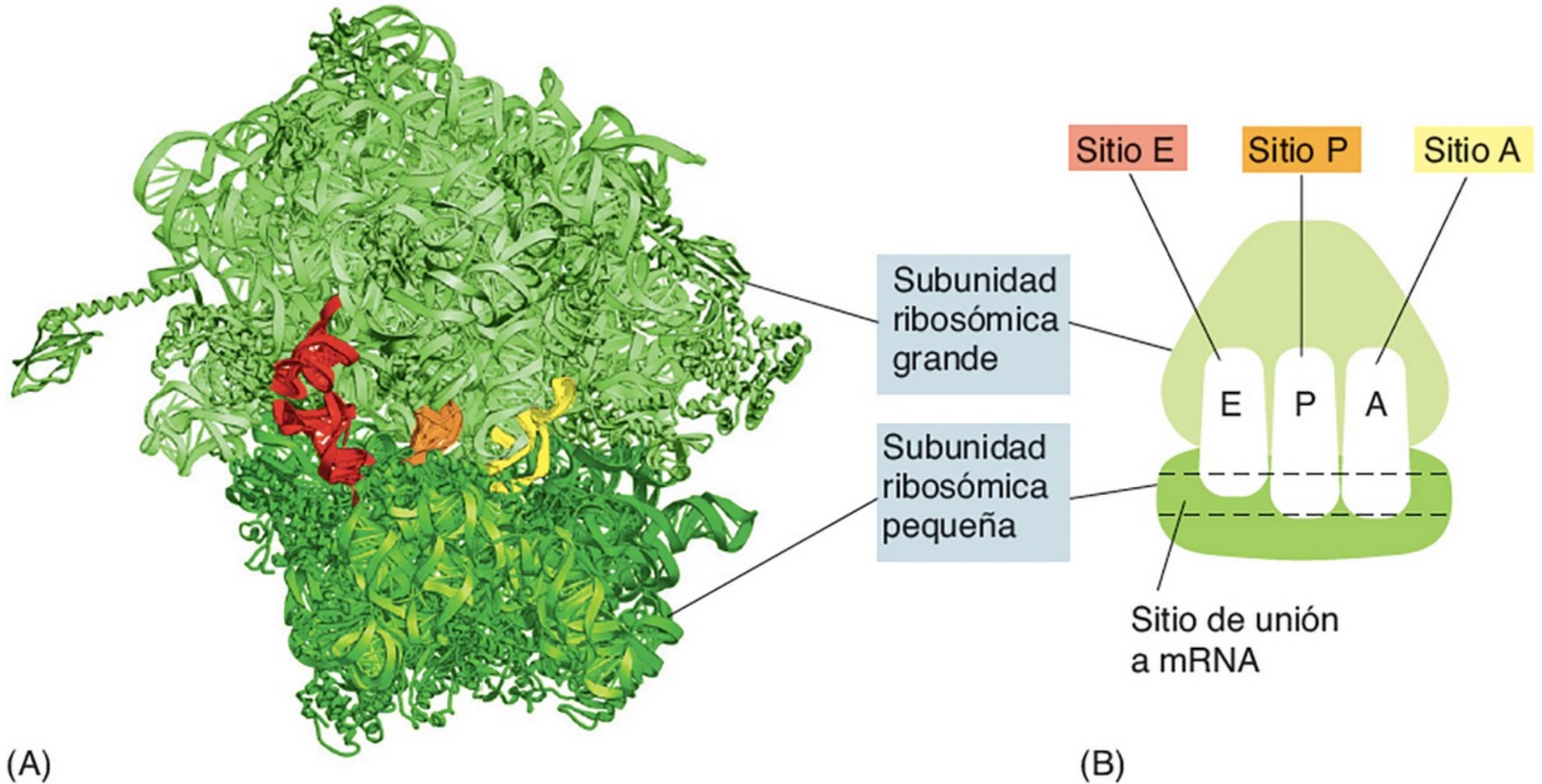


Neurona con grumos basófilos (cuerpos de Nissl)

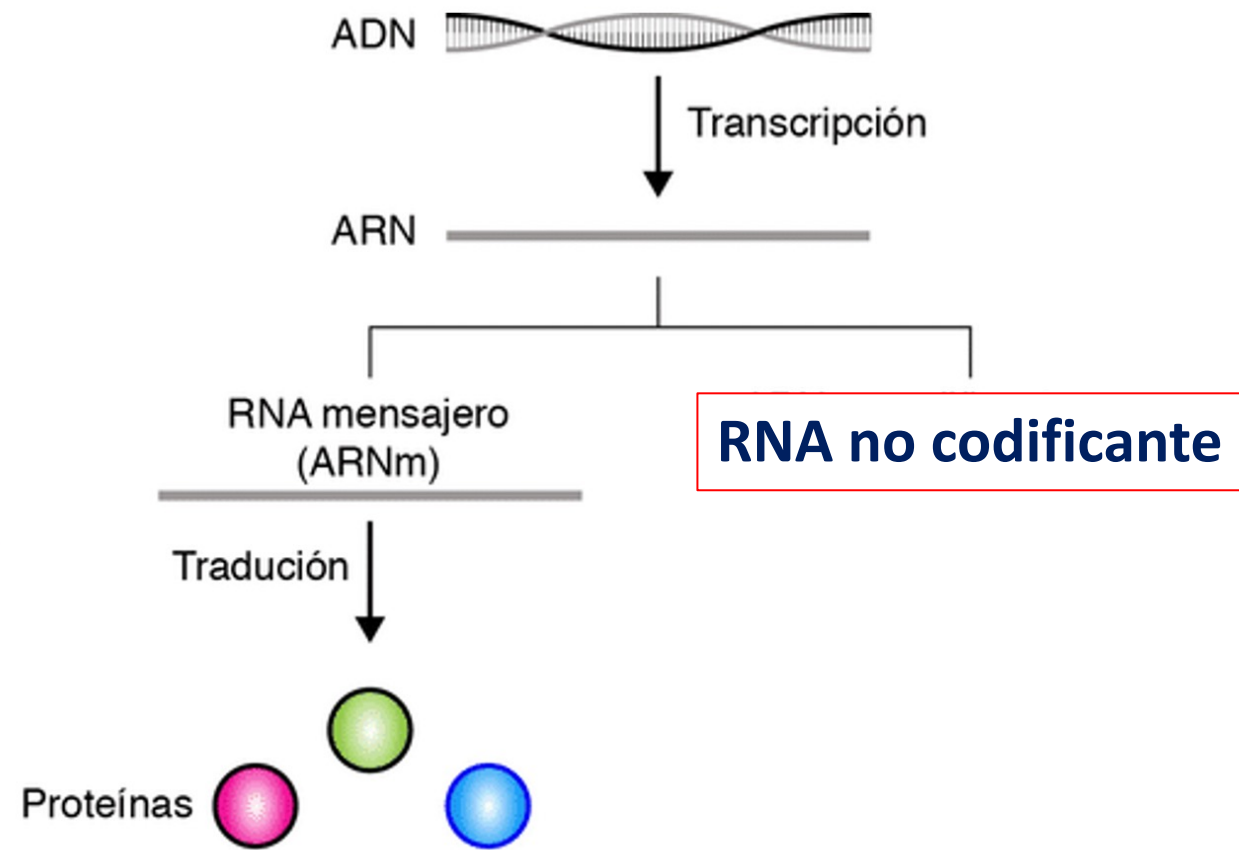
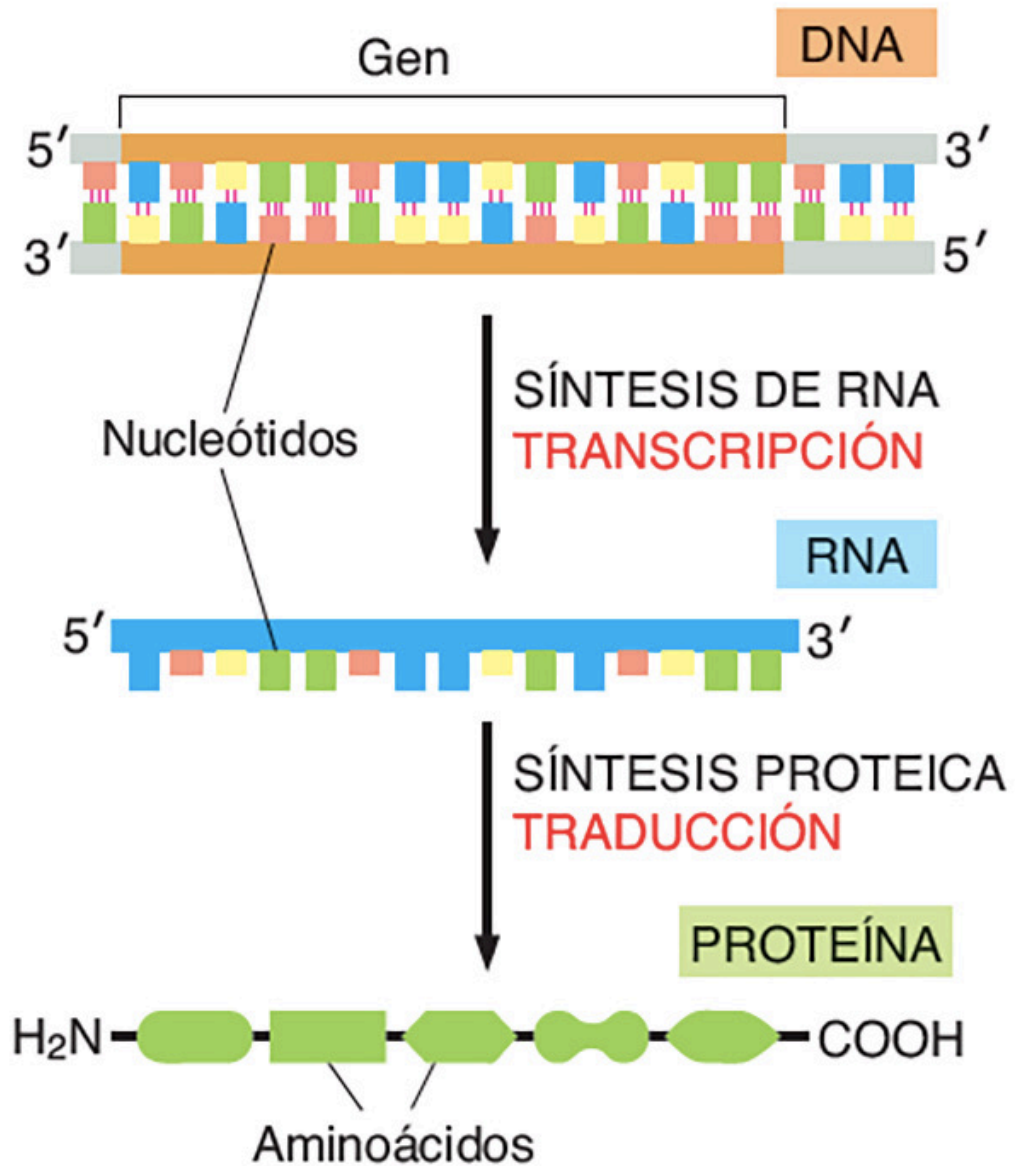
Estructura: en eucariotas son 80s



En los ribosomas se produce la síntesis proteica

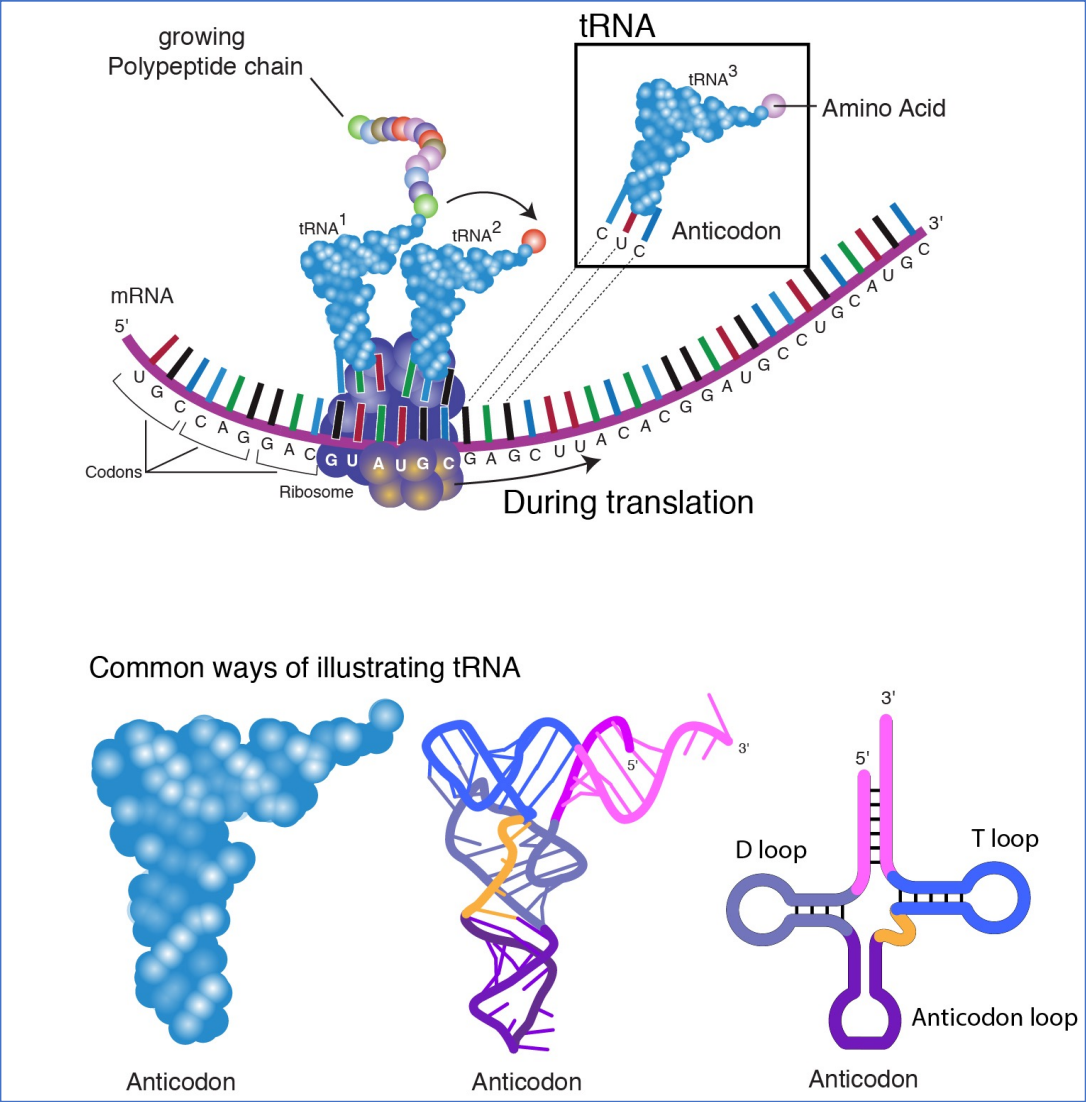
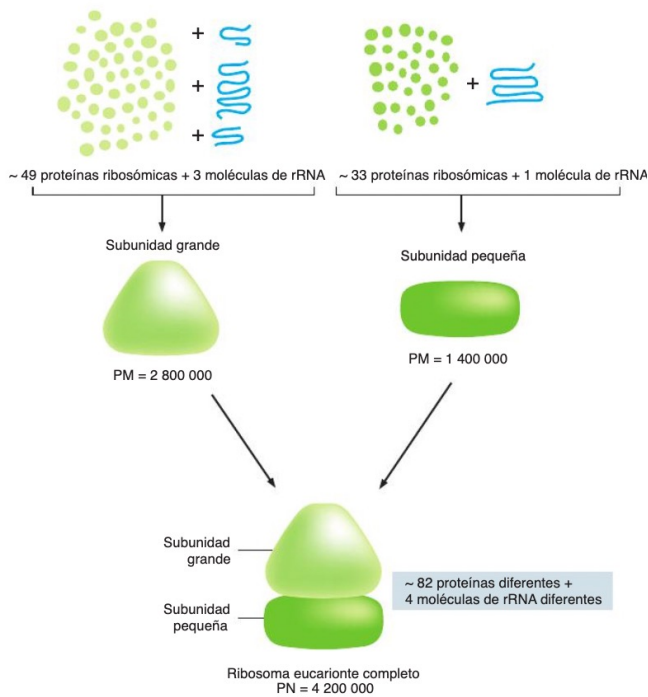


En los ribosomas se produce la síntesis proteica

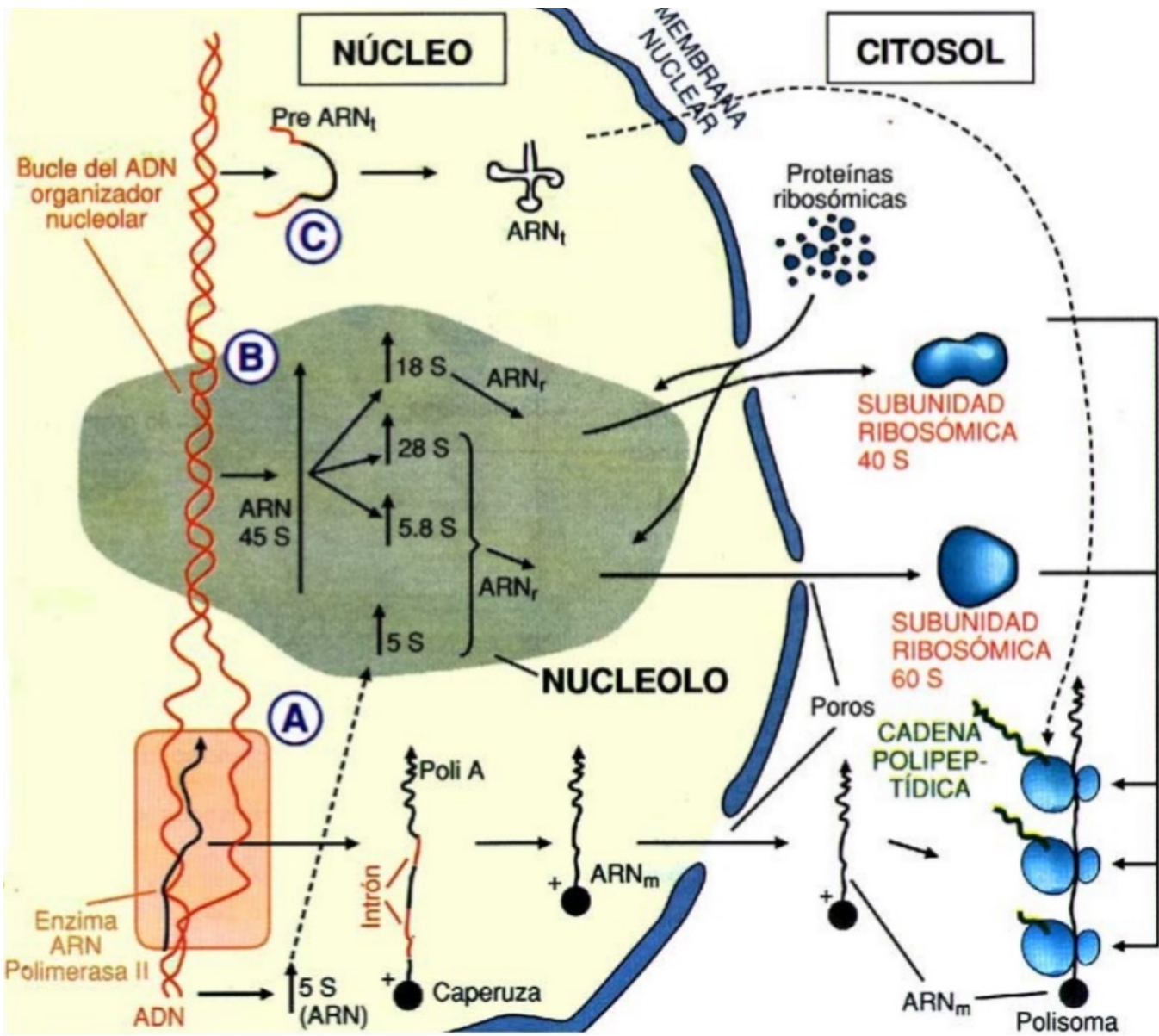
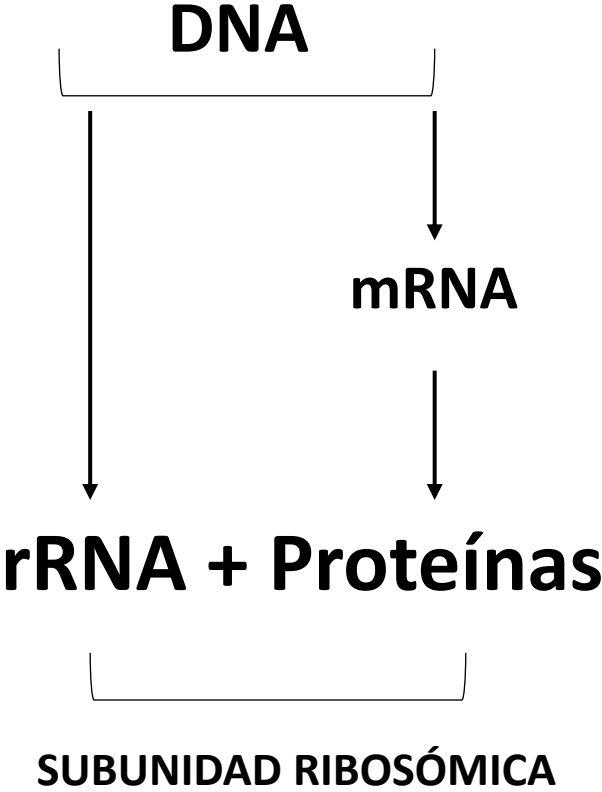


Los RNA no codificantes son genes

Tamaño del ribosoma	80S			
Subunidad	Mayor		Menor	
Tamaño de la subunidad	60S		40S	
rRNA	5S	5.8S	28S	18S
Longitud del rRNA	121nt	156nt	5070nt	1869nt

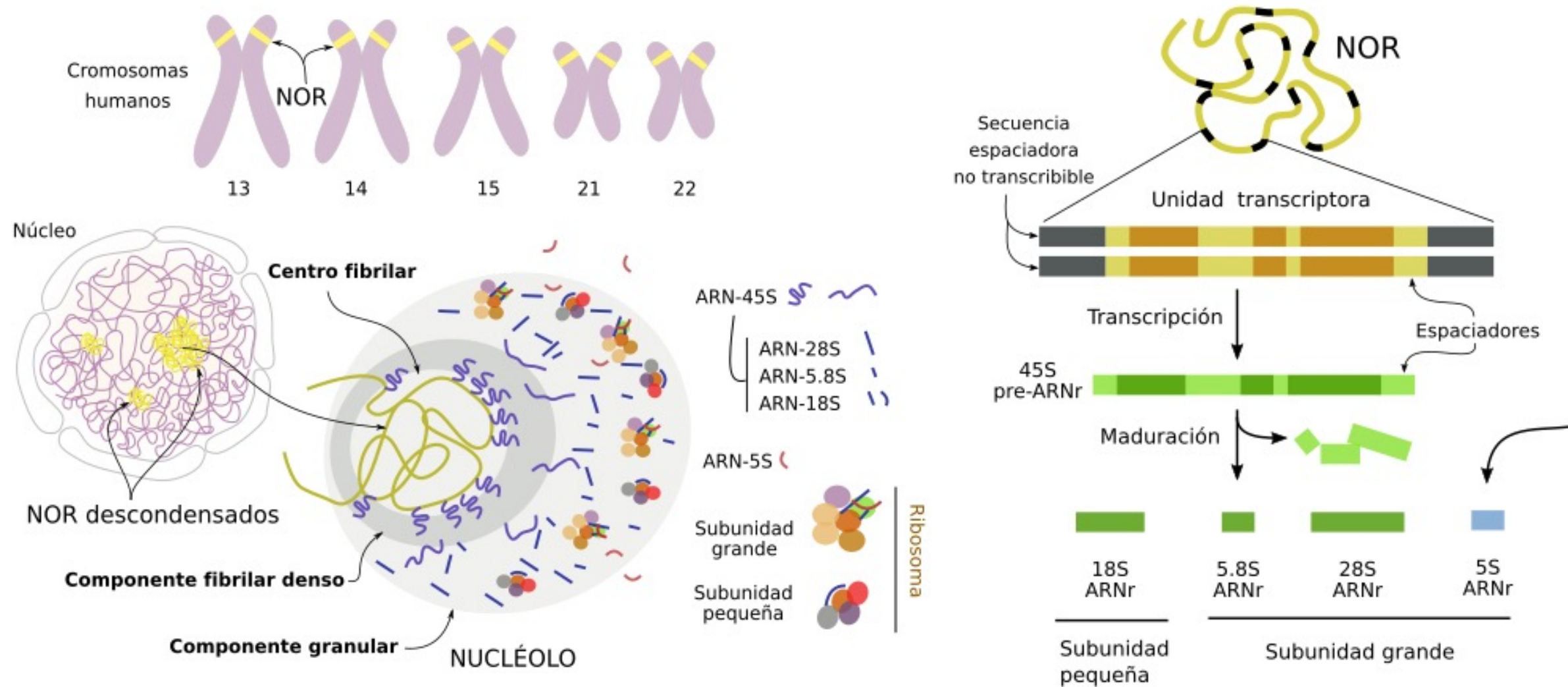


Las subunidades ribosómicas se sintetizan en el nucleolo

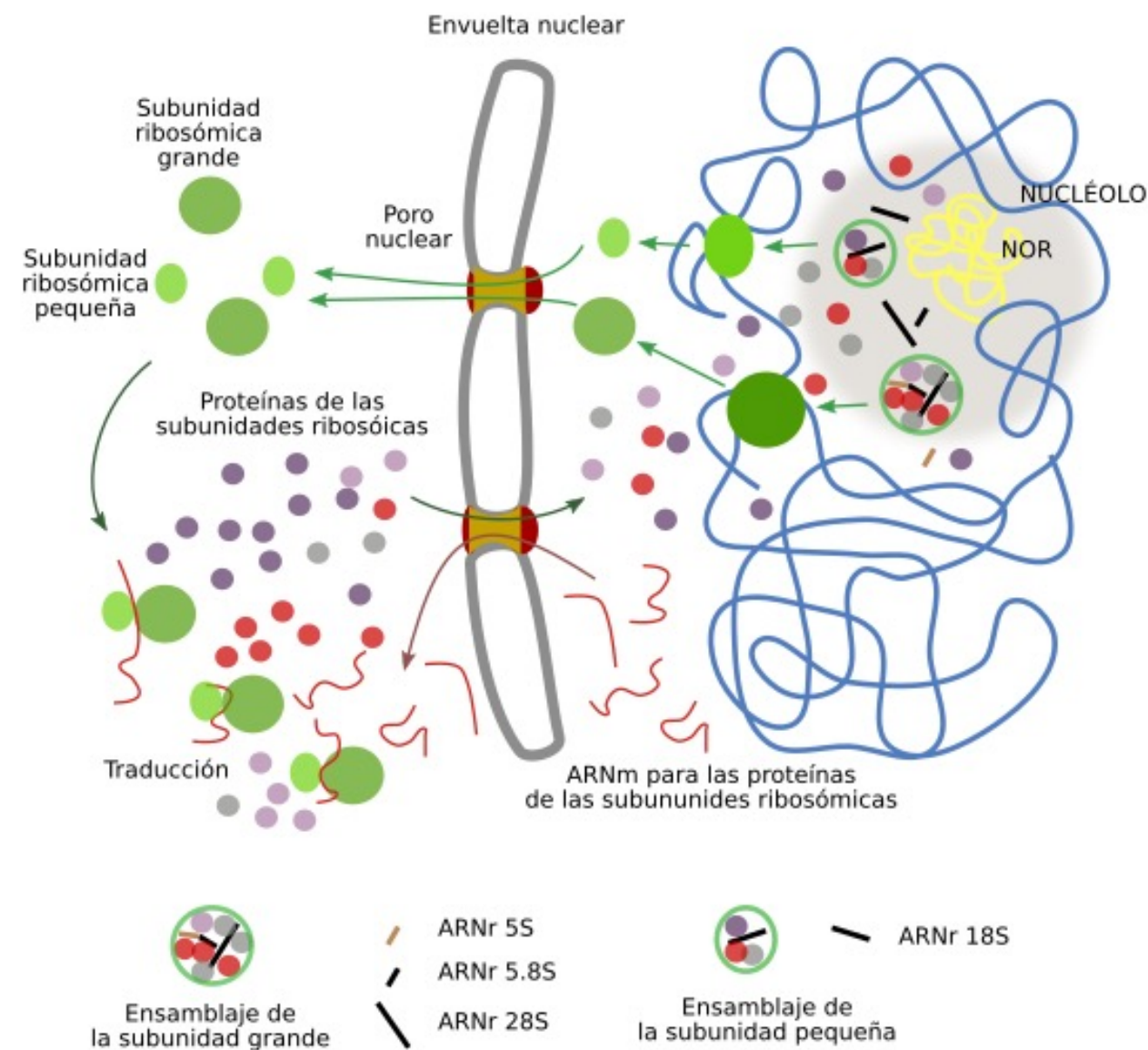


Regiones organizadoras nucleolares

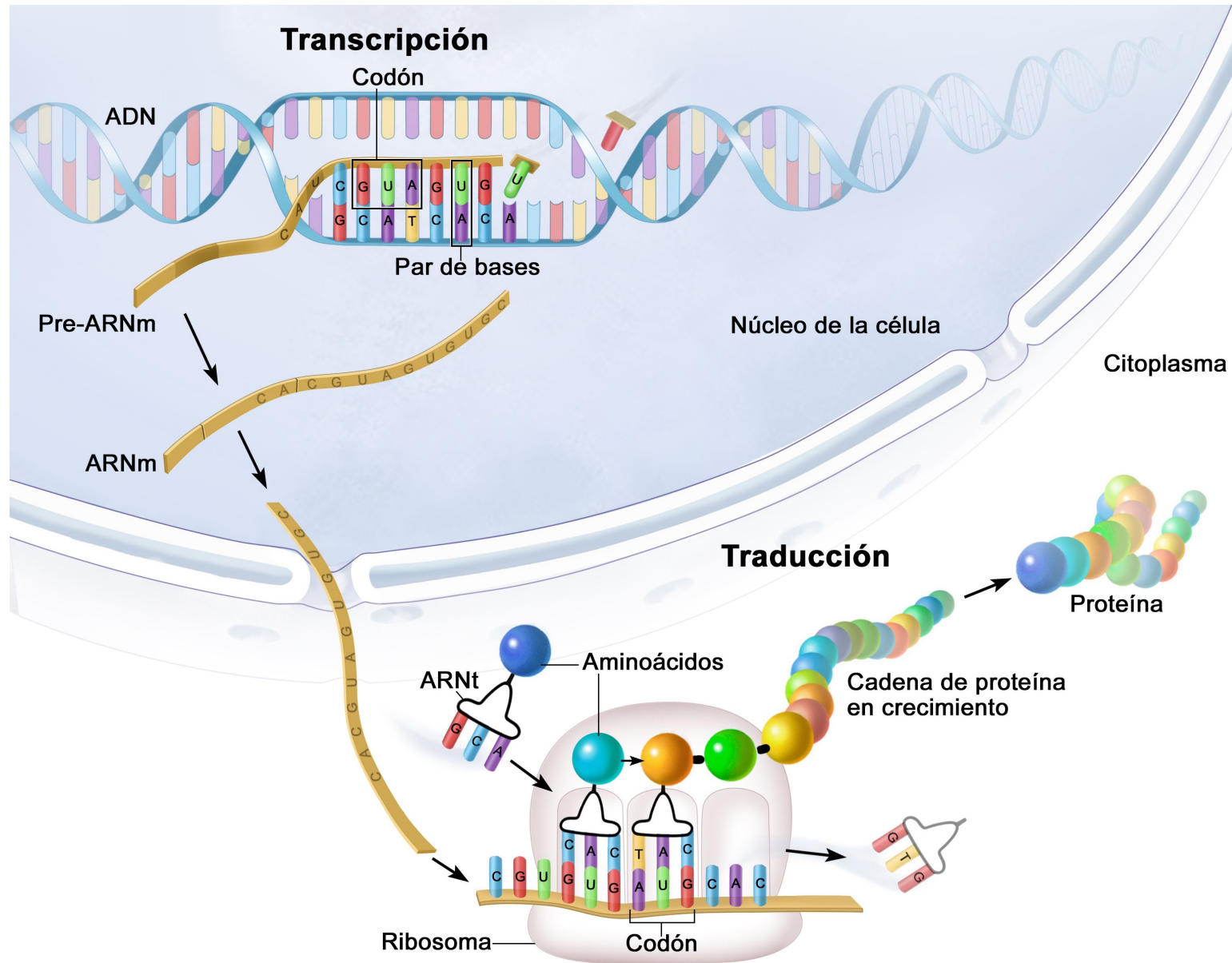
Los genes que codifican para los pre-rRNA se localizan en las **regiones organizadoras nucleolares (NOR)**



Regiones organizadoras nucleolares

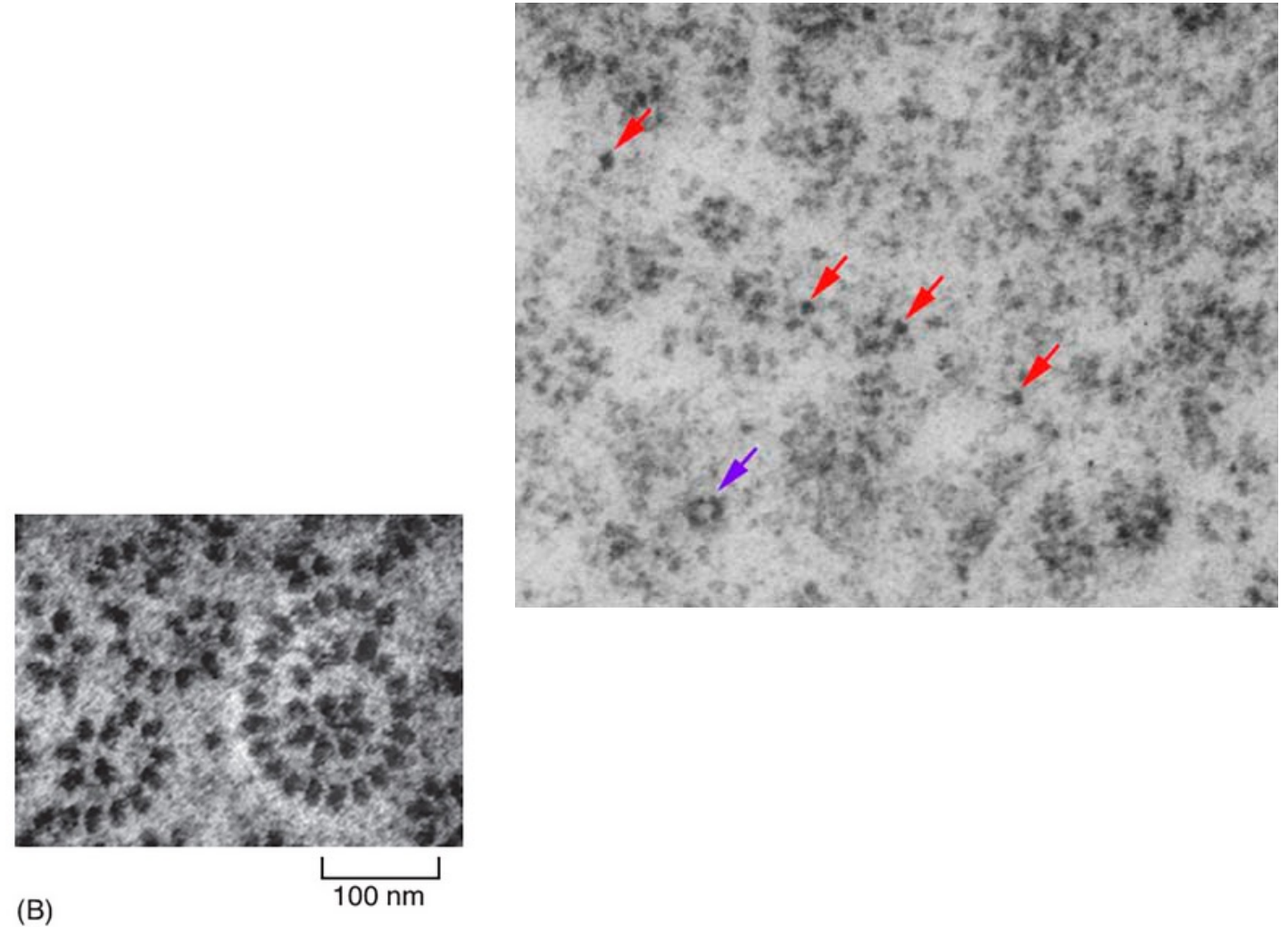
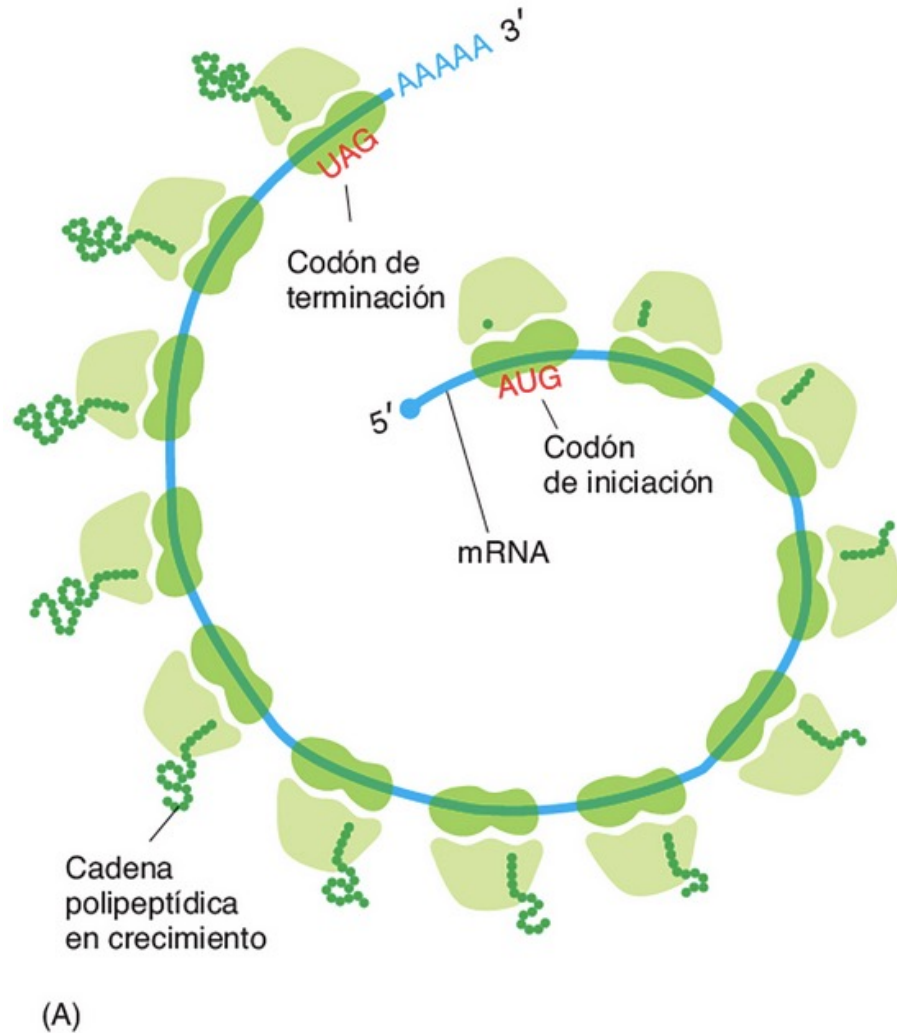


En los ribosomas ocurre la traducción



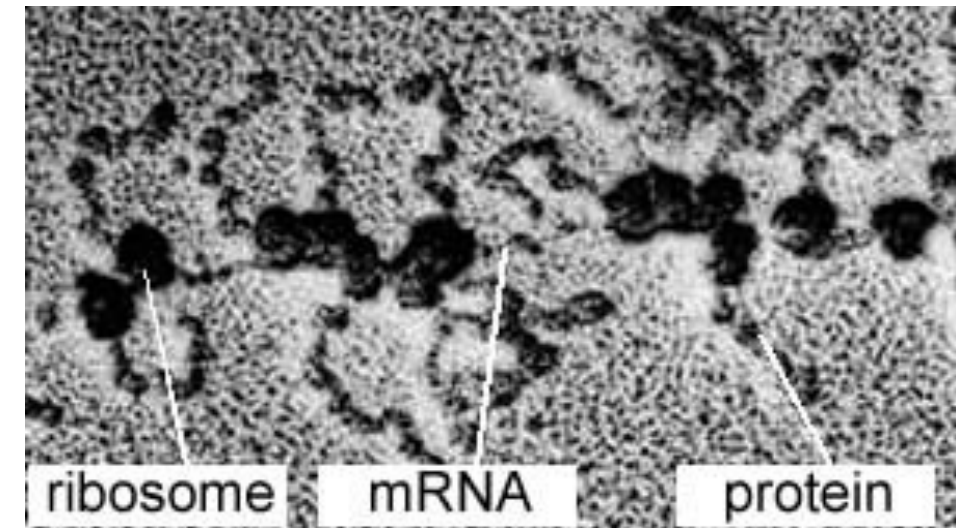
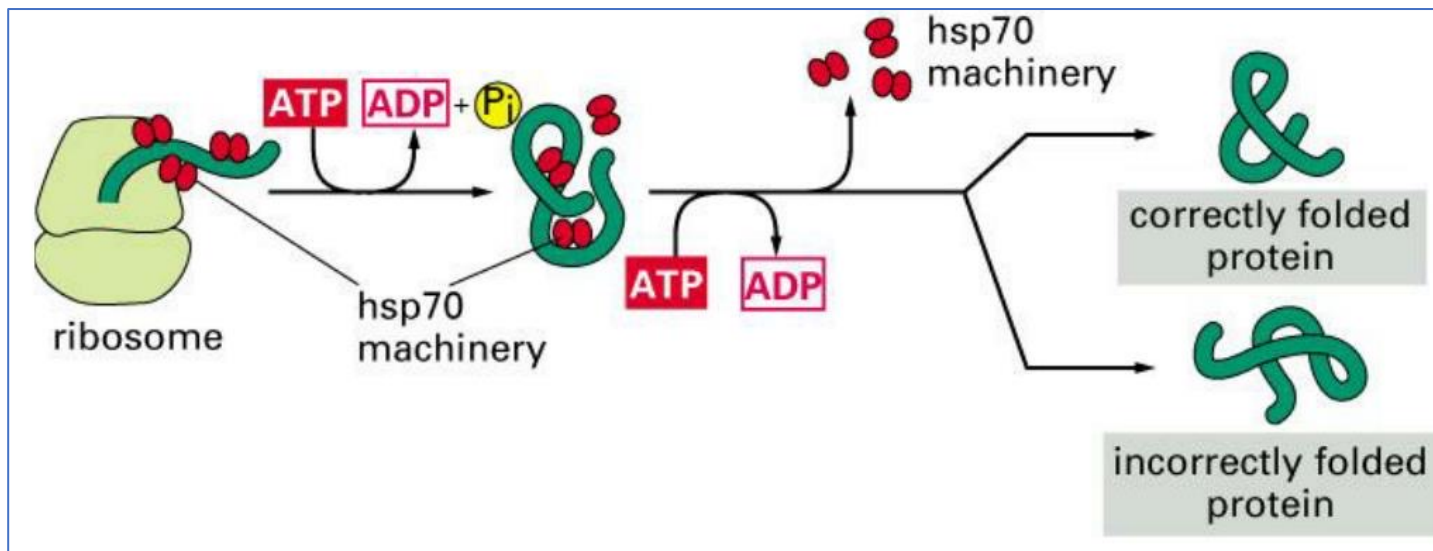
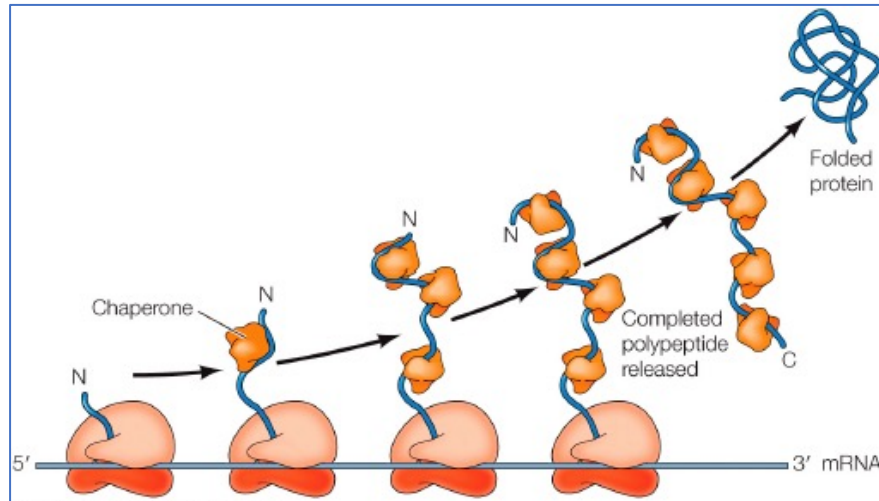
En los ribosomas ocurre la traducción

Las proteínas son producidas en polirribosomas o polisomas

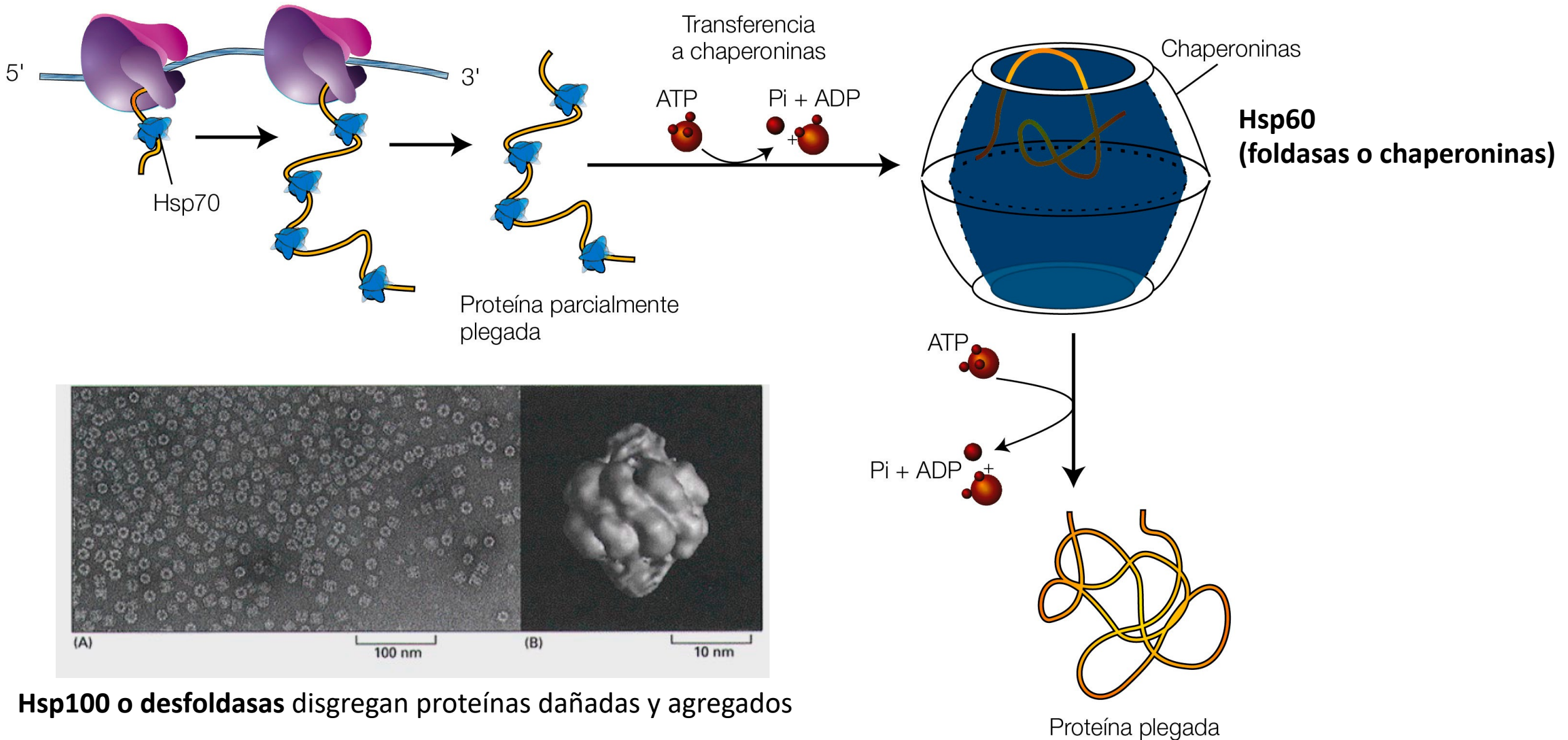


Plegamiento de las proteínas. Chaperonas

Para el correcto plegamiento de las proteínas intervienen las chaperonas

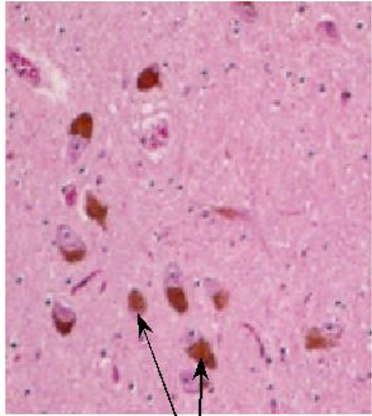


Plegamiento de las proteínas. Chaperonas

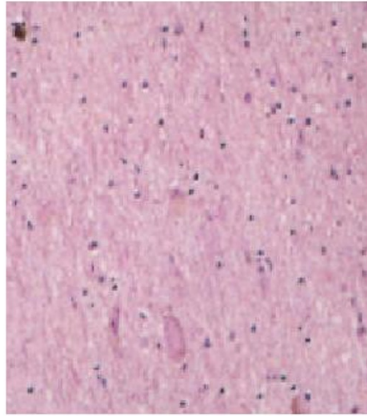


Enfermedades por mal plegamiento de proteínas

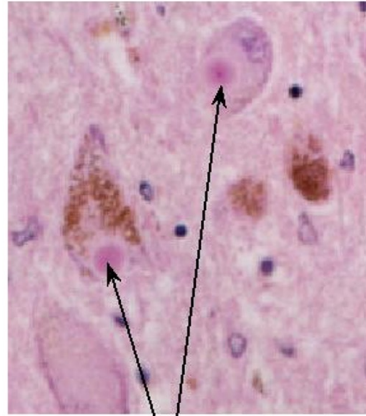
Enfermedad de Parkinson



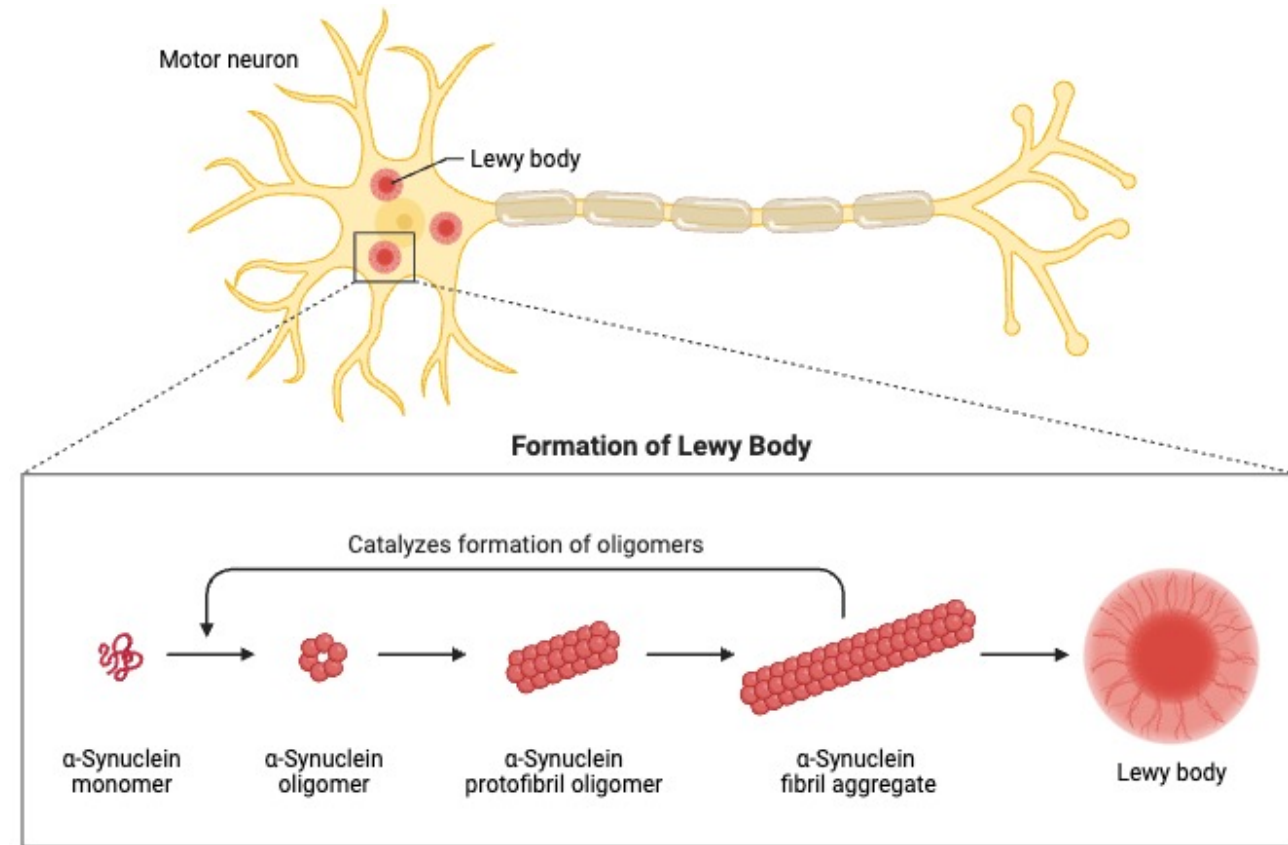
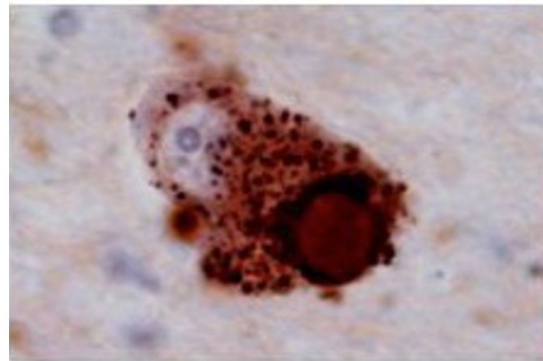
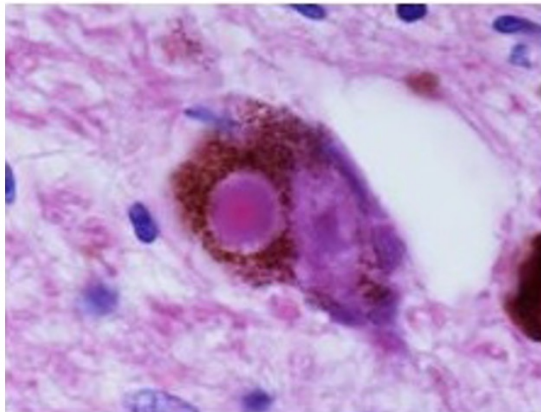
Neuronas pigmentadas



Pérdida neuronal

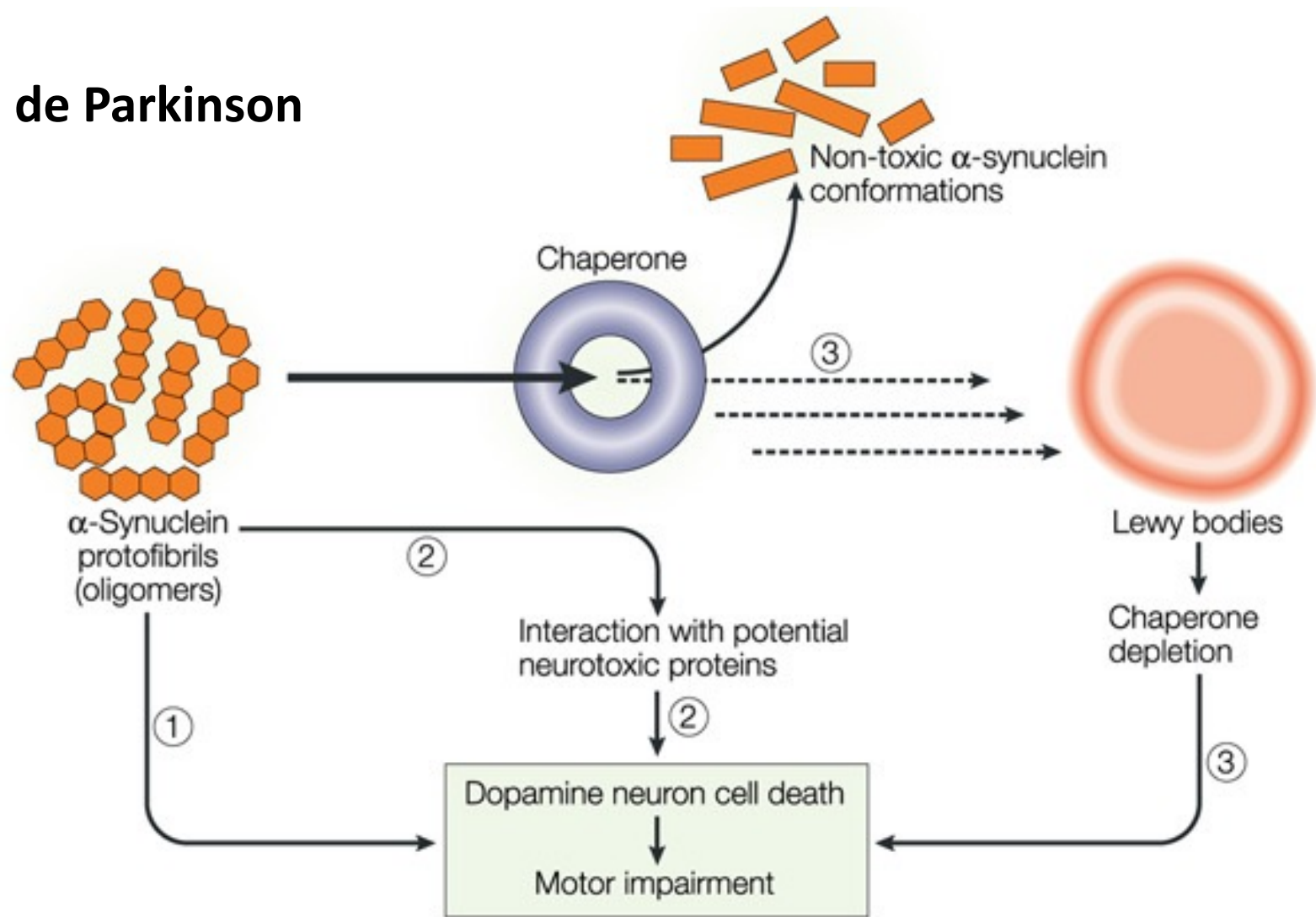


Cuerpos de Lewy

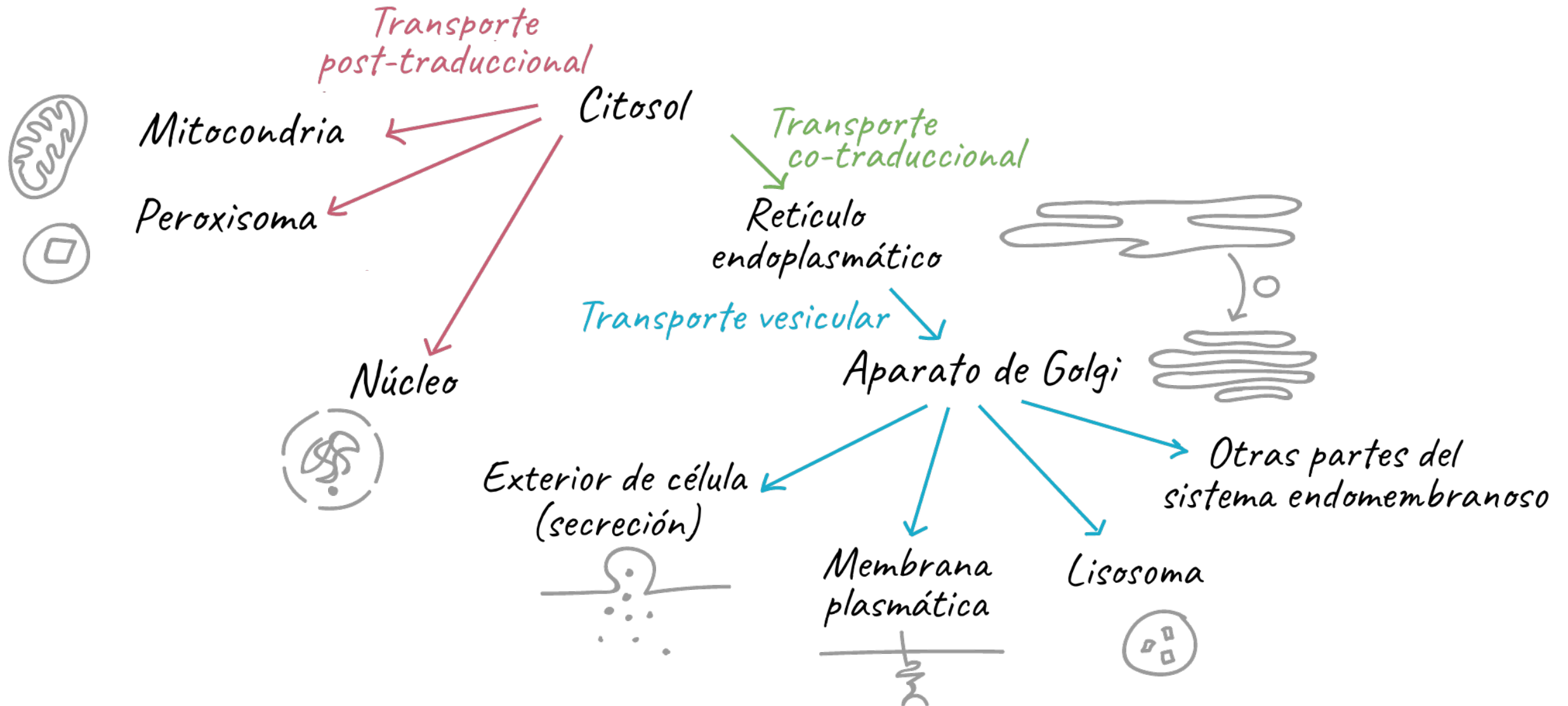


Enfermedades por mal plegamiento de proteínas

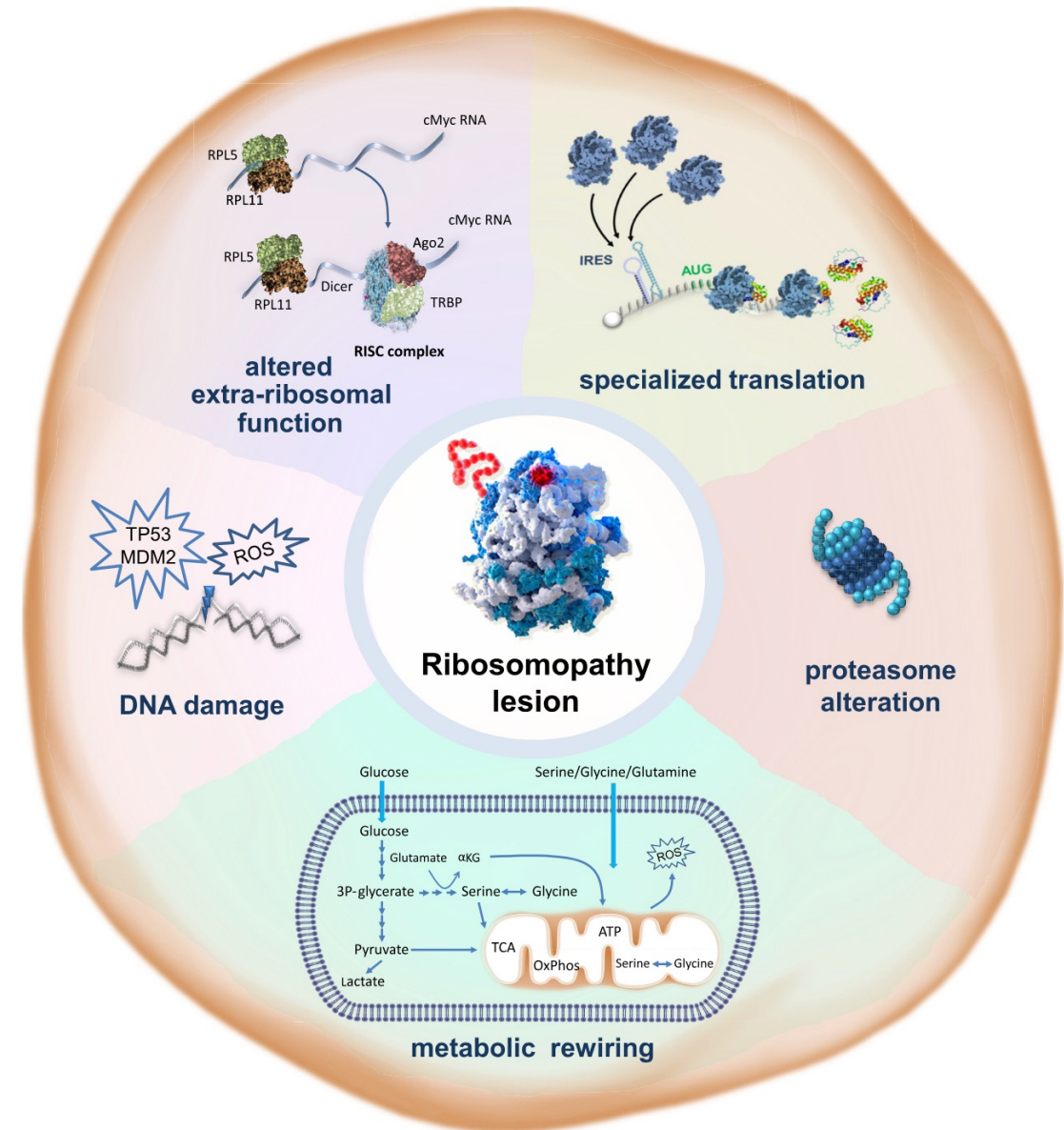
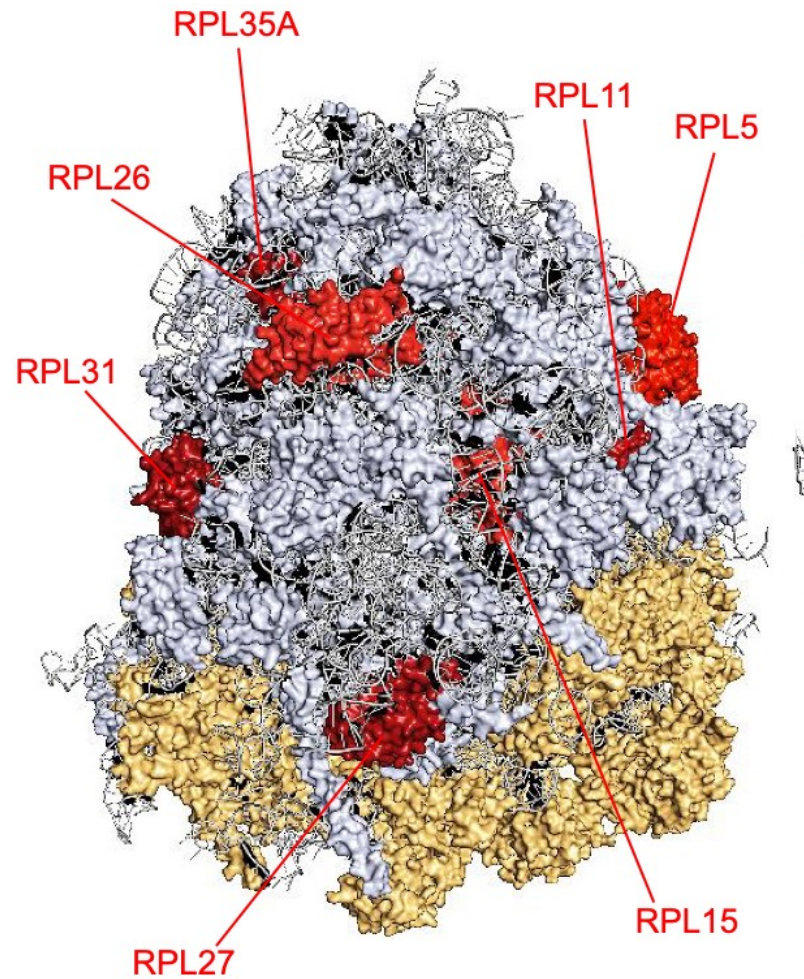
Enfermedad de Parkinson



Destino de las proteínas sintetizadas

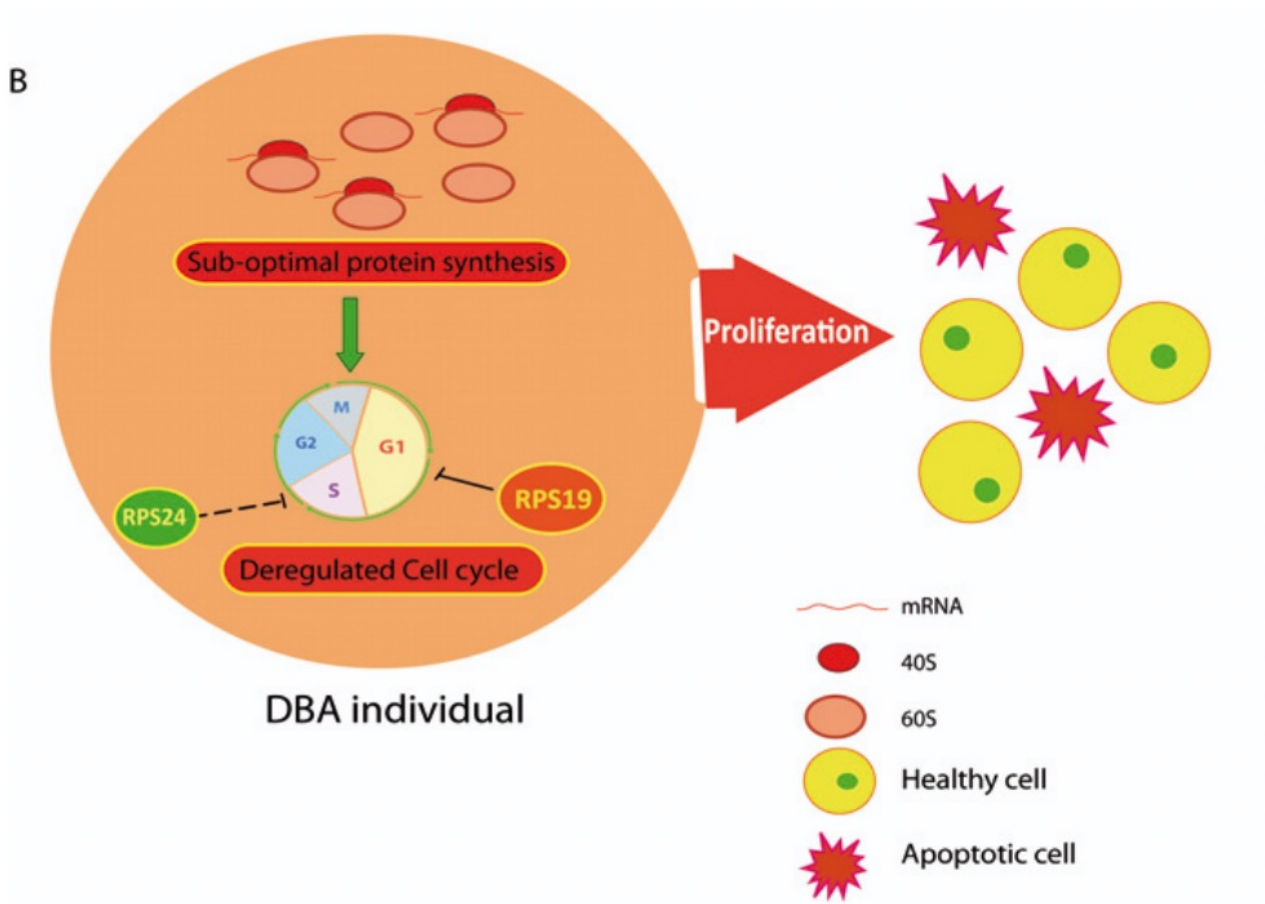


Ribosomopatías. Enfermedades ribosomales



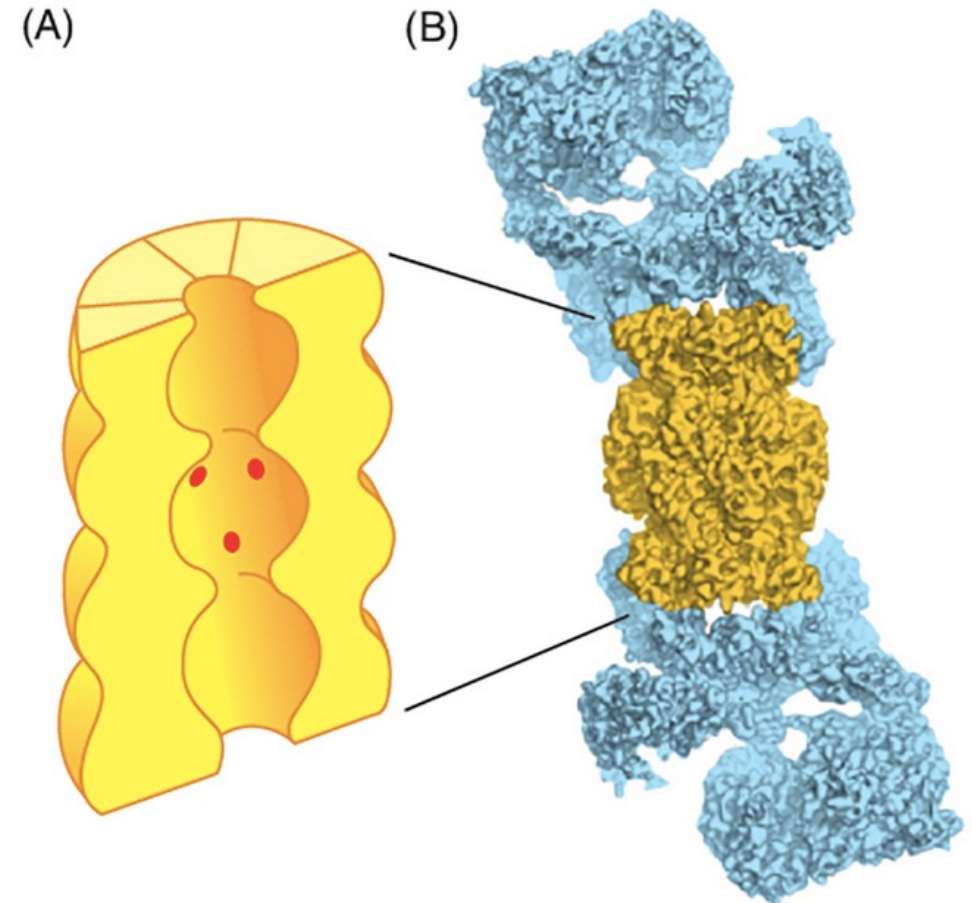
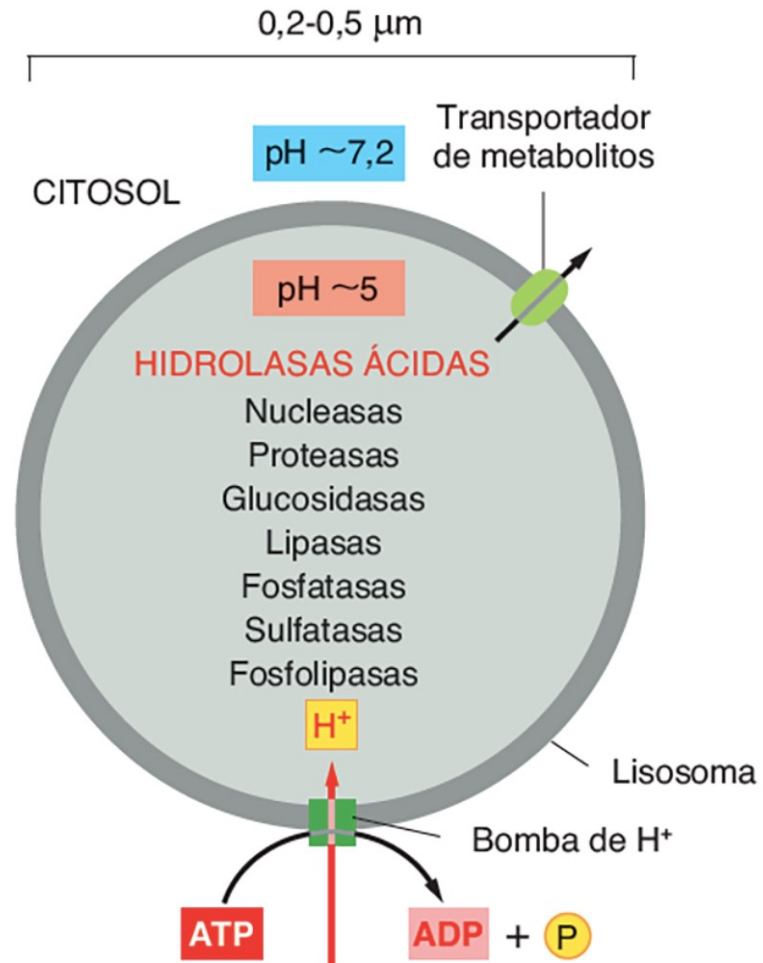
Diamond Blackfan Anemia

Disease	Genes	Genetics	Cancer susceptibility
Diamond-Blackfan anemia	<i>RPS7, RPS17, RPS19, RPS24, RPL5, RPL11, RPL35a,</i>	Autosomal dominant	leukemia, Osteosarcoma



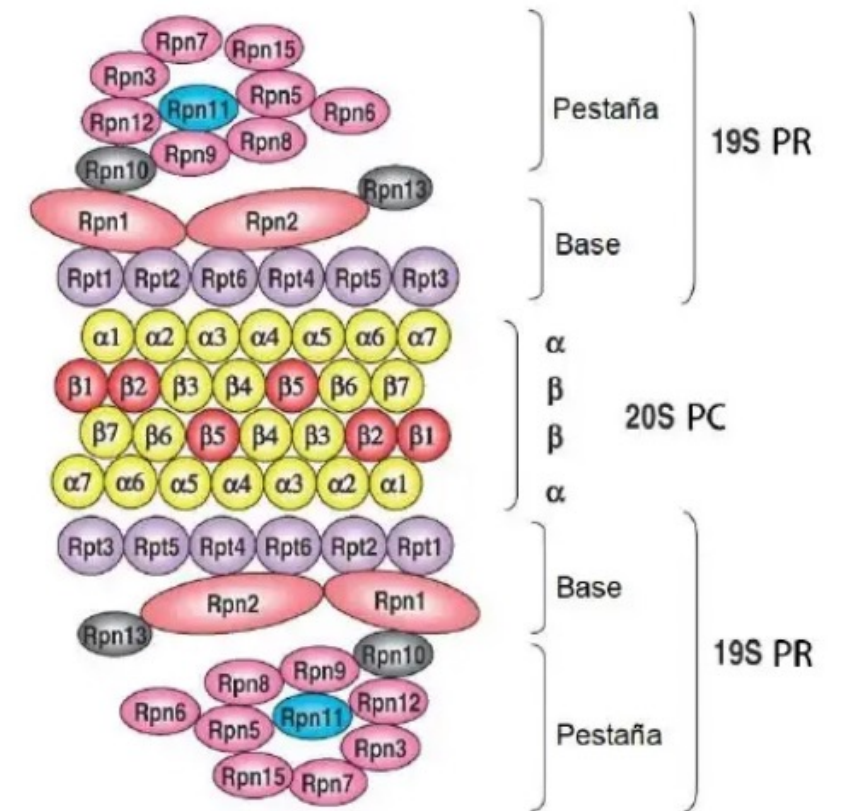
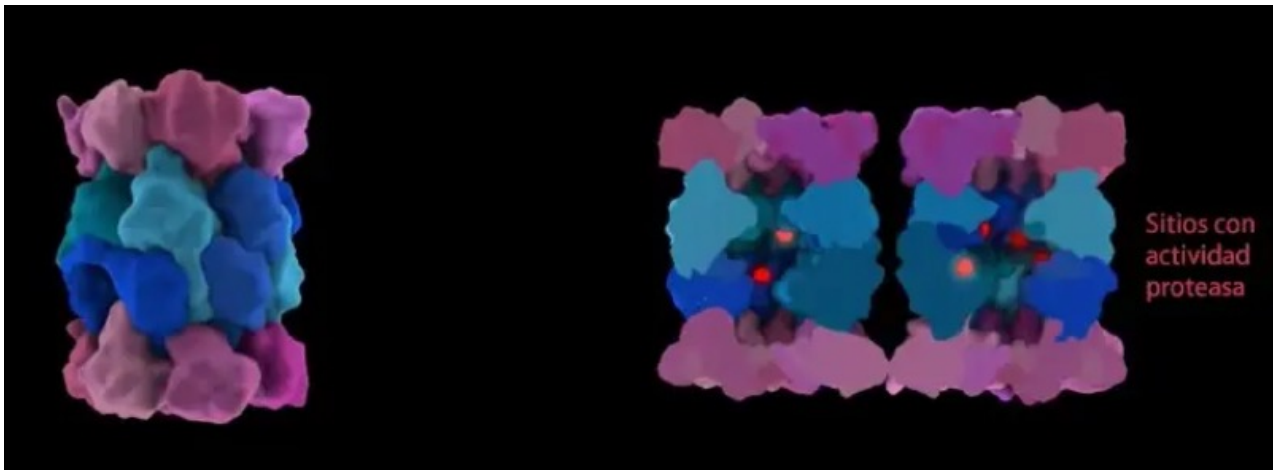
Degradación de las proteínas

La degradación proteica controlada ayuda a regular la cantidad de cada proteína en una célula



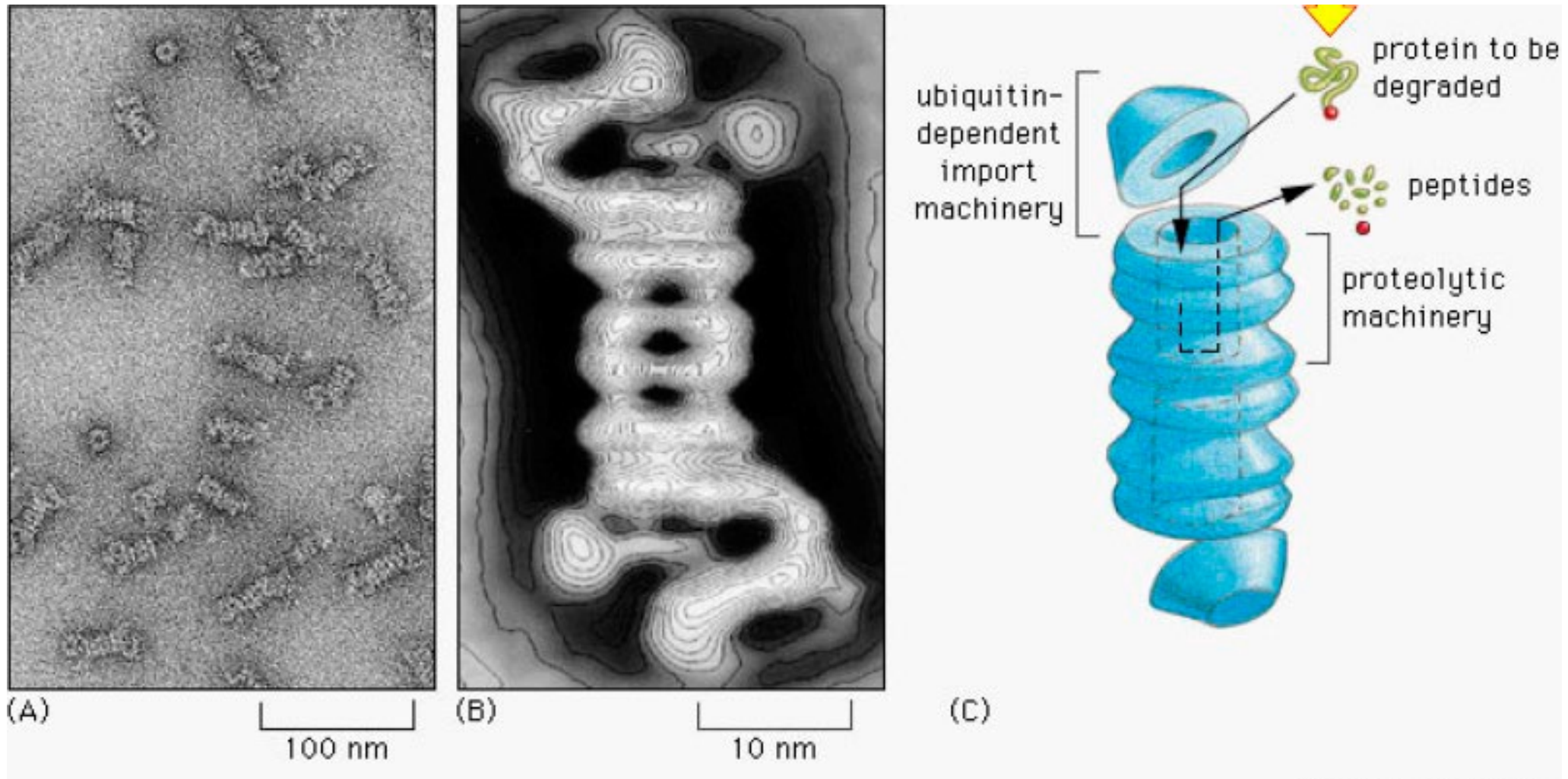
Sistema ubiquitin-proteosoma (UPS)

Las proteínas marcadas por una cadena de **poliubiquitina** son degradadas por el proteasoma



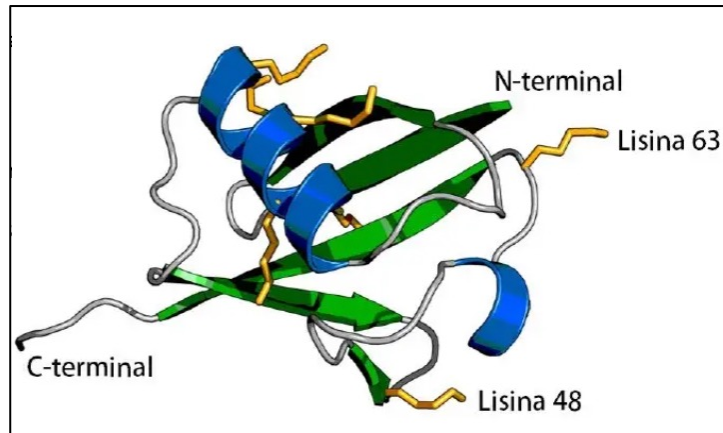
El proteasoma es un complejo proteico formado por **dos partículas reguladoras y dos partículas centrales**

Sistema ubiquitin-proteosoma (UPS)

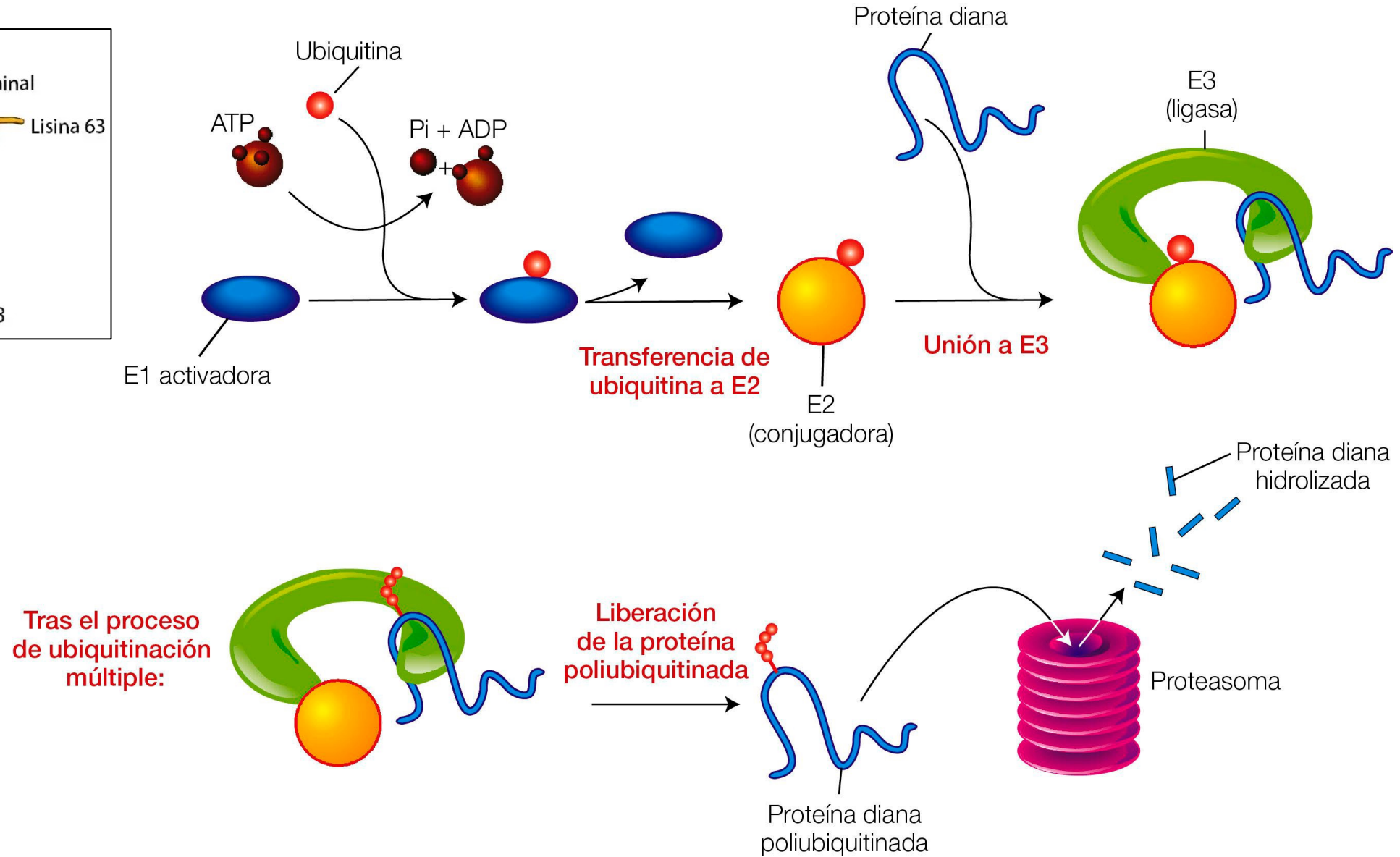


dos partículas reguladoras y dos partículas centrales

Sistema ubiquitina-proteosoma (UPS)

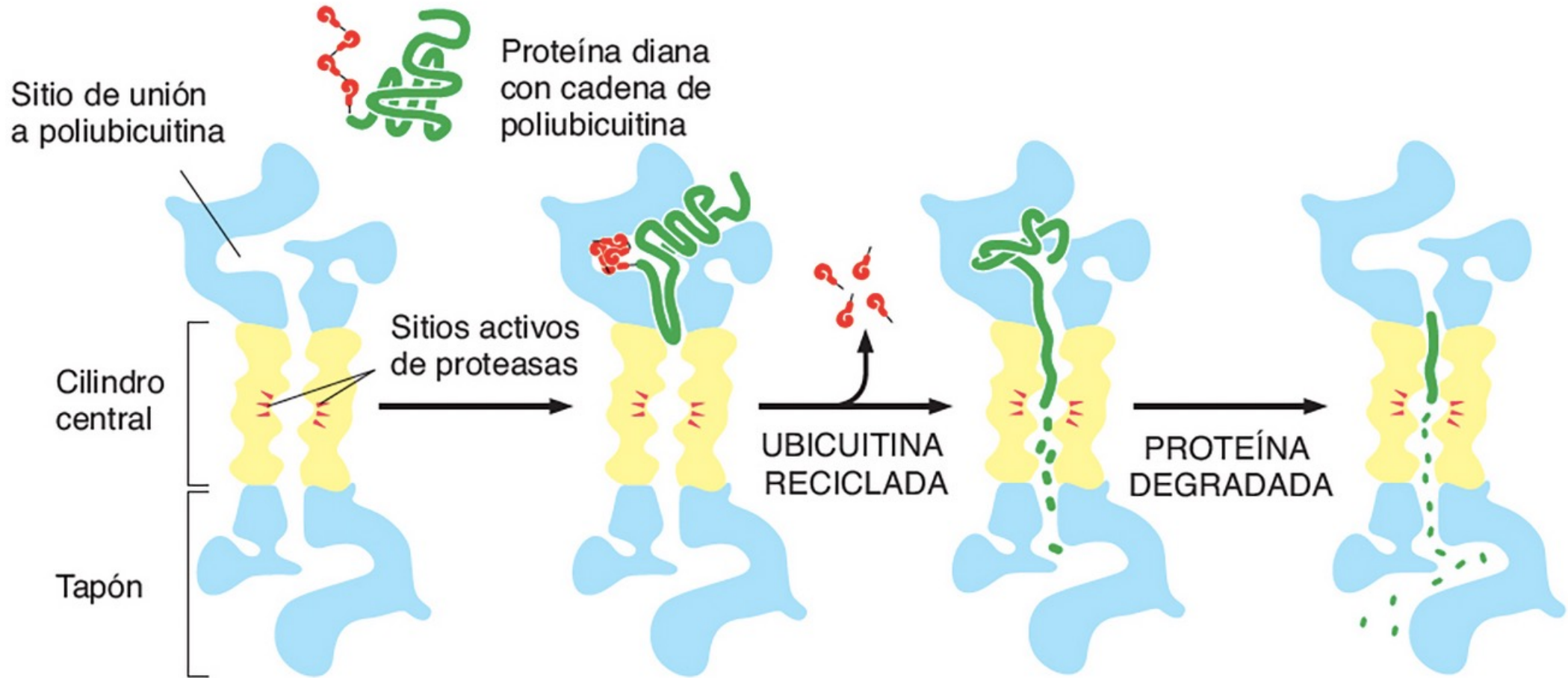


Polipéptido de 76 aa



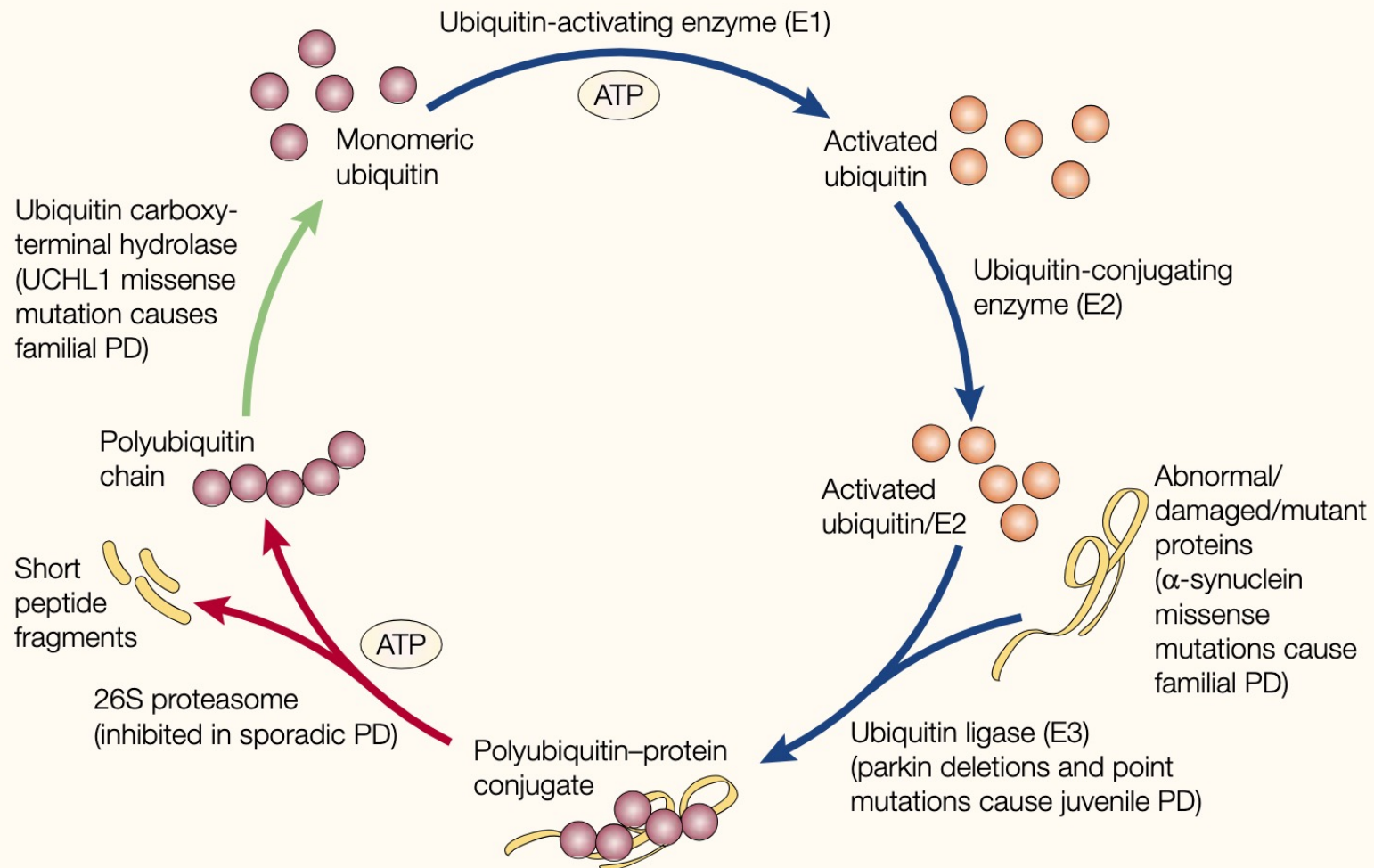
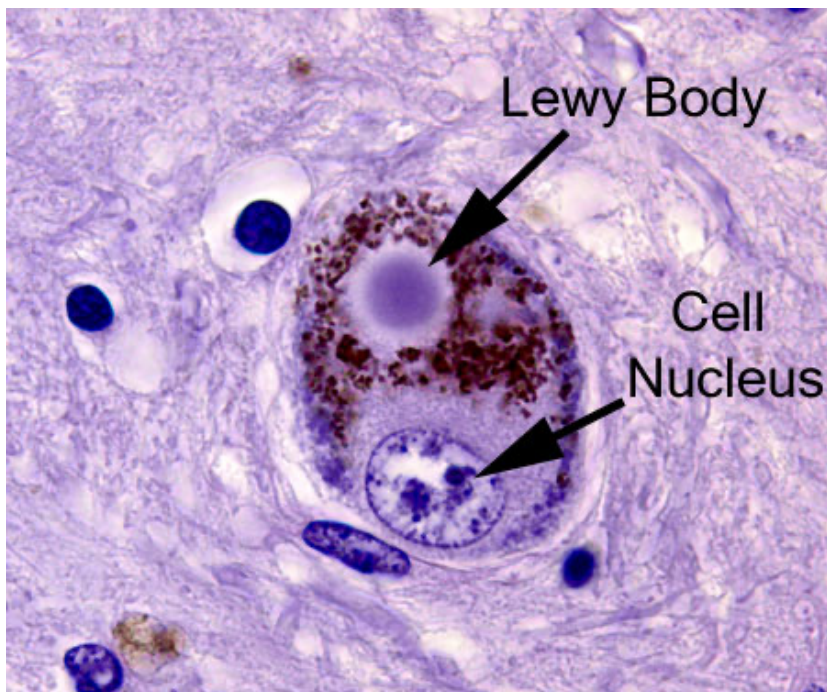
Sistema ubiquitina-proteosoma (UPS)

Las proteínas marcadas por una cadena de poliubiquitina son degradadas por el proteasoma



El proteasoma es un complejo proteico formado por **dos partículas reguladoras y dos partículas centrales**

Sistema ubiquitina-proteosoma (UPS)





Universidad de Valladolid

Ribosomas. Síntesis y degradación de proteínas

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

Sistema de endomembranas. Transporte vesicular. Endosomas

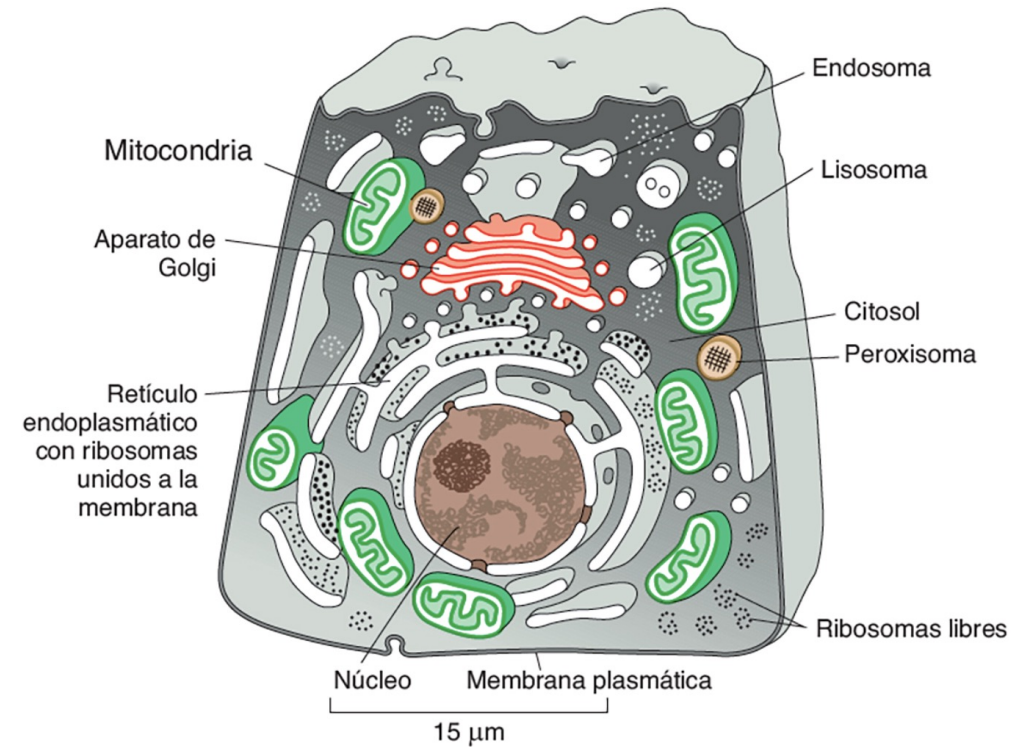
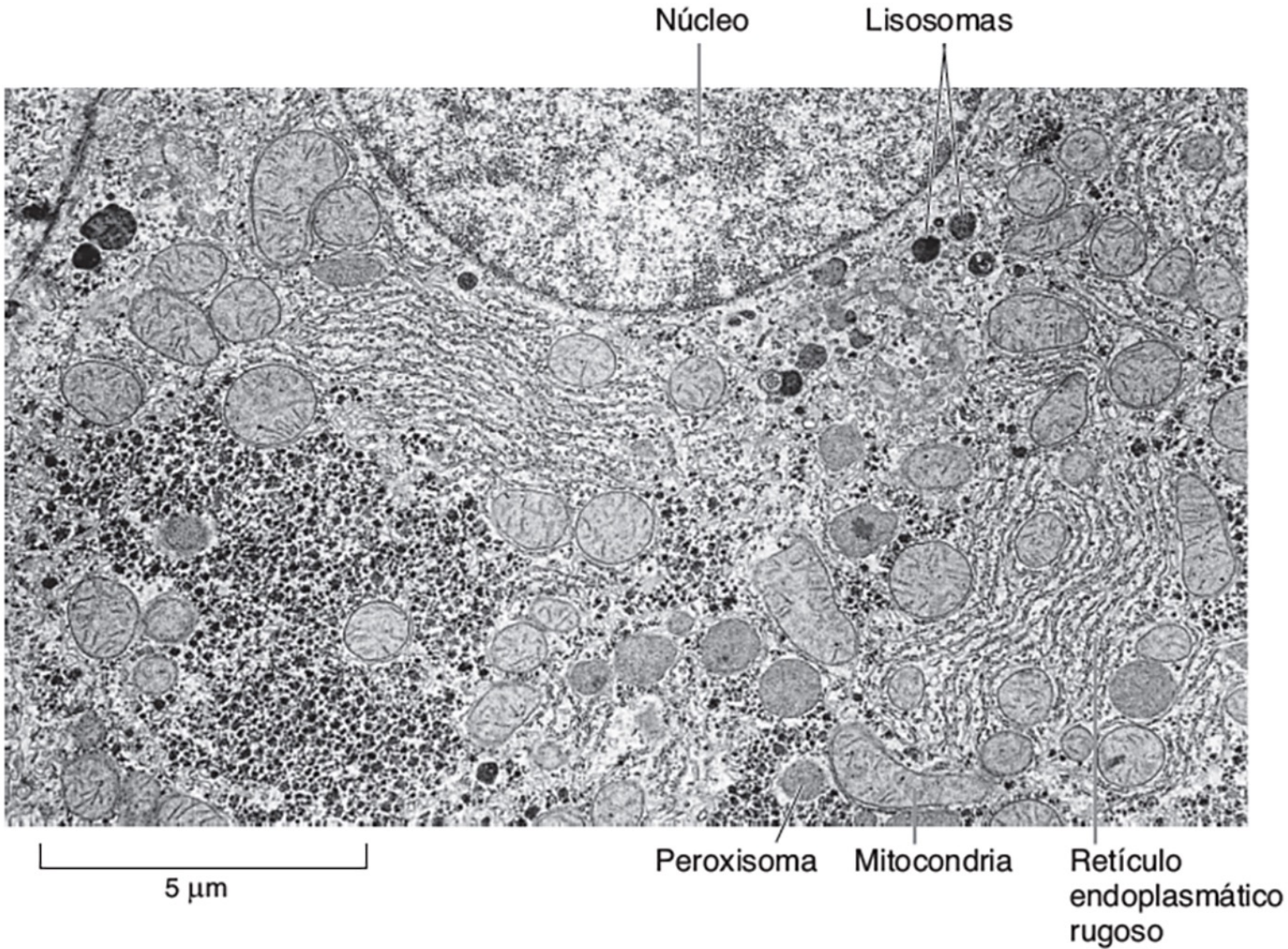
Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

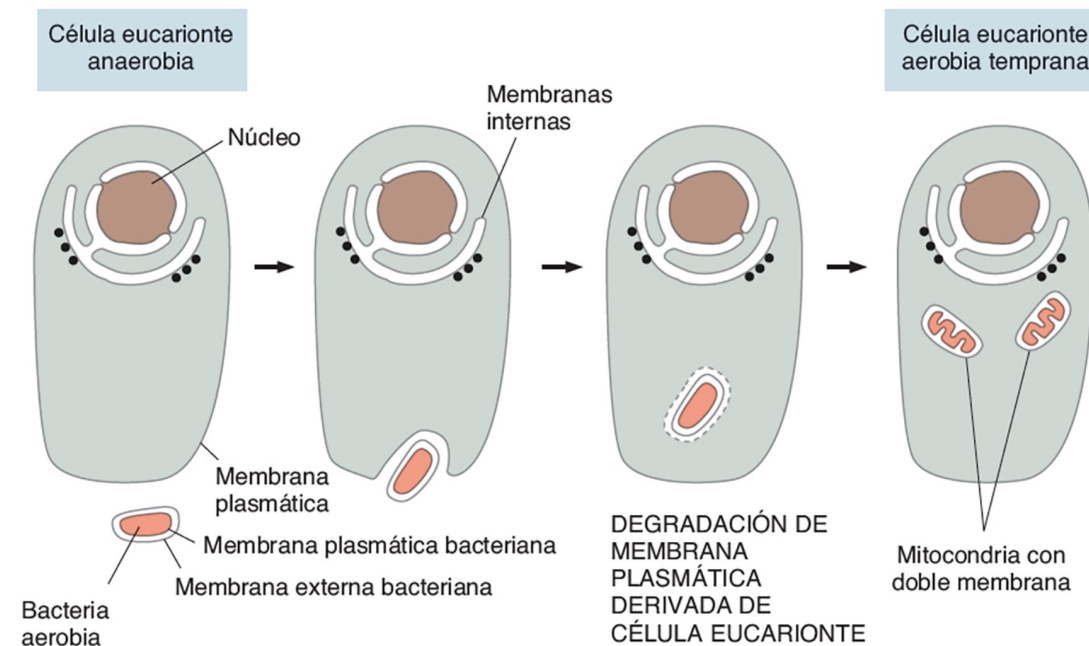
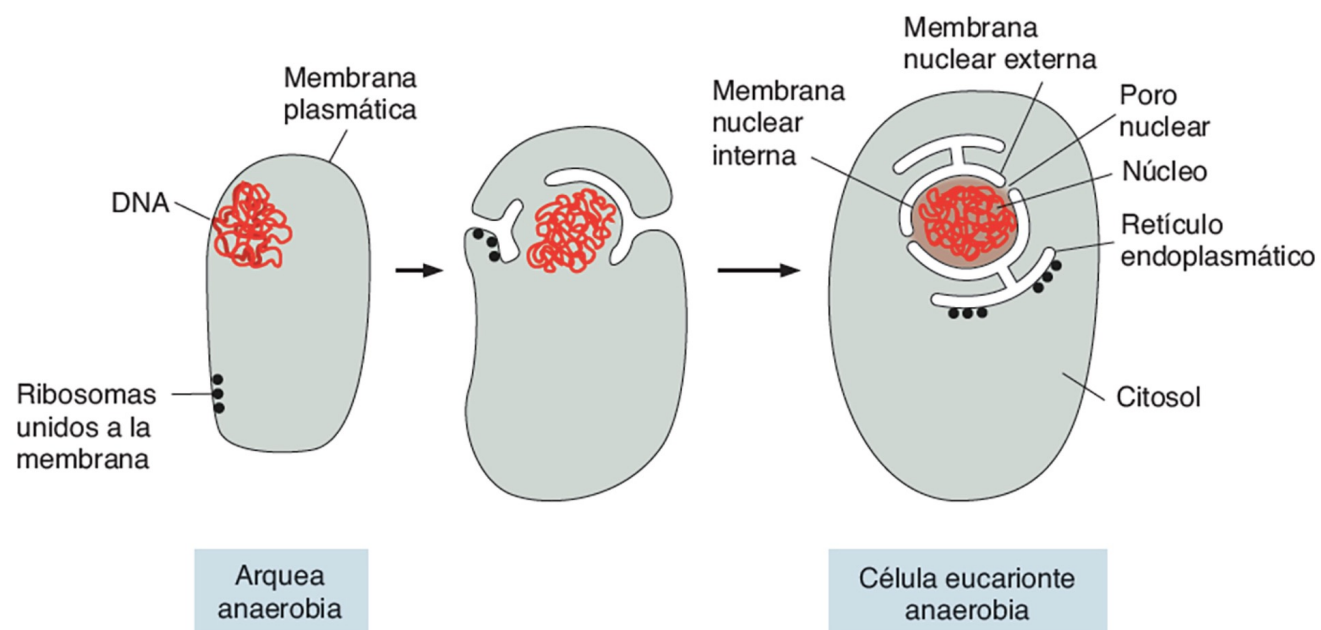
ricardo.usategui@uva.es

Sistema de endomembranas: orgánulos limitados por membrana

En las células eucariontes, las membranas internas crean compartimentos que están cerrados

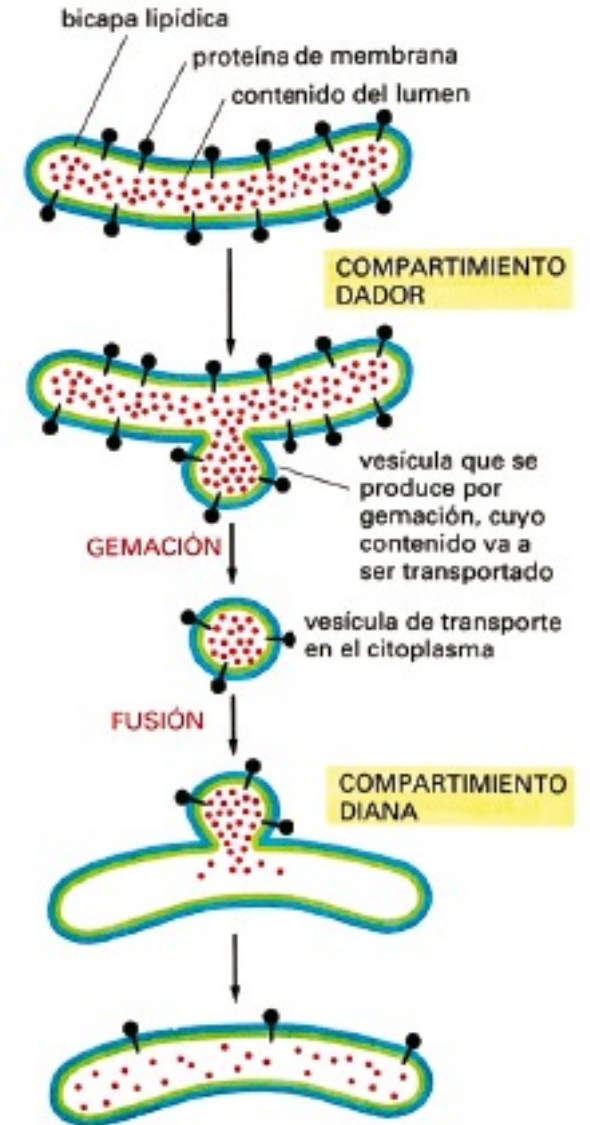
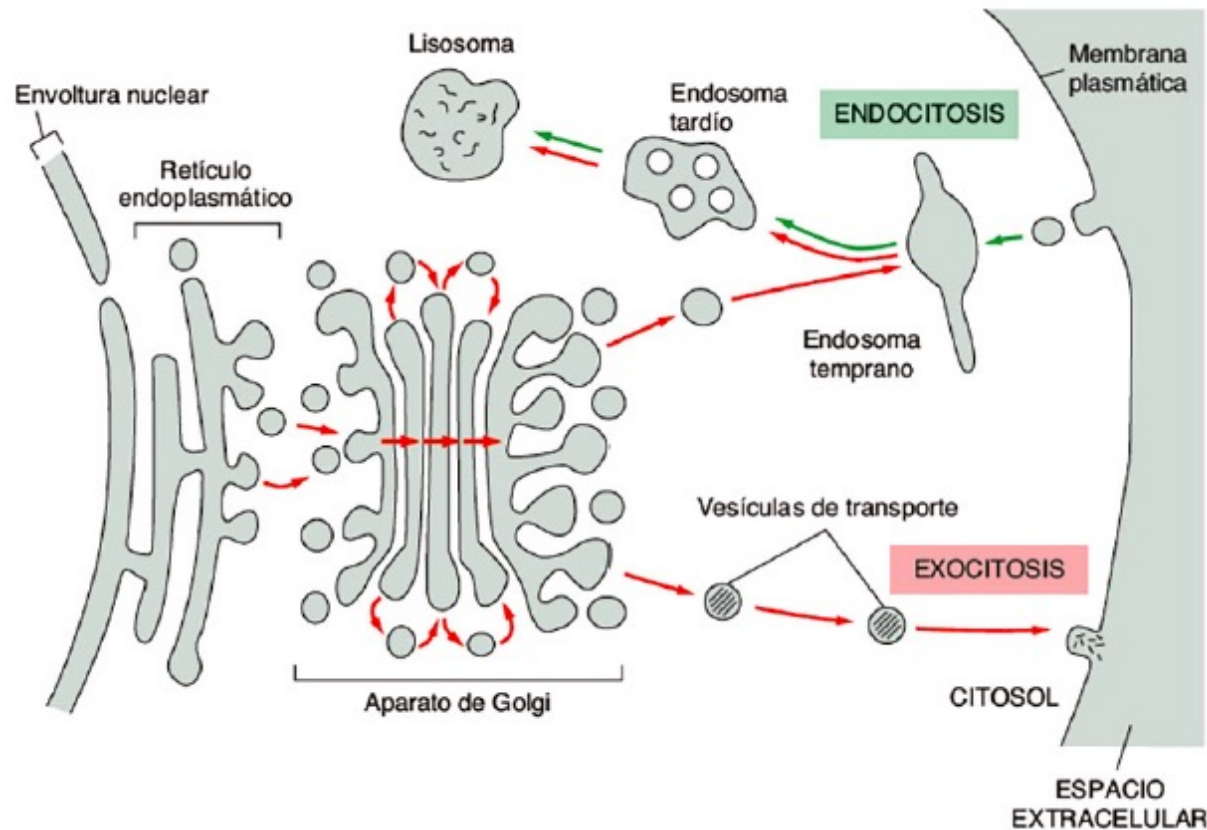


Orgánulos limitados por membrana



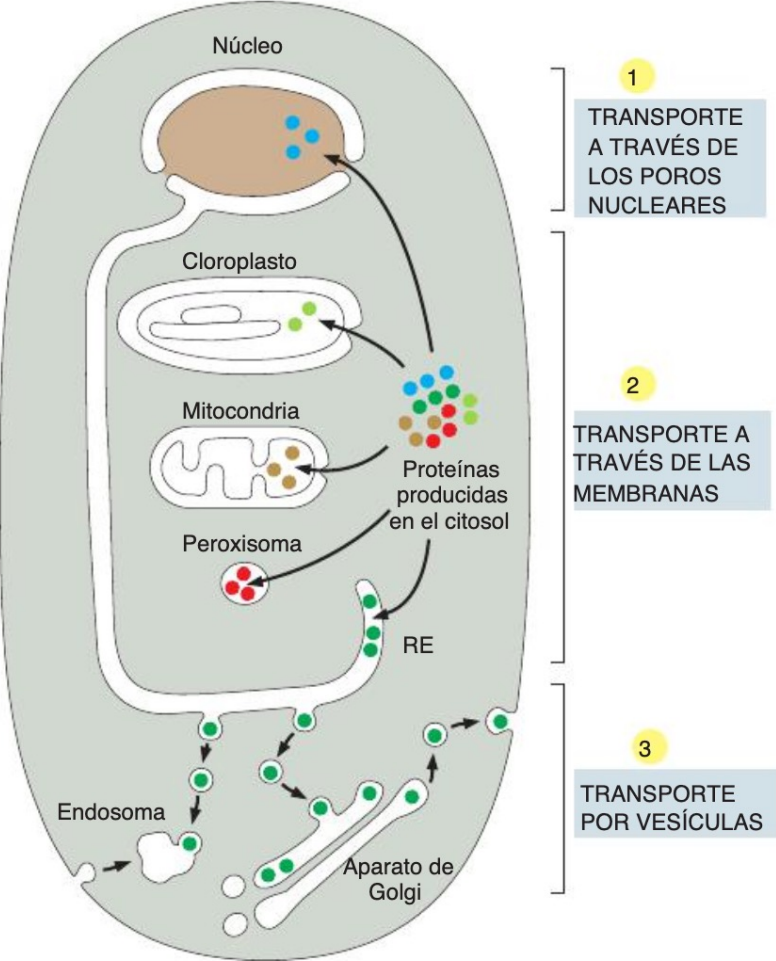
Orgánulos limitados por membrana

Los orgánulos del sistema de endomembranas **se relacionan estructural y funcionalmente** formando una red dinámica interconectada con intercambio de materiales.



Sistema de endomembranas. Distribución de las proteínas

Las proteínas son transportadas al interior de los orgánulos mediante tres mecanismos



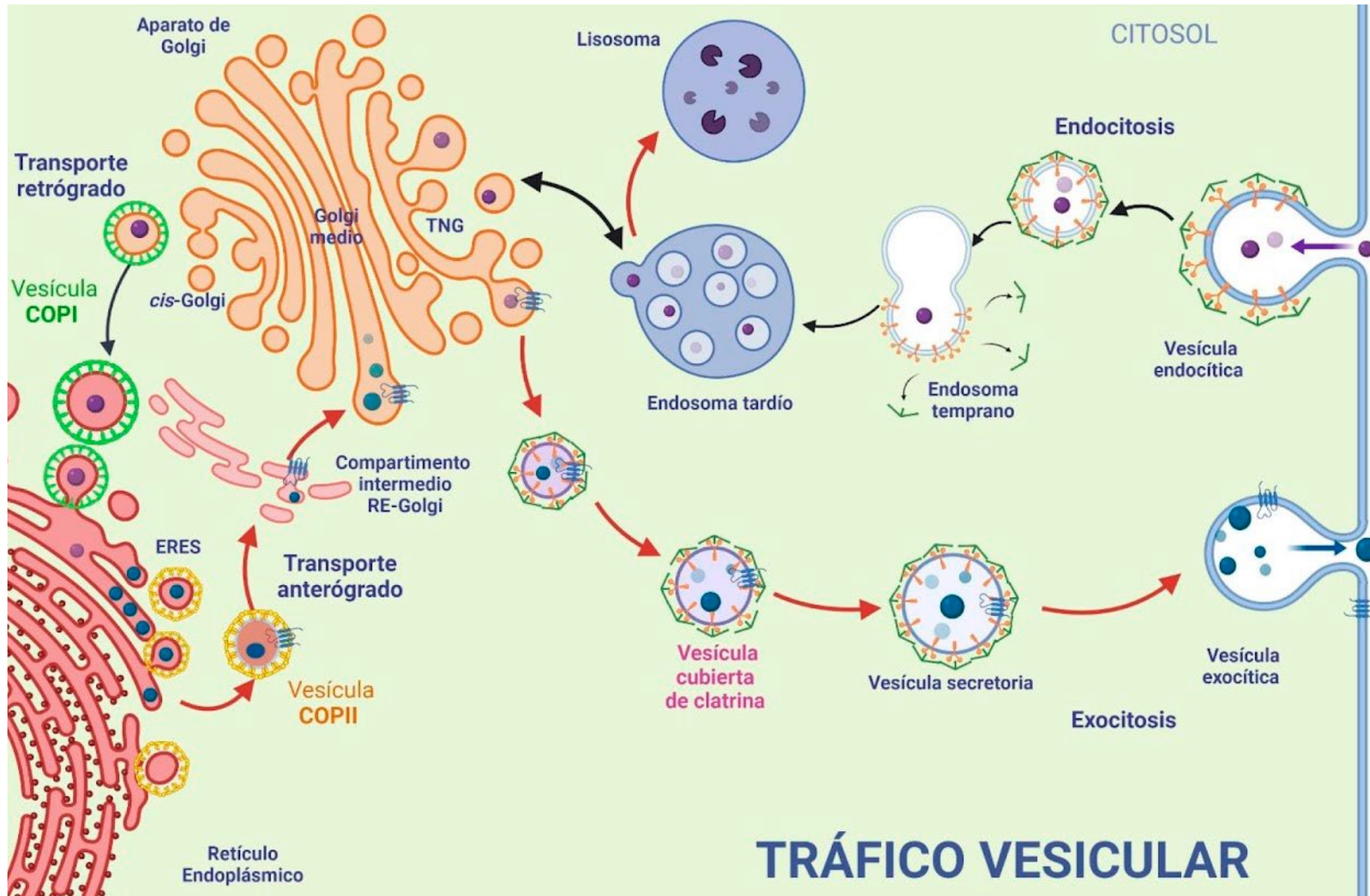
CUADRO 15-3 ALGUNAS SECUENCIAS SEÑAL TÍPICAS

Función de la señal	Ejemplo de secuencia señal
Importación al RE	⁺ H ₃ N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Retención en la luz del RE	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO ⁻
Importación a mitocondrias	⁺ H ₃ N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Importación al núcleo	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Exportación desde el núcleo	-Met-Glu-Glu-Leu-Ser-Gln-Ala-Leu-Ala-Ser-Ser-Phe-
Importación a peroxisomas	-Ser-Lys-Leu-

Los aminoácidos con carga positiva se muestran en rojo, y los aminoácidos con carga negativa en azul. Los aminoácidos hidrófobos importantes se muestran en verde. ⁺H₃N indica el extremo N-terminal de una proteína; COO⁻ indica el extremo C-terminal.

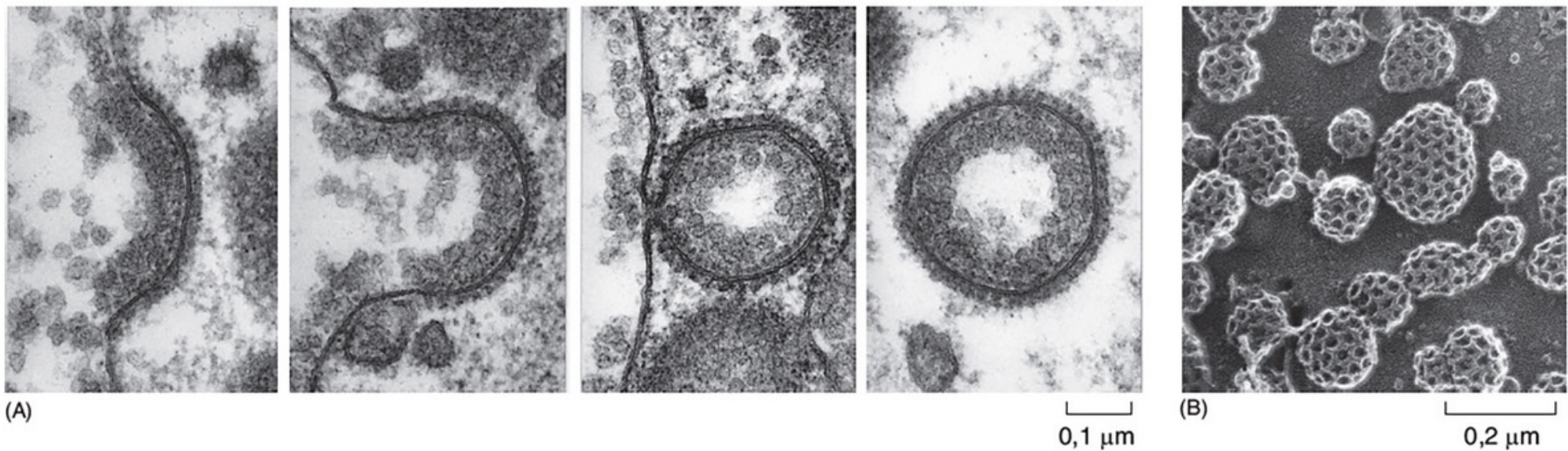
Las secuencias señal dirigen las proteínas al compartimento correcto: **15 a 60 aminoácidos**

Comunicación entre orgánulos por vesículas



- Ruta exportadora
- Ruta importadora

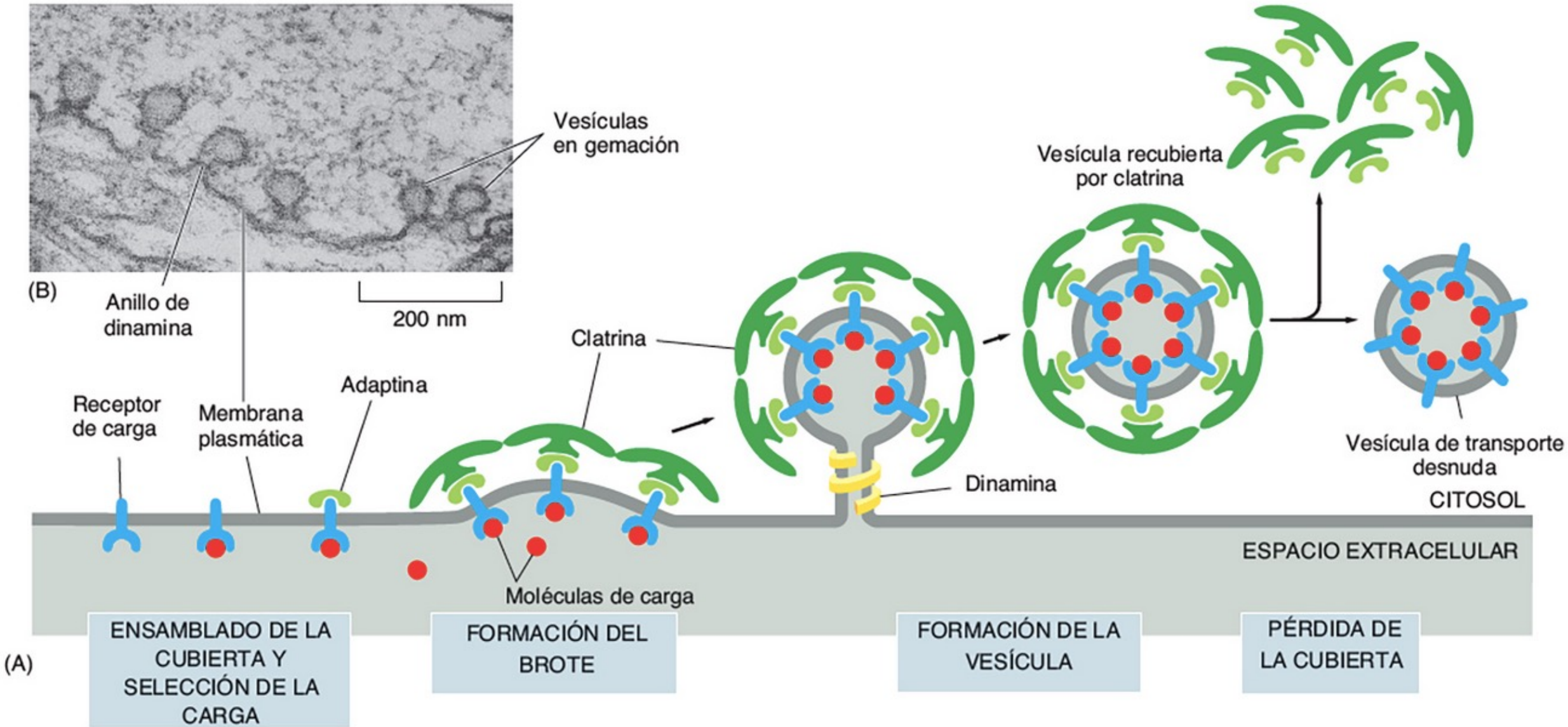
Vesículas recubiertas: selectividad y comunicación bidireccional



CUADRO 15-4 ALGUNOS TIPOS DE VESÍCULAS RECUBIERTAS

Tipo de vesícula recubierta	Proteínas de la cubierta	Origen	Destino
Recubierta por clatrina	Clatrina + adaptina 1	Aparato de Golgi	Lisosoma (a través de los endosomas)
Recubierta por clatrina	Clatrina + adaptina 2	Membrana plasmática	Endosomas
Recubierta por COPII	Proteínas COPII	RE	Cisterna de Golgi
Recubierta por COPI	Proteínas COPI	Cisterna de Golgi	RE

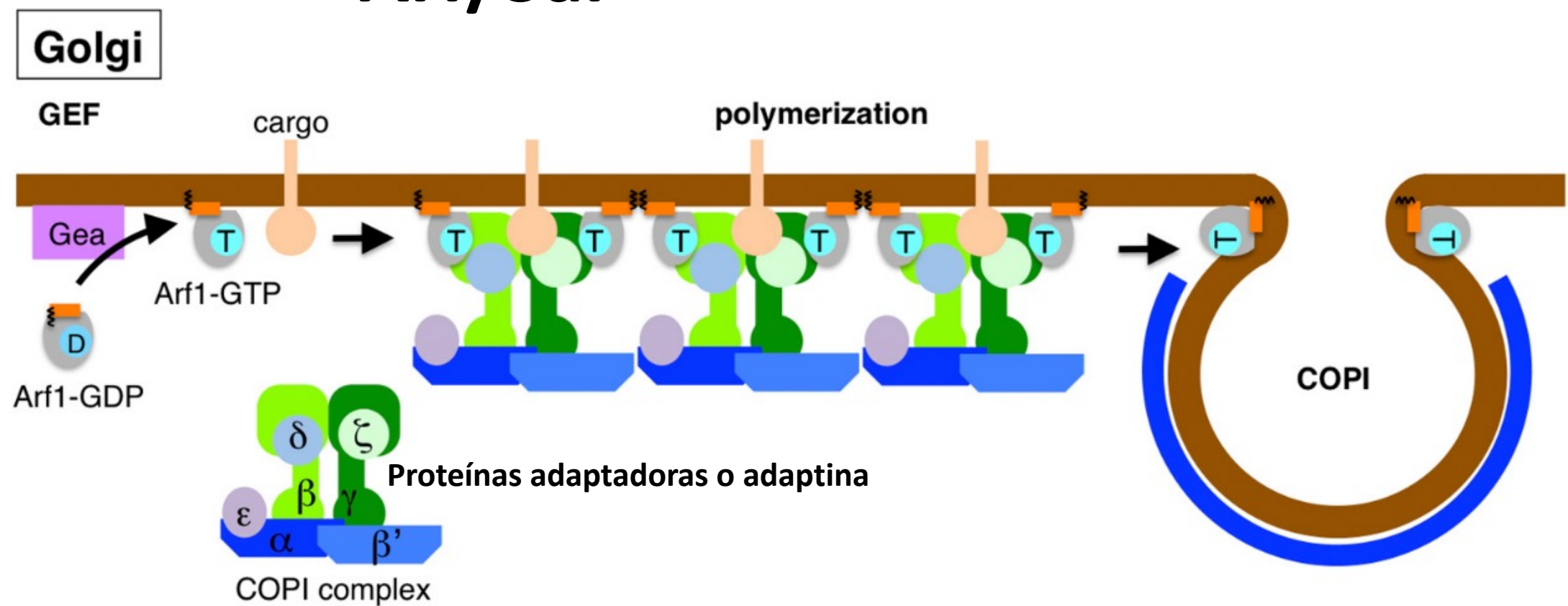
Formación de las vesículas



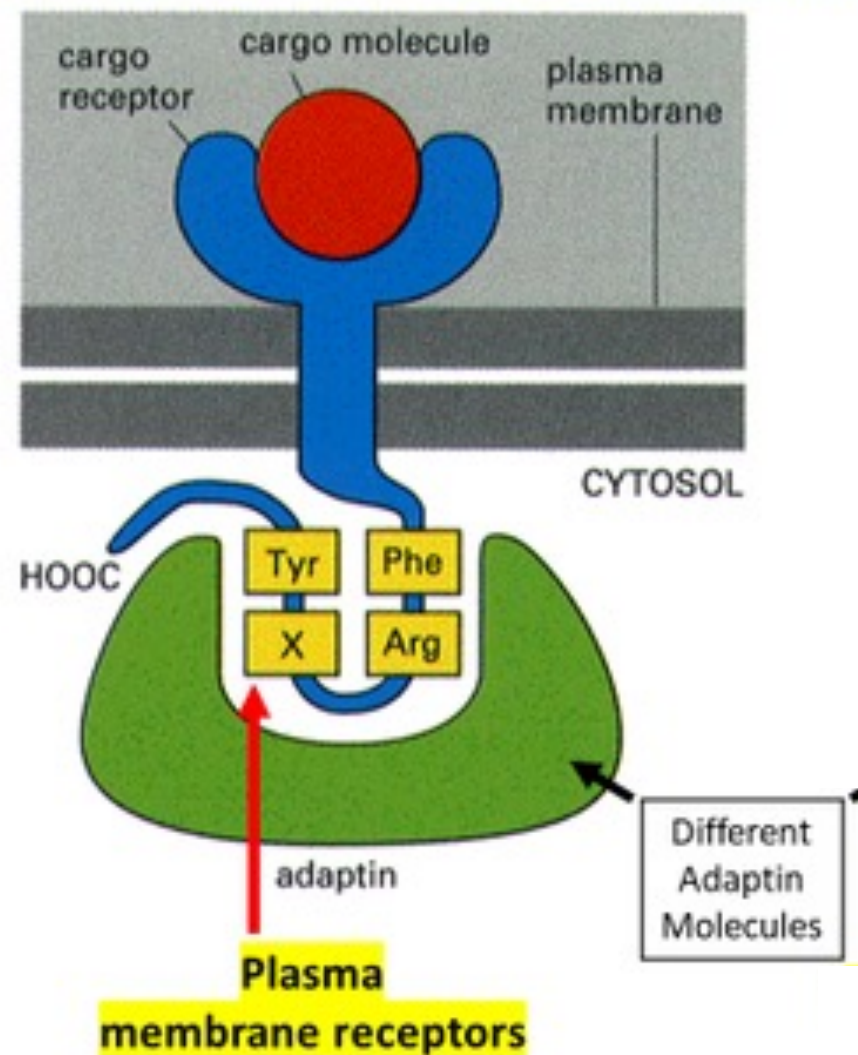
Inicio de la formación de las vesículas: activación de proteínas G

Arf/Sar

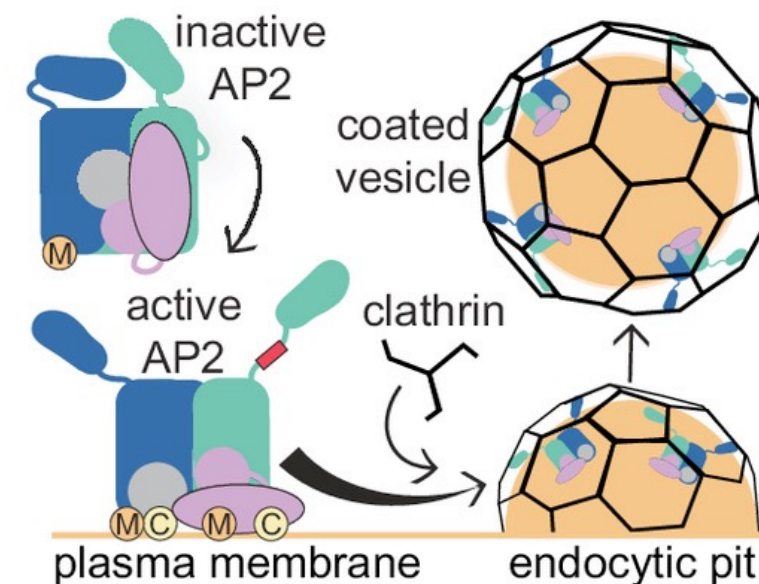
Arf (ADP-ribosylation factor)/Sar(secretion-associated release)



Formación de las vesículas: las adaptinas



AP2 subunits contain binding sites for:
— clathrin © cargo
Ⓜ membrane

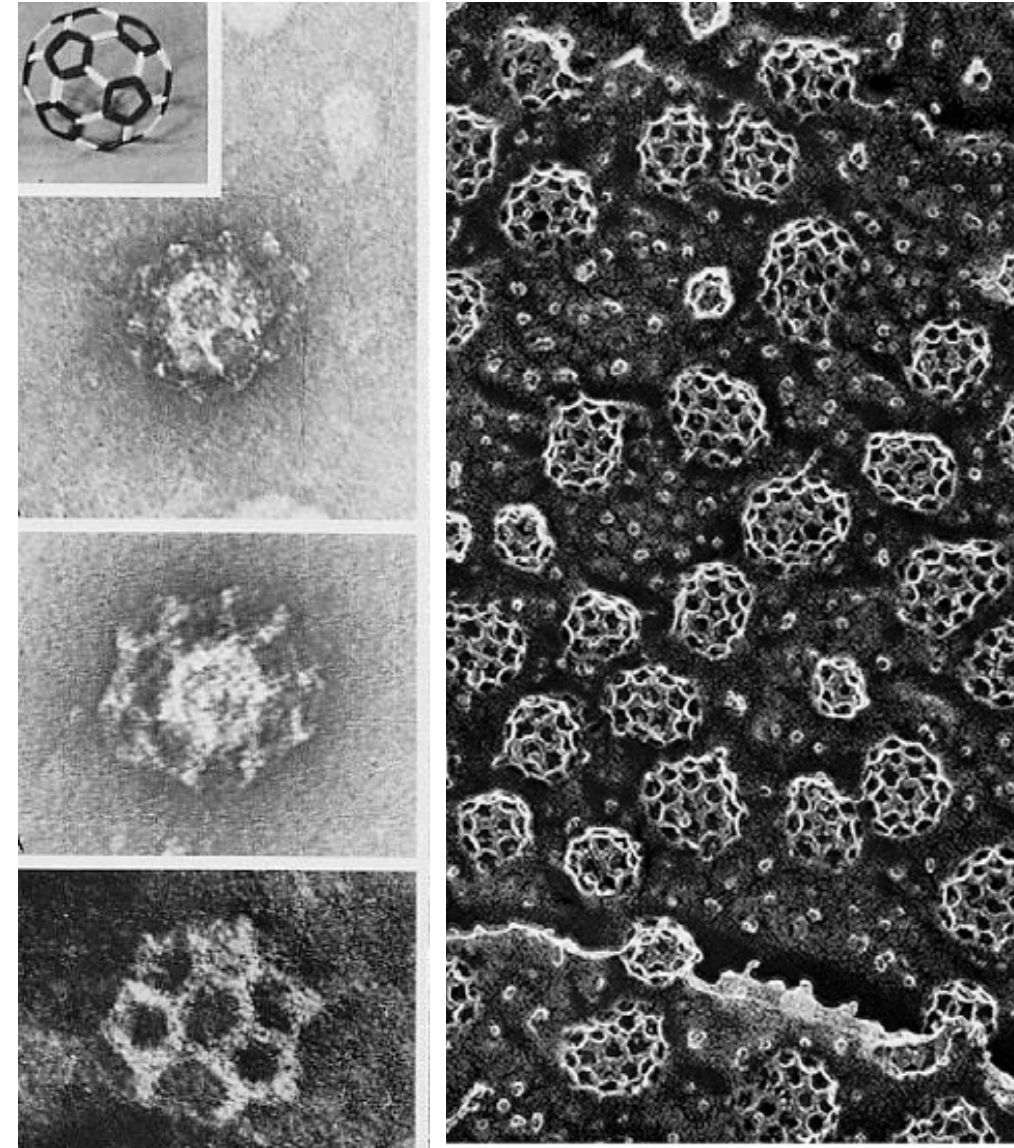
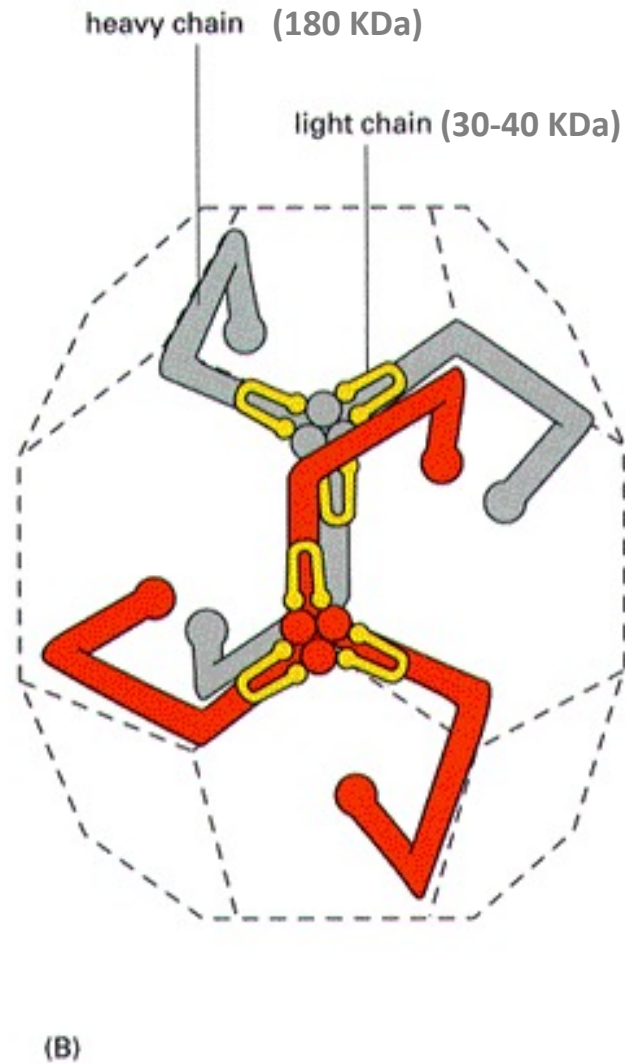


La fosforilación de las adaptinas favorece su función

Formación de las vesículas: envuelta de clatrina

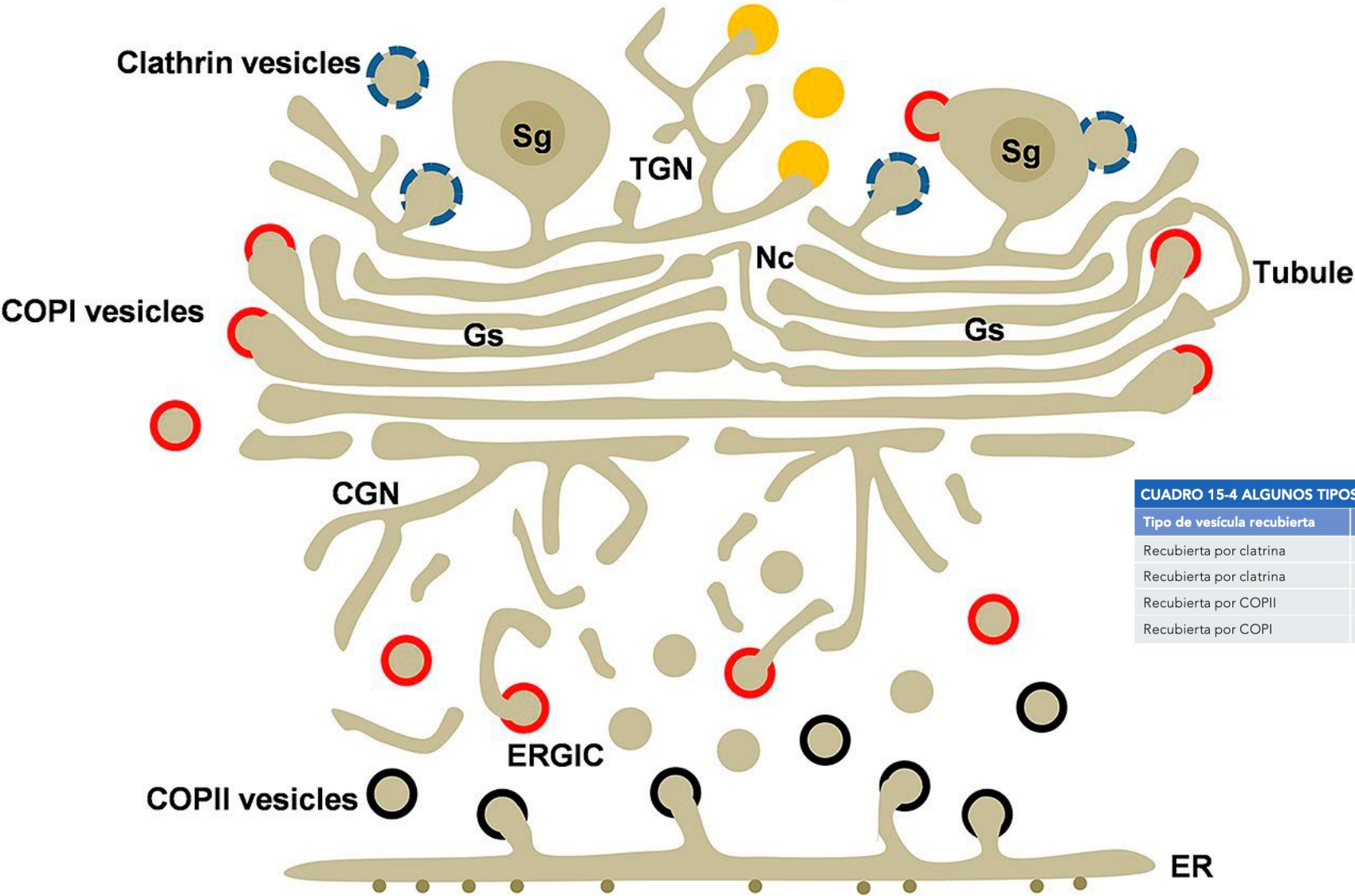
Trisquelion

32 trisquelion
forman una
red de 12
pentágonos y
6 hexágonos



Formación de las vesículas: envuelta de clatrina o COP

Constitutive secretory carriers

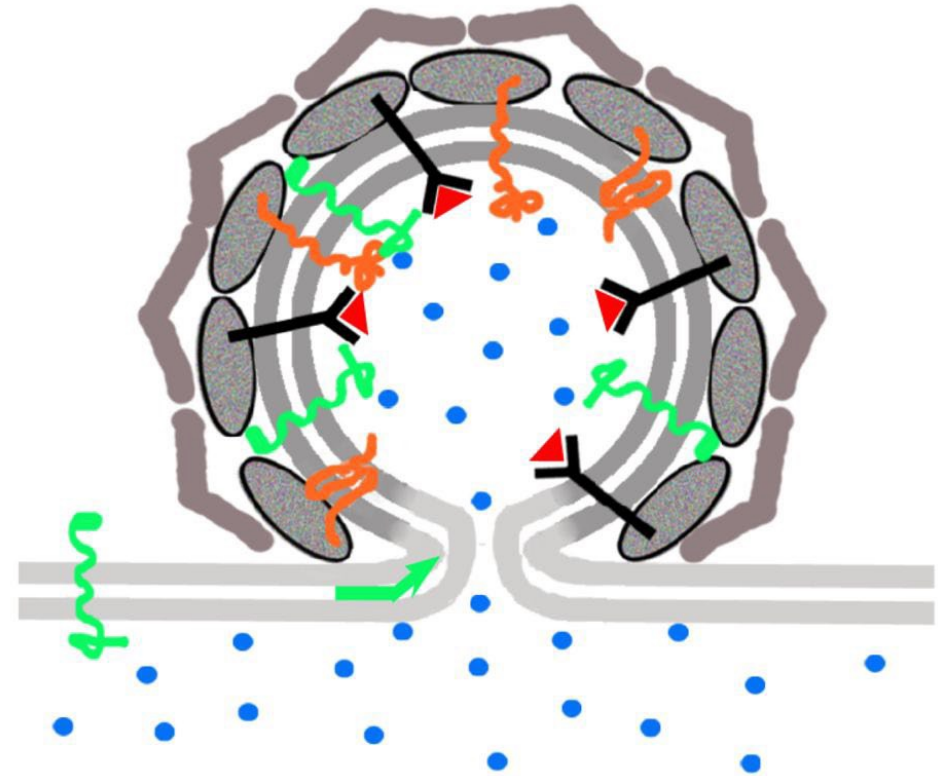


CUADRO 15-4 ALGUNOS TIPOS DE VESÍCULAS RECUBIERTAS			
Tipo de vesícula recubierta	Proteínas de la cubierta	Origen	Destino
Recubierta por clatrina	Clatrina + adaptina 1	Aparato de Golgi	Lisosoma (a través de los endosomas)
Recubierta por clatrina	Clatrina + adaptina 2	Membrana plasmática	Endosomas
Recubierta por COPII	Proteínas COPII	RE	Cisterna de Golgi
Recubierta por COPI	Proteínas COPI	Cisterna de Golgi	RE

Formación de las vesículas: localización de la carga

Localización en la vesícula:

- Solubles, en el interior de la vesícula
- Proteína transmembrana
- Ligando unido a un receptor



Key

• Soluble cargo transported by bulk flow

◄ Soluble cargo captured by receptors

◉ Adaptor proteins of the inner layer of the coat

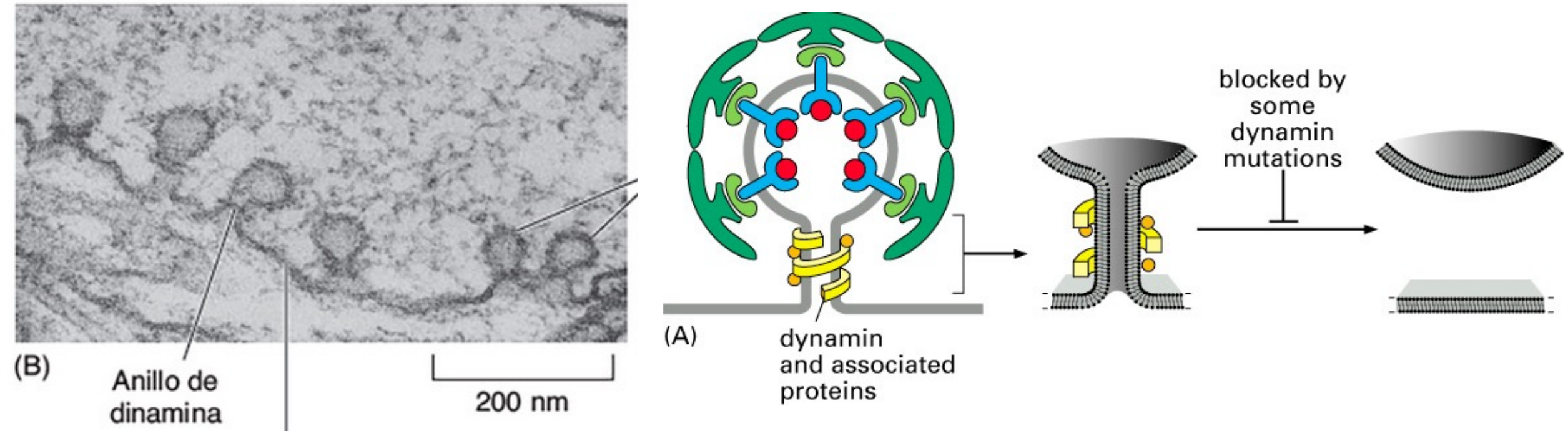
◉ Membrane cargo proteins equipped with export signal in their cytosolic tails

◉ Membrane cargo protein that enters budding vesicle by partitioning

◉ Cage-forming proteins of the outer layer of the coat

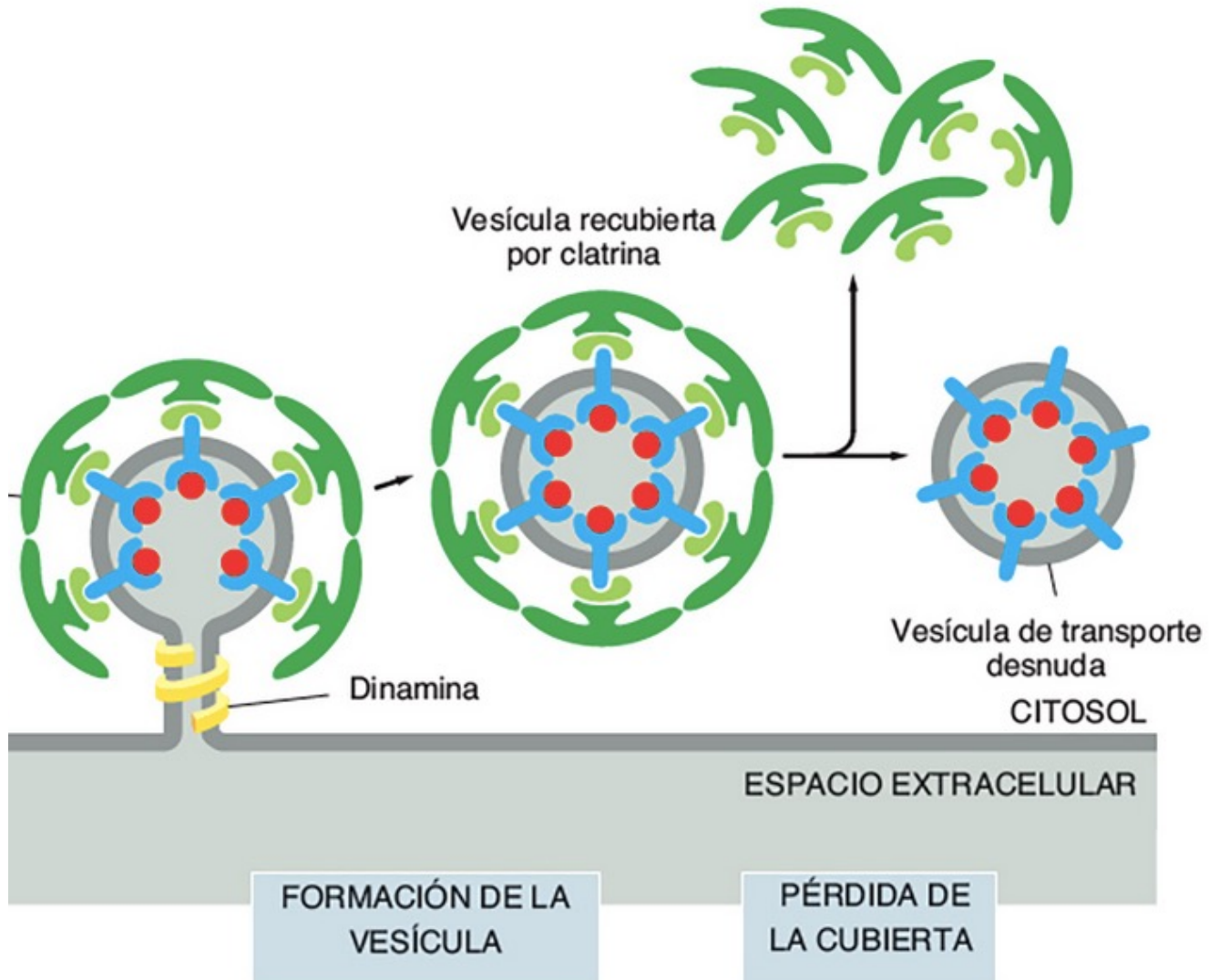
◉ Cargo receptor

Formación de las vesículas: la dinamina



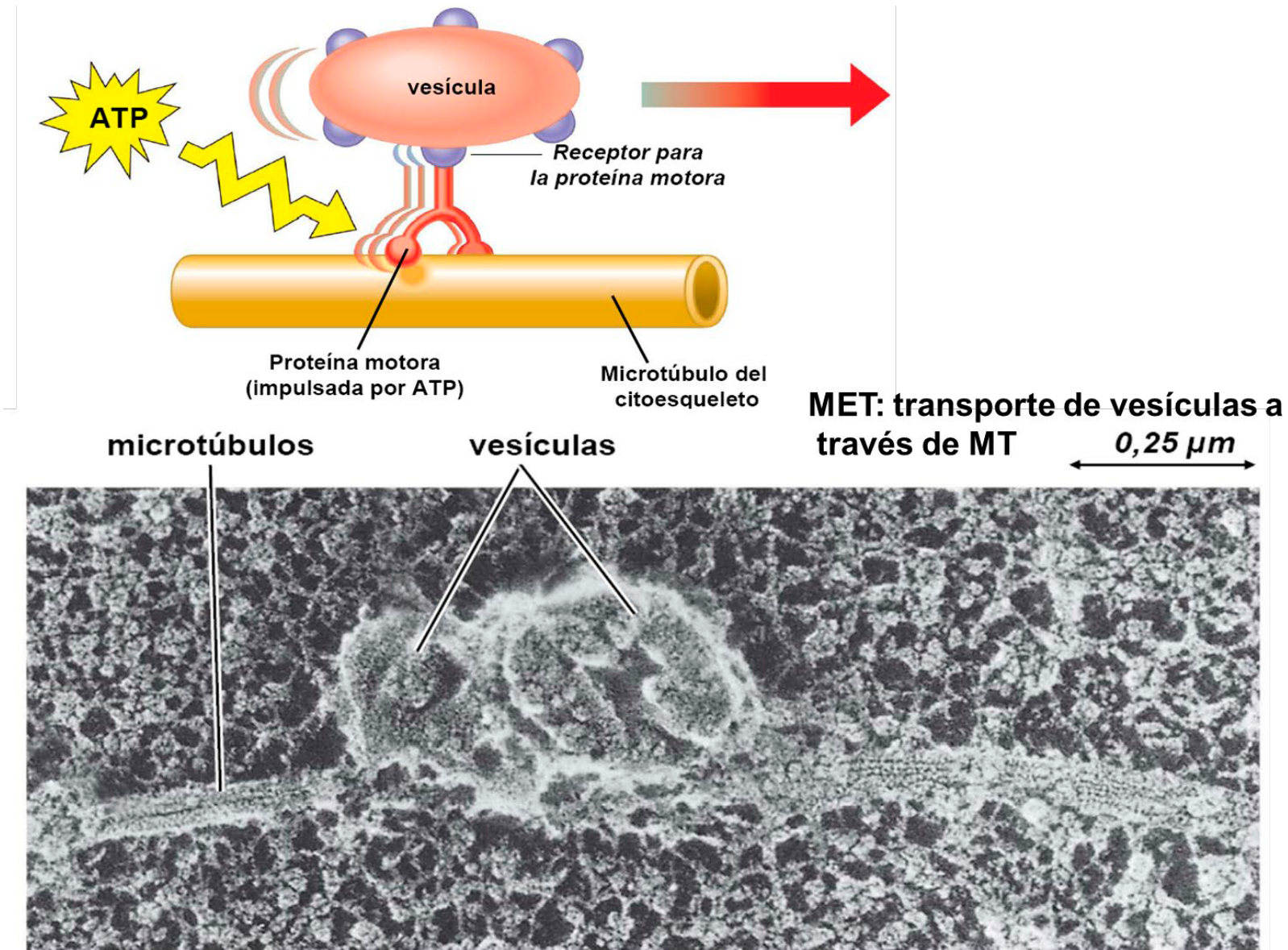
La hidrólisis de GTP permite la contracción de la dinamina y la escisión de la vesícula

La cubierta proteica se desensambla



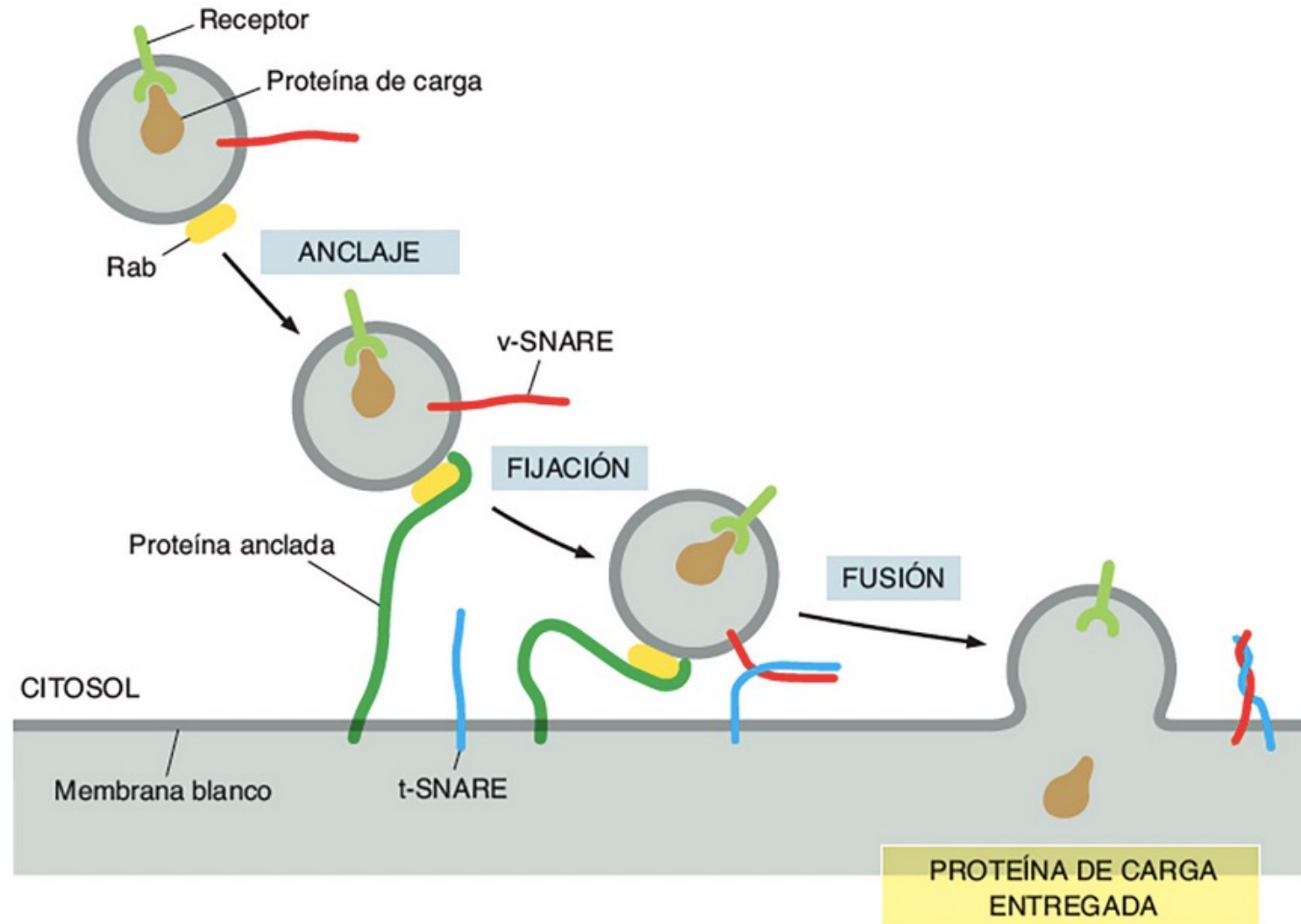
- **Proteínas** (chaperonas HSC70)
- **ATP**
- **Ca²⁺**

Movimiento de las vesículas



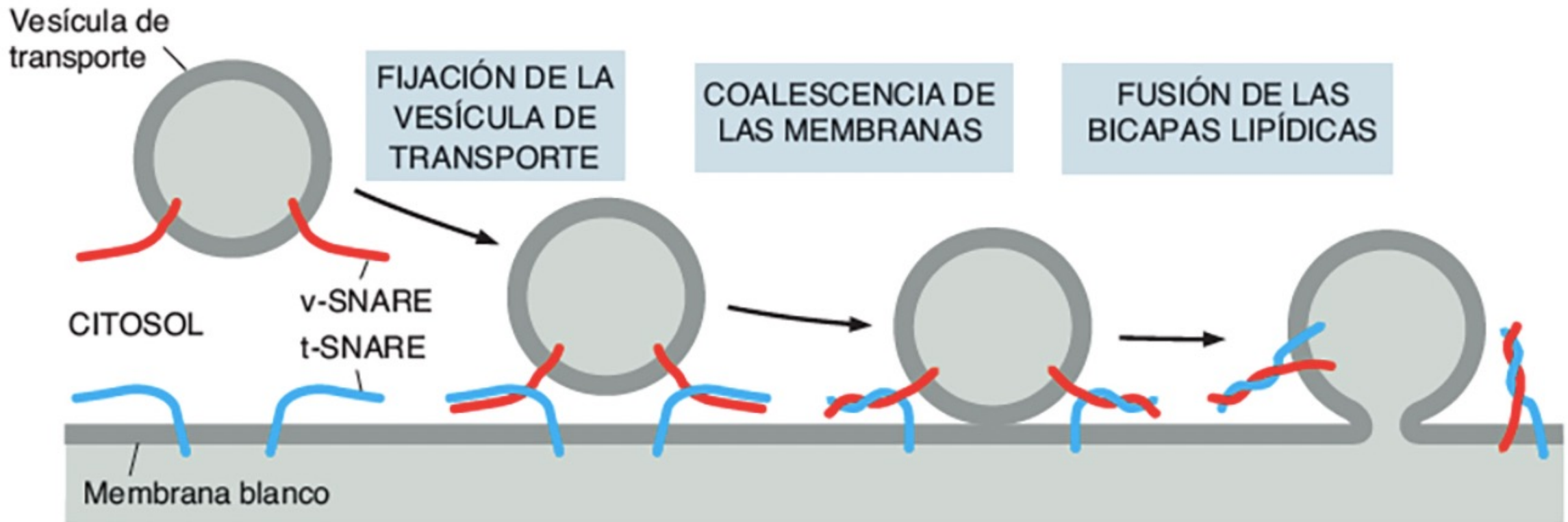
Fusión de las vesículas con su membrana de destino

Las proteínas **Rab** (GTPasa monomérica) y **SNARE** ayudan a dirigir las vesículas de transporte a sus membranas diana



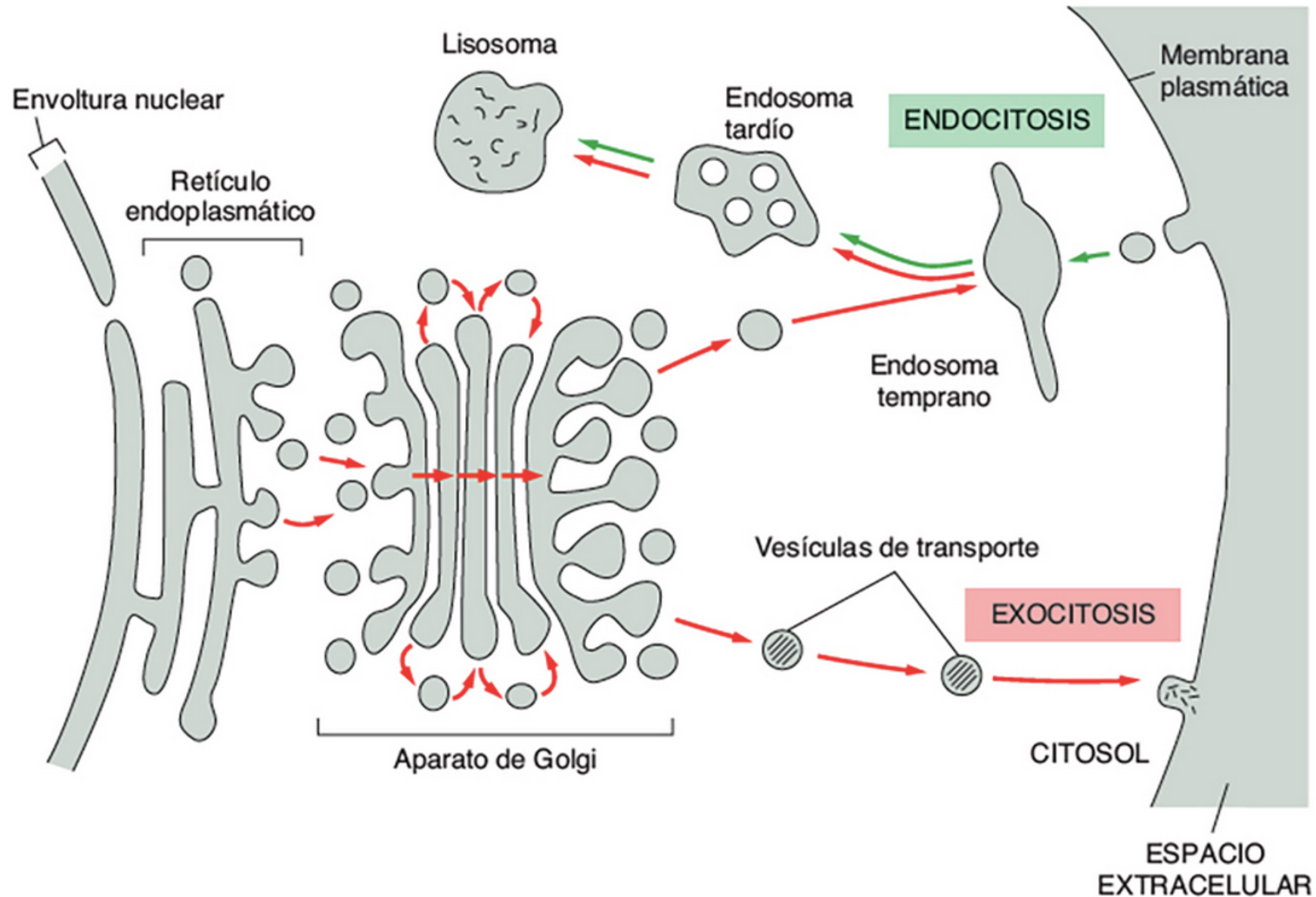
Fusión de las vesículas con su membrana de destino

Las proteínas **Rab** (GTPasa monomérica) y **SNARE** ayudan a dirigir las vesículas de transporte a sus membranas diana

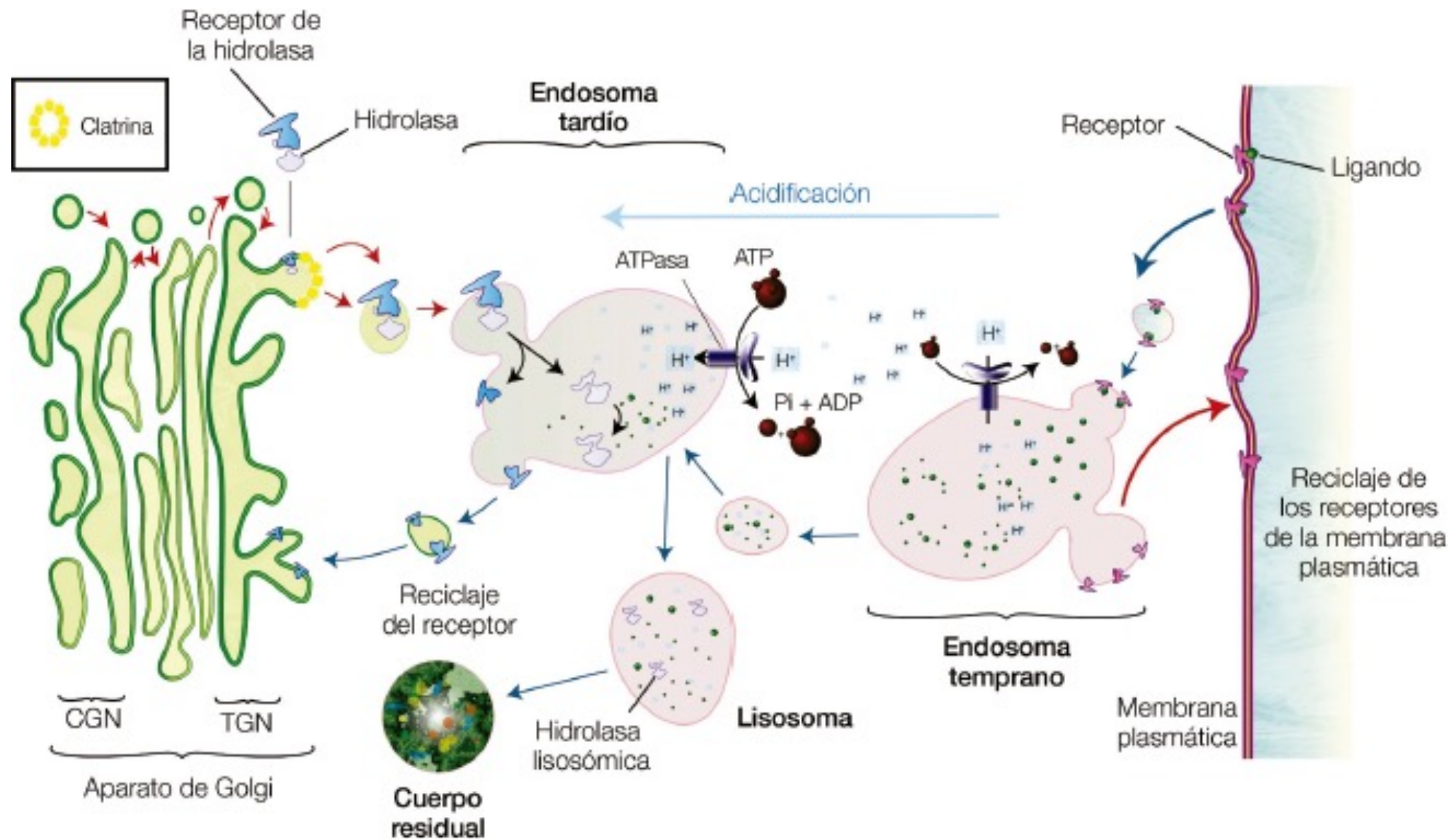


Los lípidos fluyen juntos para formar una bicapa continua

Comunicación sistema de endomembranas y membrana plasmática



Las moléculas endocitadas son clasificadas para su distribución en los endosomas

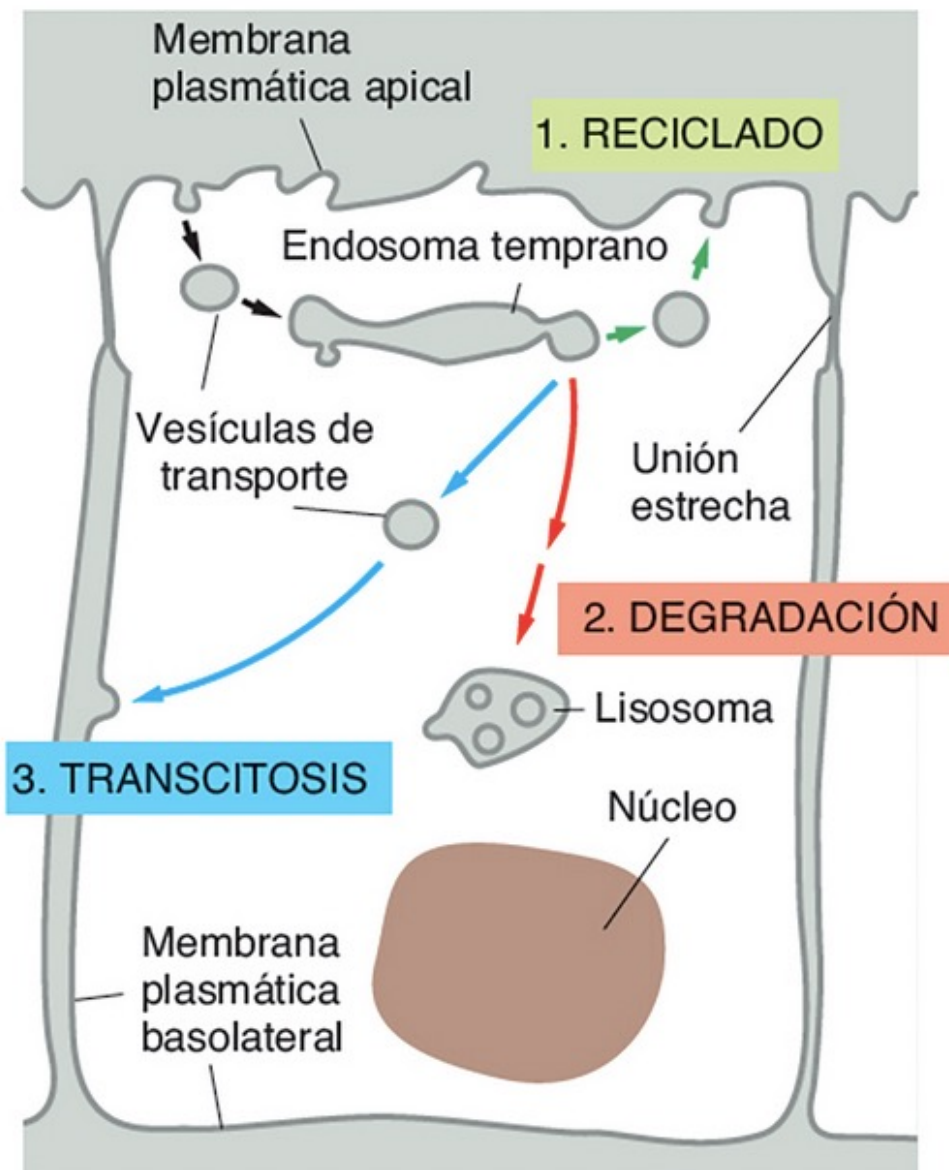
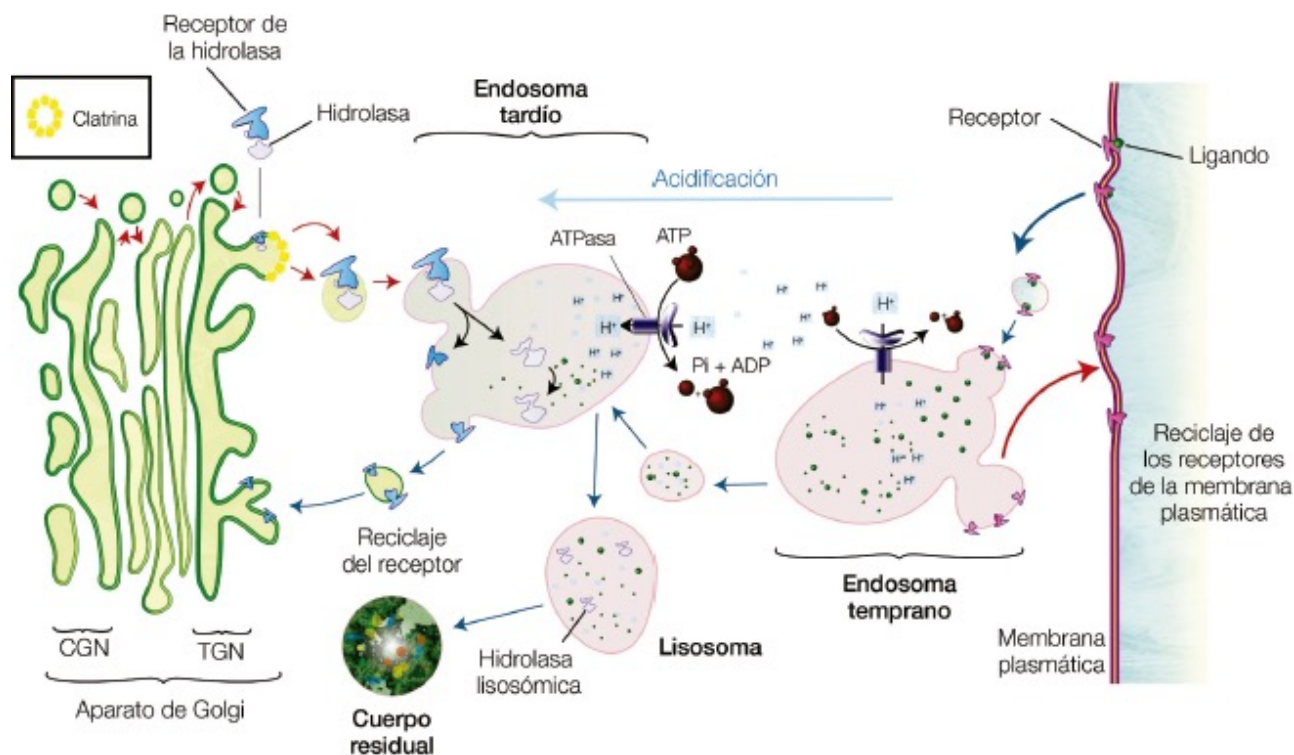


De endosomas tempranos a tardios

En la **periferia** de la célula

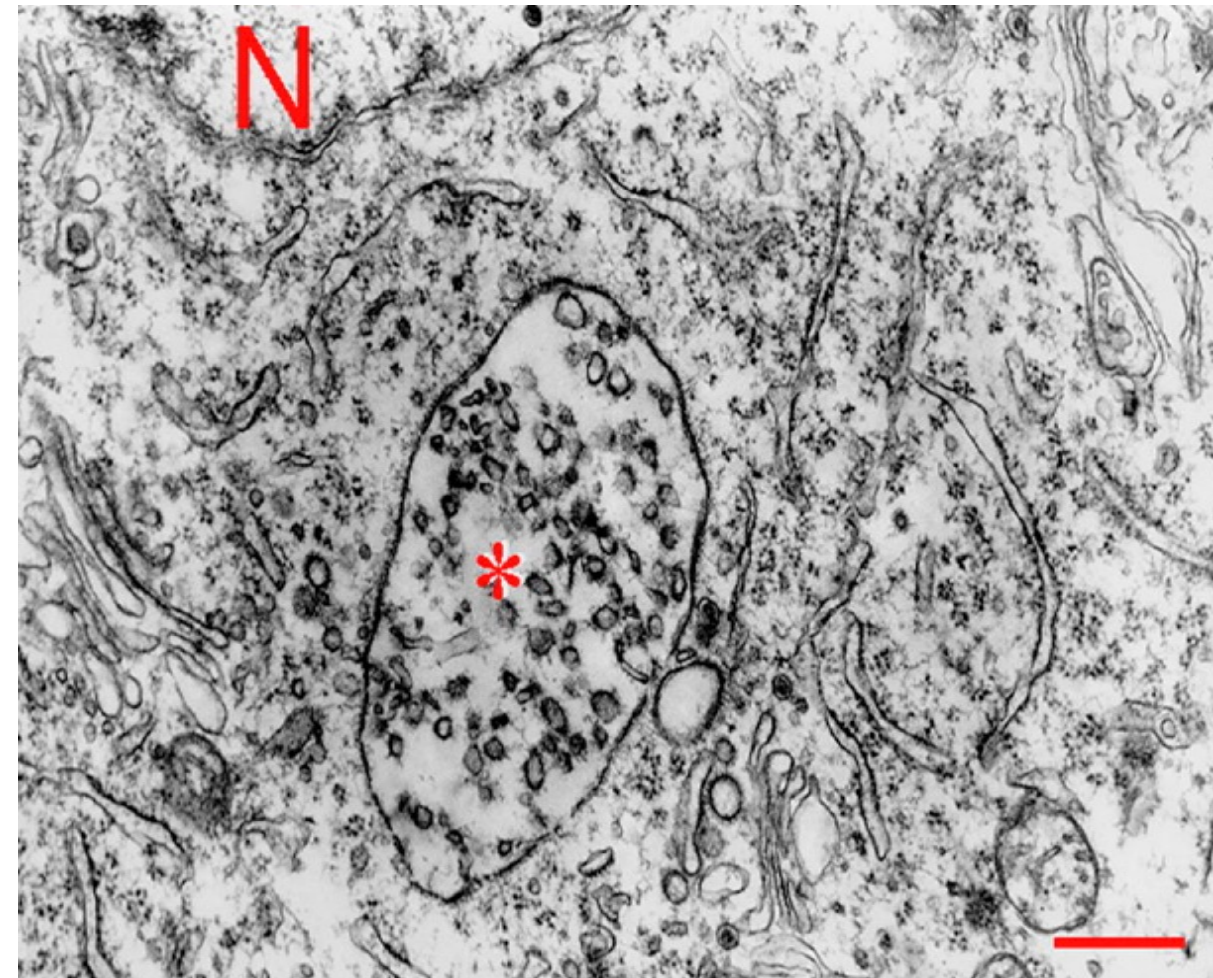
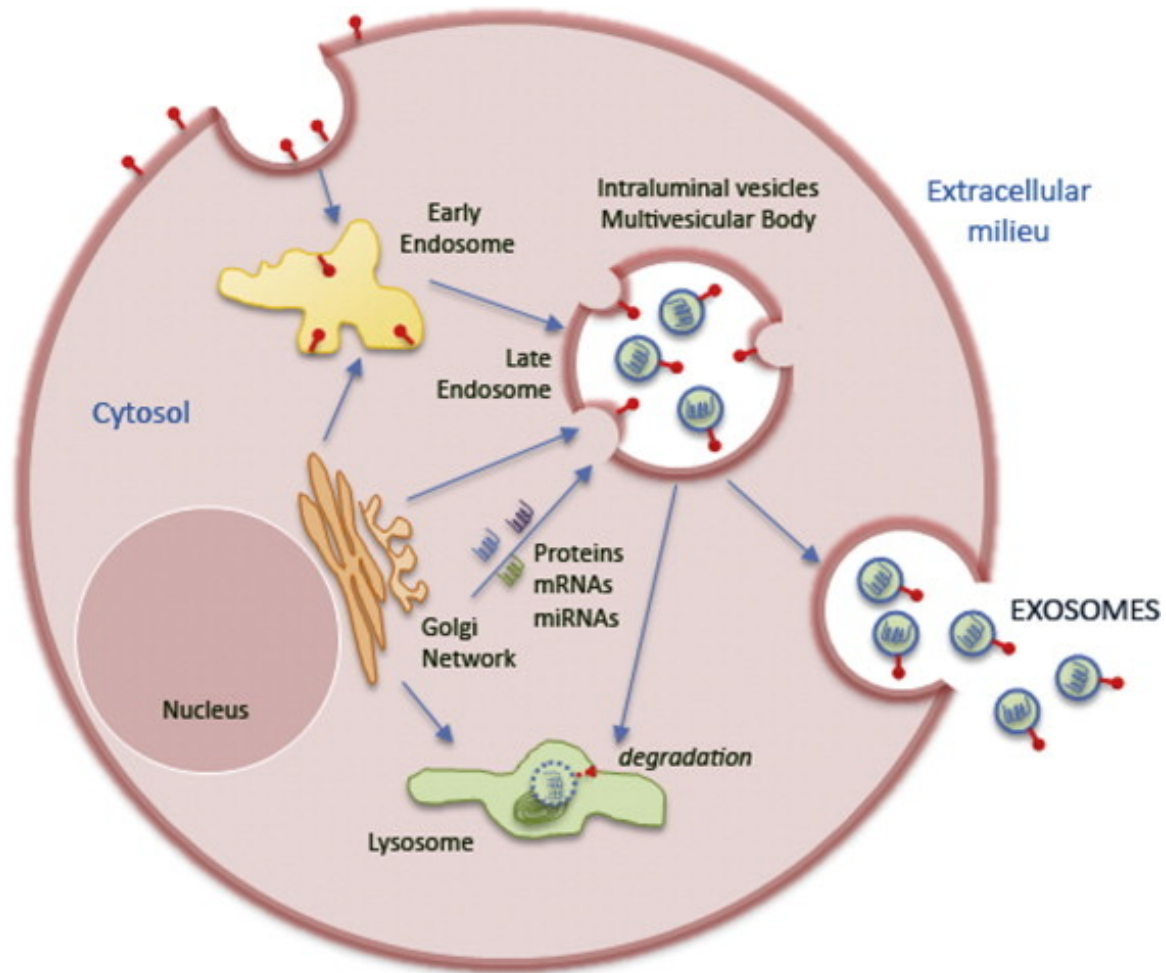
Algunas moléculas endocitadas son recicladas y devueltas a MP

El **pH interno ácido 6-6,5** (bomba de protones) permite que se pierda afinidad RECEPTOR-CARGA



Cuerpos multivesiculares: separación de componentes

- Invaginaciones de la membrana que originan micro-vesículas (30-150 nm) en su interior
- pH=5, más ácido



Cuerpos multivesiculares: separación de componentes

Exosomes

- Mediate intercellular communication
- Transport various molecules, including nucleic acids, lipids, and proteins, between cells
- Exhibit low or limited immunogenicity
- Cross barriers (e.g., blood-brain)

Cell of Origin

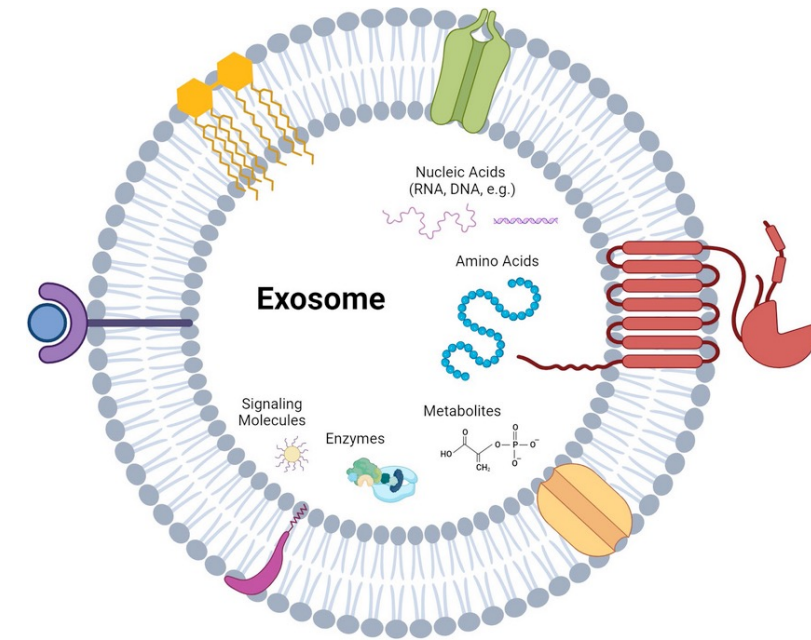
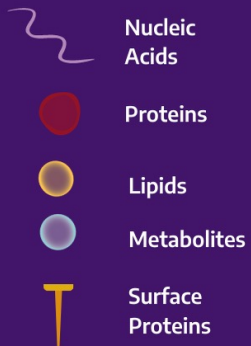
Nucleus

Recipient Cell

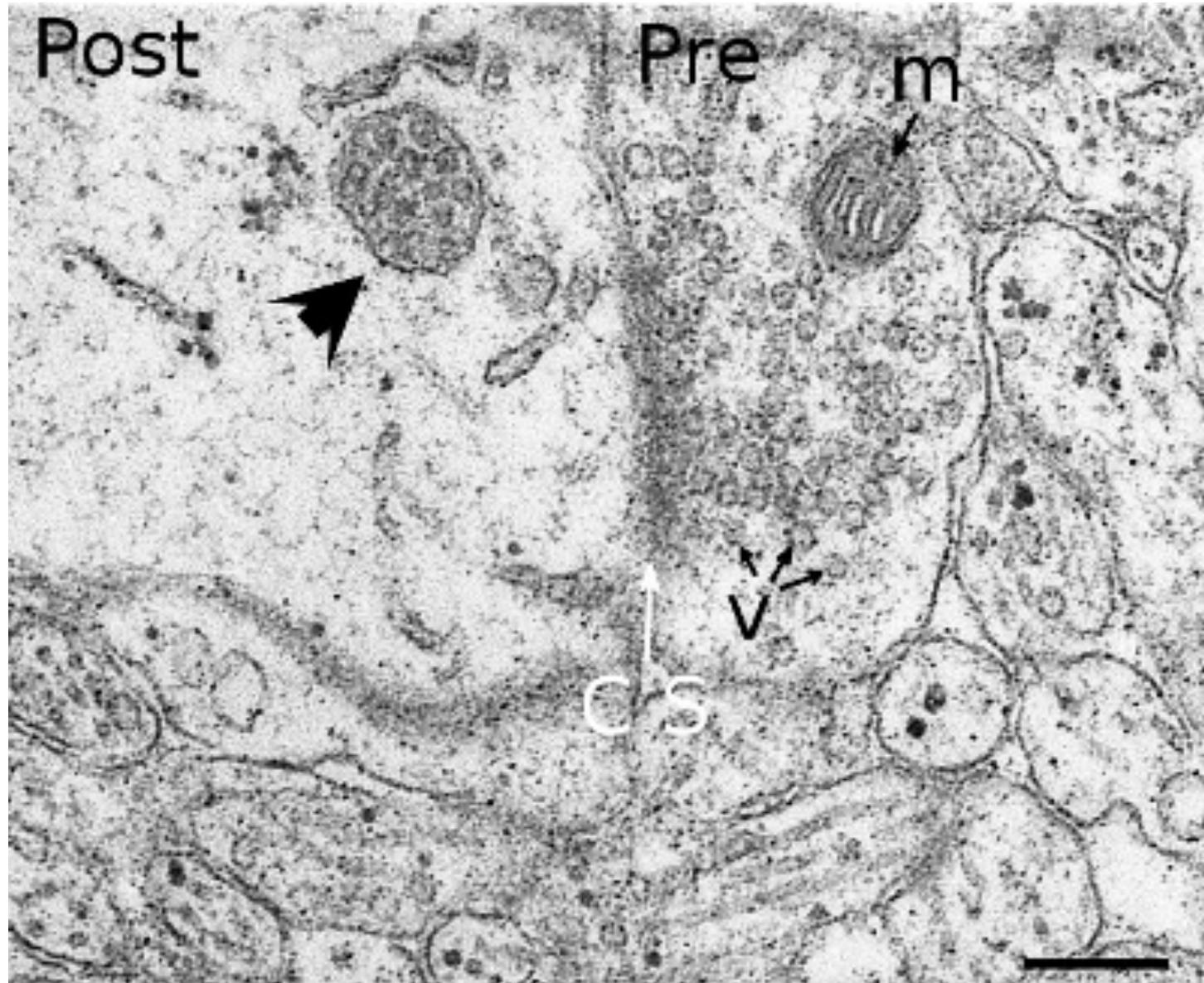
Nucleus

Exosomes

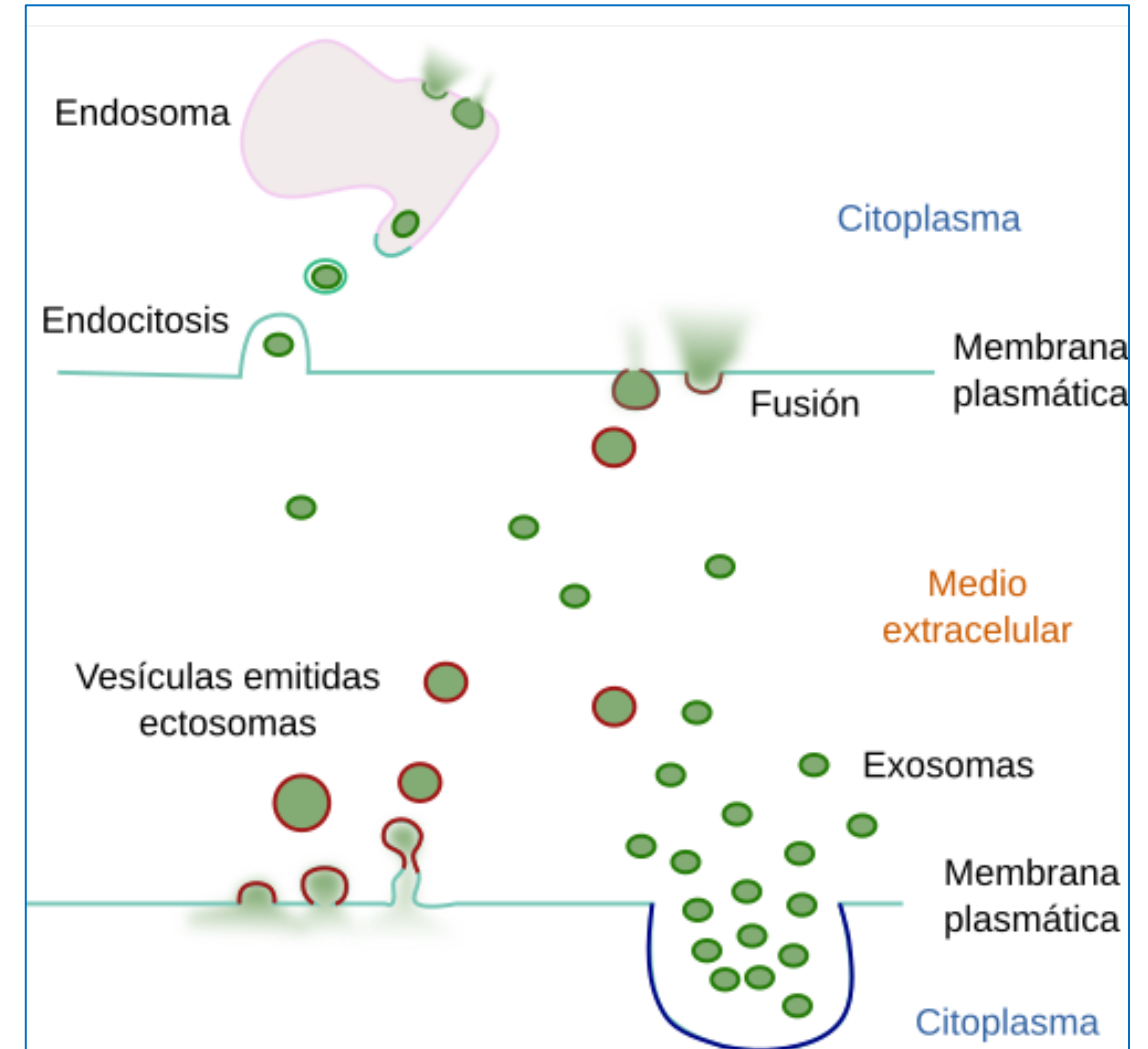
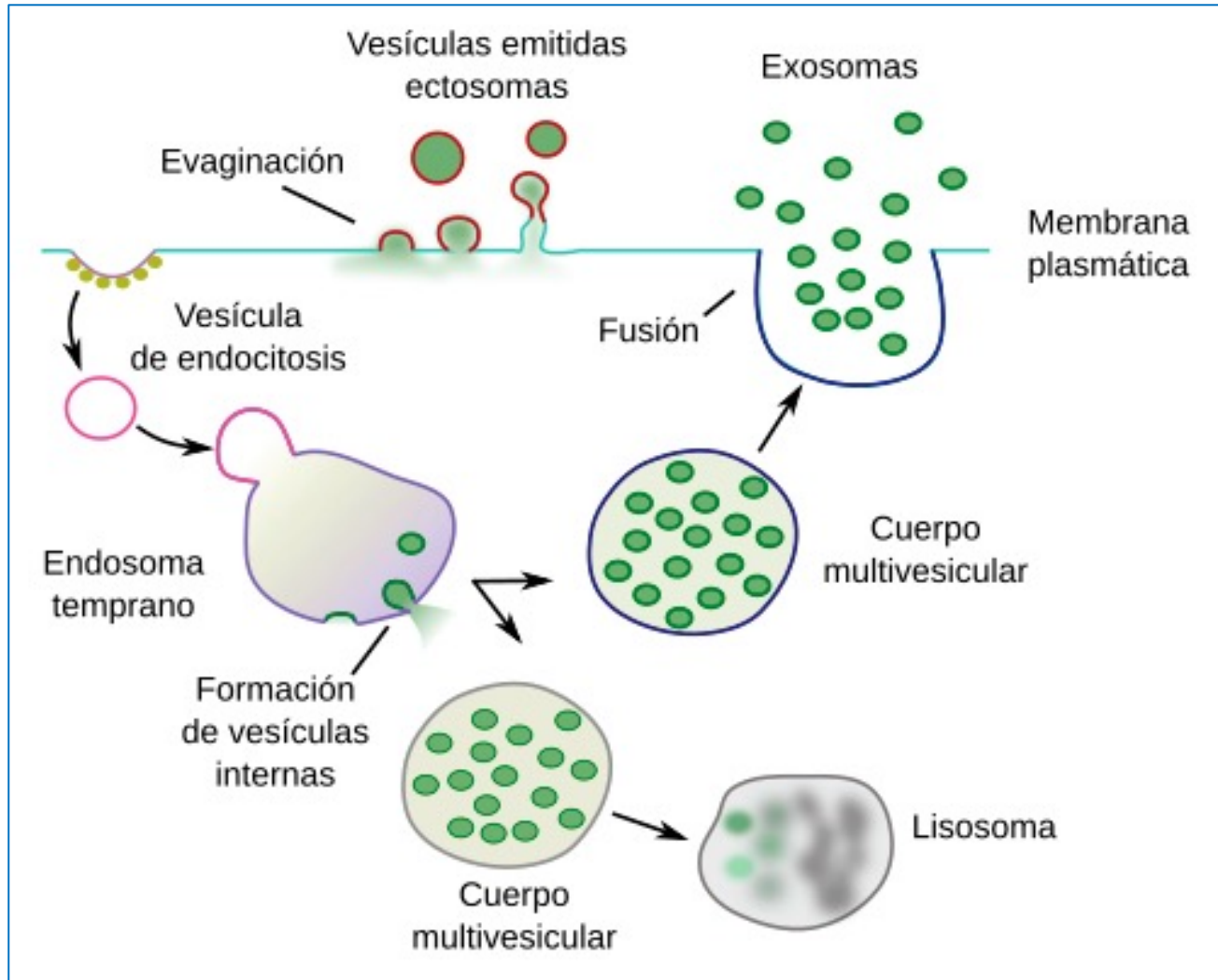
40-160 nm



Cuerpos multivesiculares: separación de componentes



Los ectosomas se forman directamente en la membrana plasmática





Universidad de Valladolid

Sistema de endomembranas. Transporte vesicular. Endosomas

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

Retículo endoplasmático

Prof. Ricardo Usategui Martín

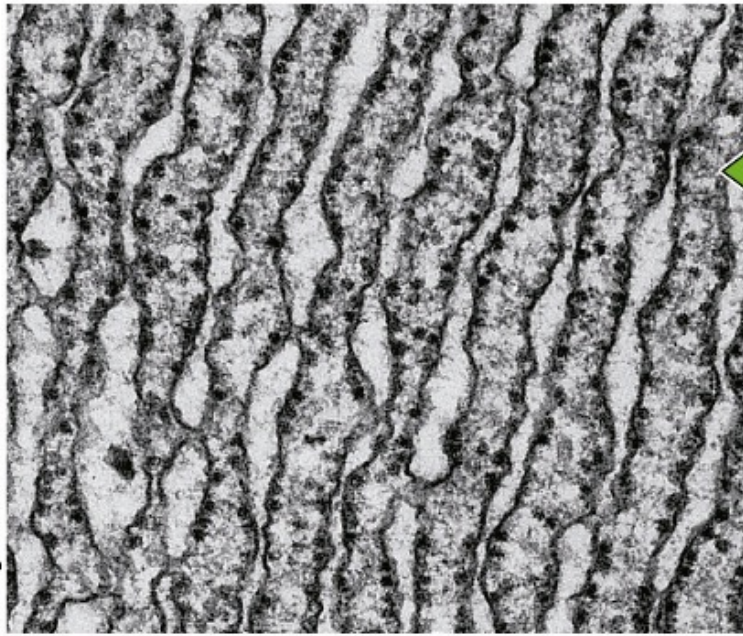
Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es

Retículo endoplasmático

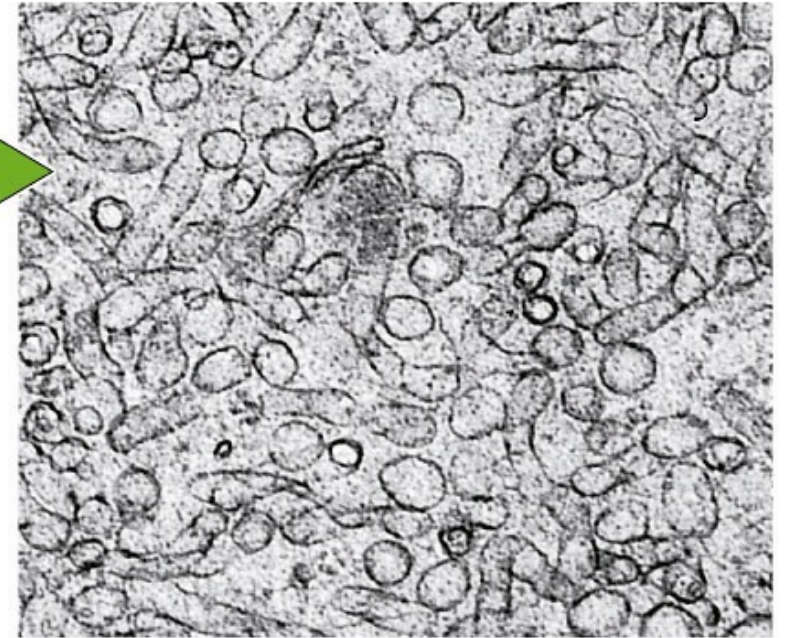
Red de túbulos y sacos aplanados (cisternas) limitados por membrana e interconectados entre sí que limitan un espacio interno (luz o lumen).

(A) Rough endoplasmic reticulum

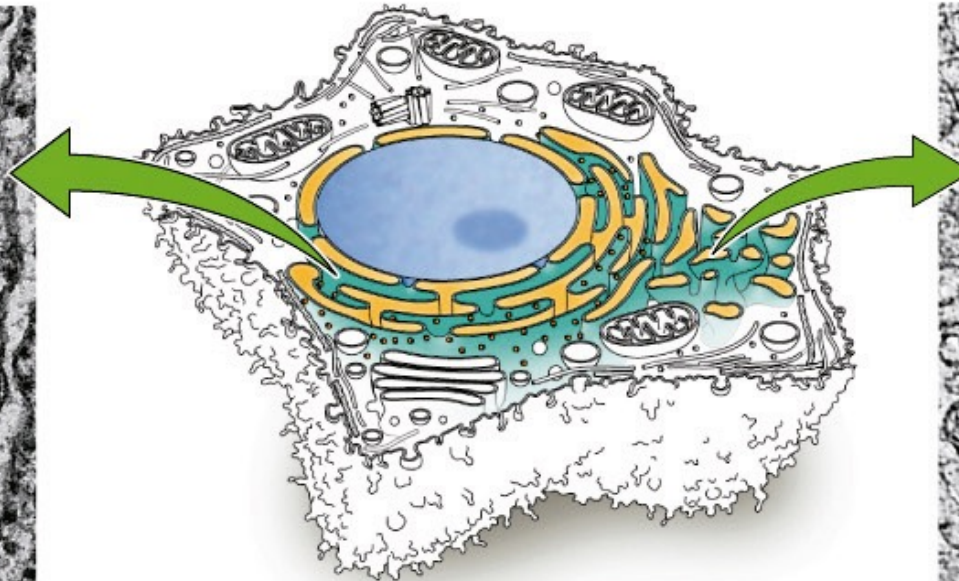


Red de sacos aplanados-cisternas

(B) Smooth endoplasmic reticulum

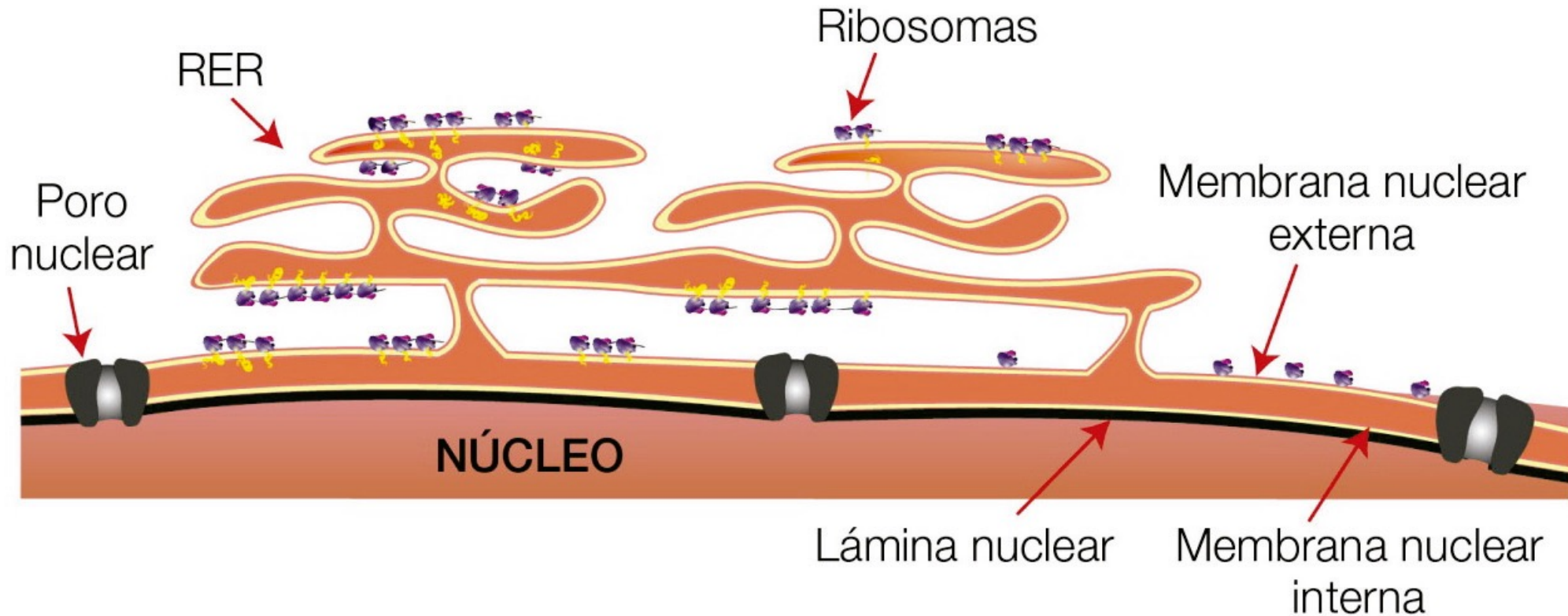


Red de túbulos



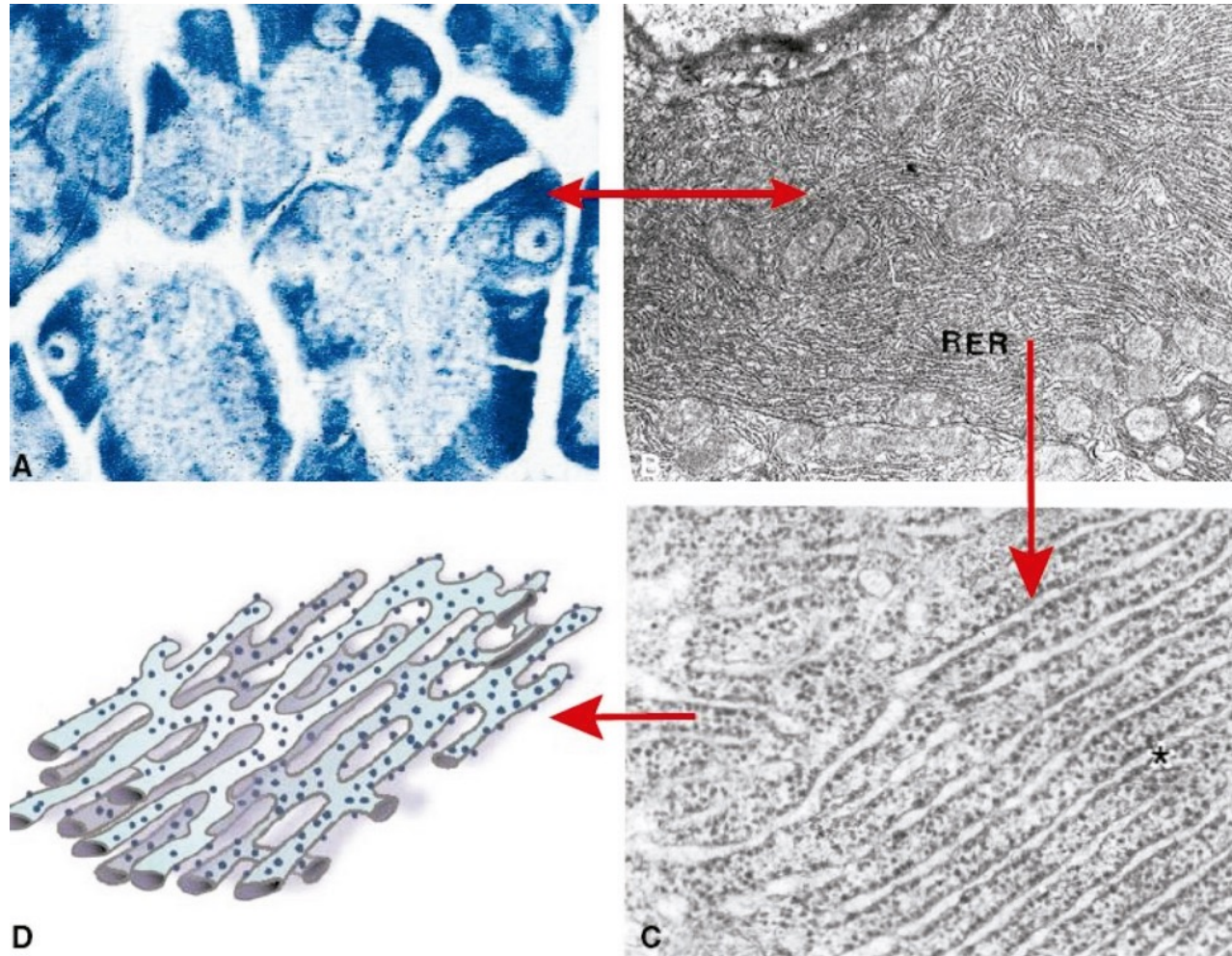
Retículo endoplasmático rugoso

- Red interconectada de **sáculos aplanados**
- Ribosomas en membrana citosólica
- Continuación de membrana externa de la envoltura nuclear y con el REL

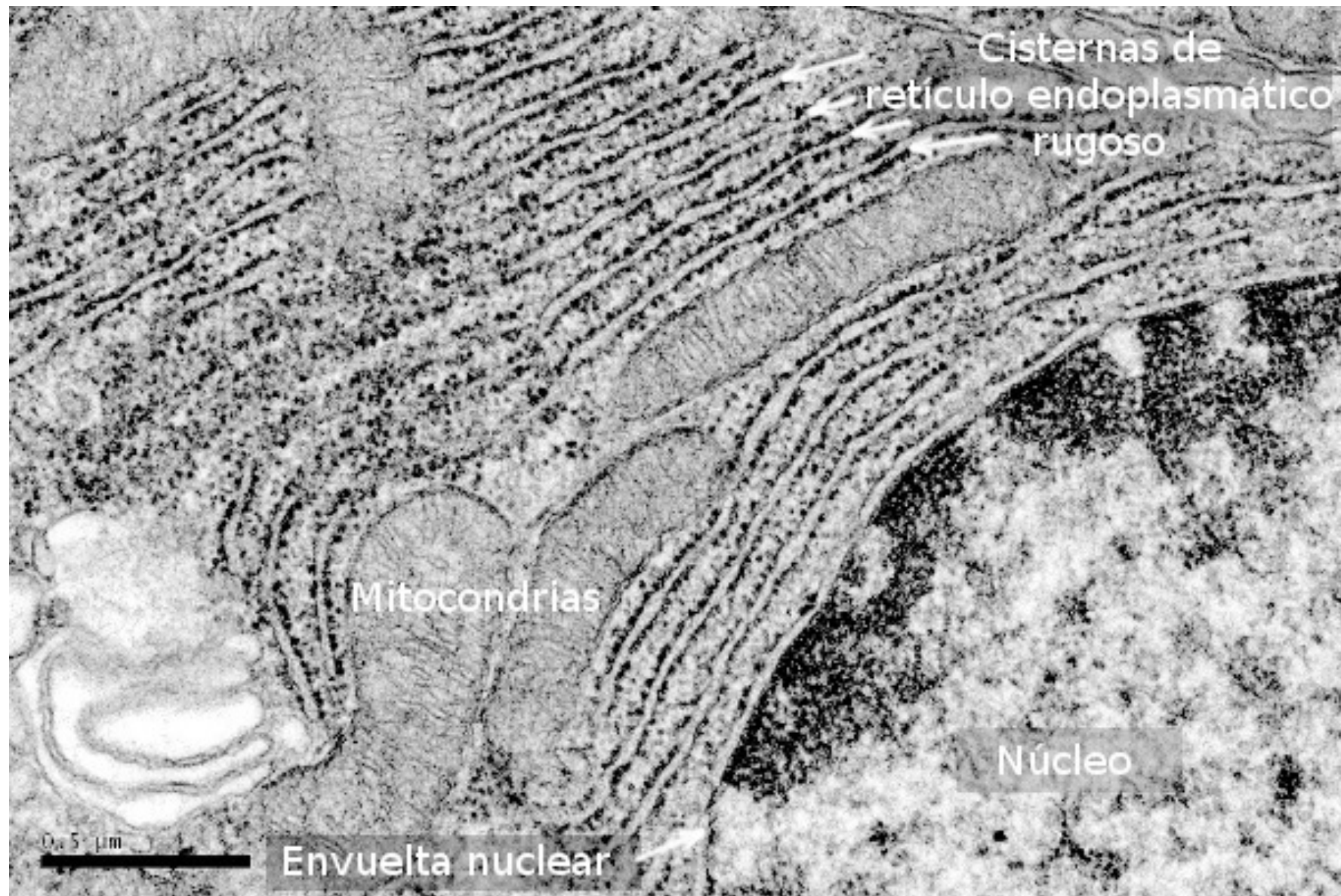


Retículo endoplasmático rugoso

Al microscopio óptico tiene aspecto basófilo, en el microscopio electrónico se ve como un conjunto de cisternas interconectadas con ribosomas



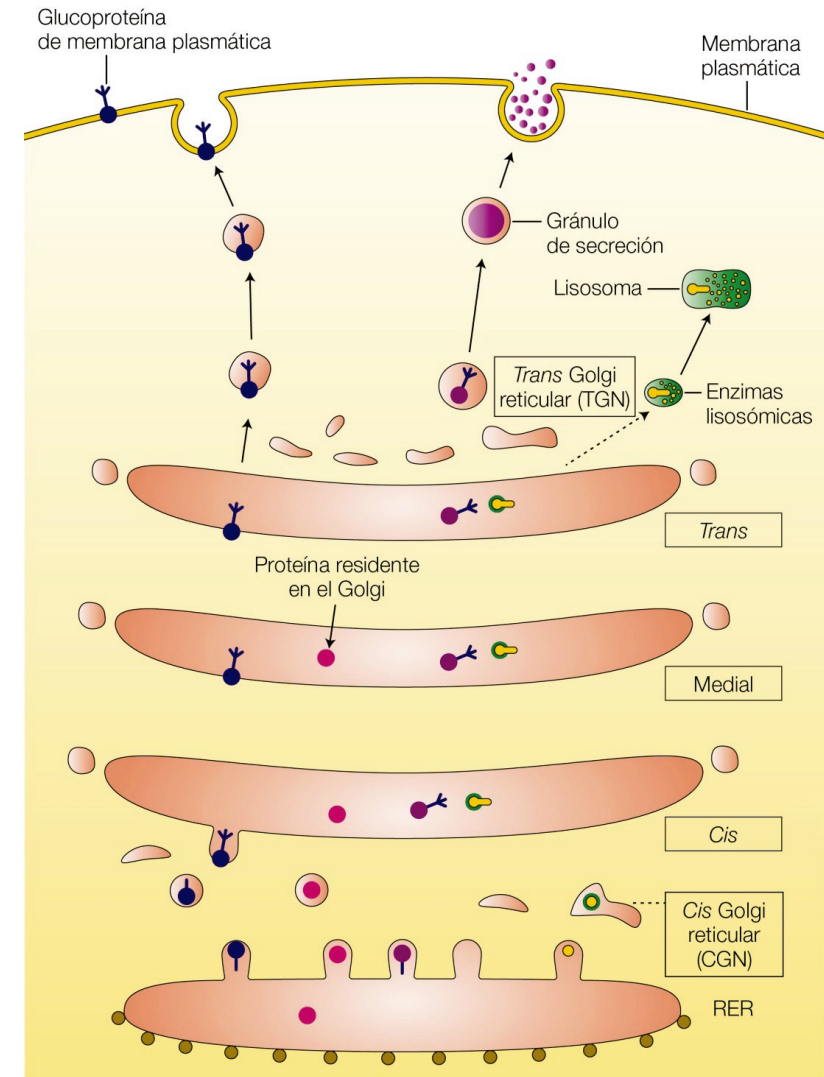
Retículo endoplasmático rugoso



Retículo endoplasmático rugoso

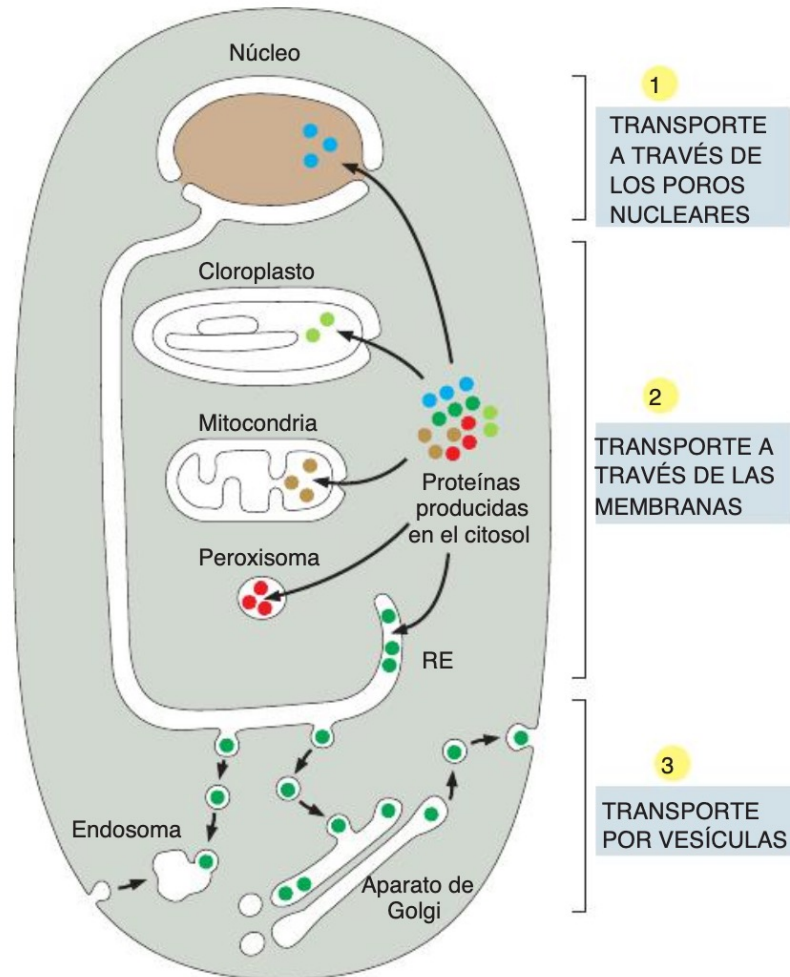
Síntesis y almacenamiento de proteínas para glucosilación

1. Membranas celulares
2. Hidrolasas del lisosoma
3. Secreción celular
4. Residentes en el RER



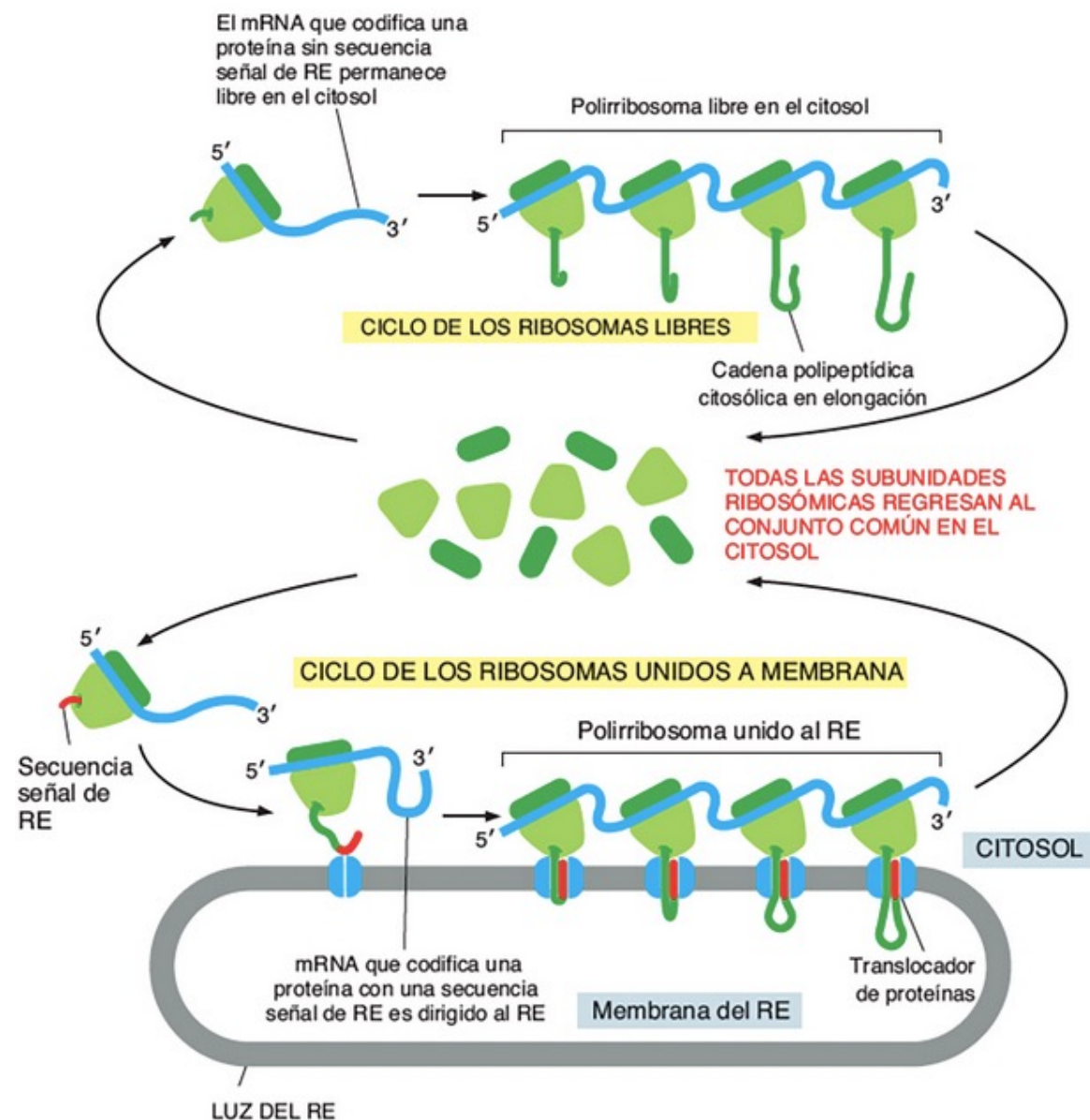
La síntesis de proteínas puede ocurrir en los ribosomas libres o en el RER

El RE sirve como punto de entrada para proteínas destinadas a otros orgánulos: **transportadas mediante vesículas**



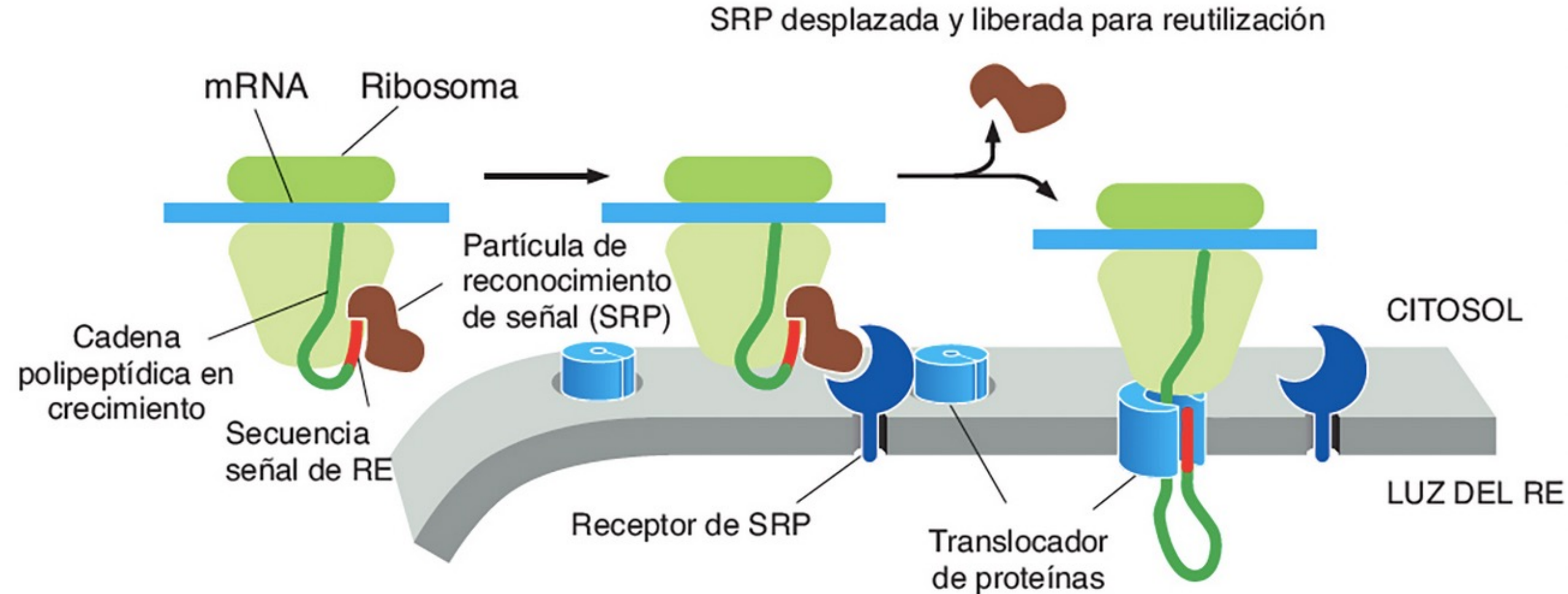
1. Proteínas hidrosolubles
2. Futuras proteínas transmembrana

La síntesis de proteínas puede ocurrir en los ribosomas libres o en el RER



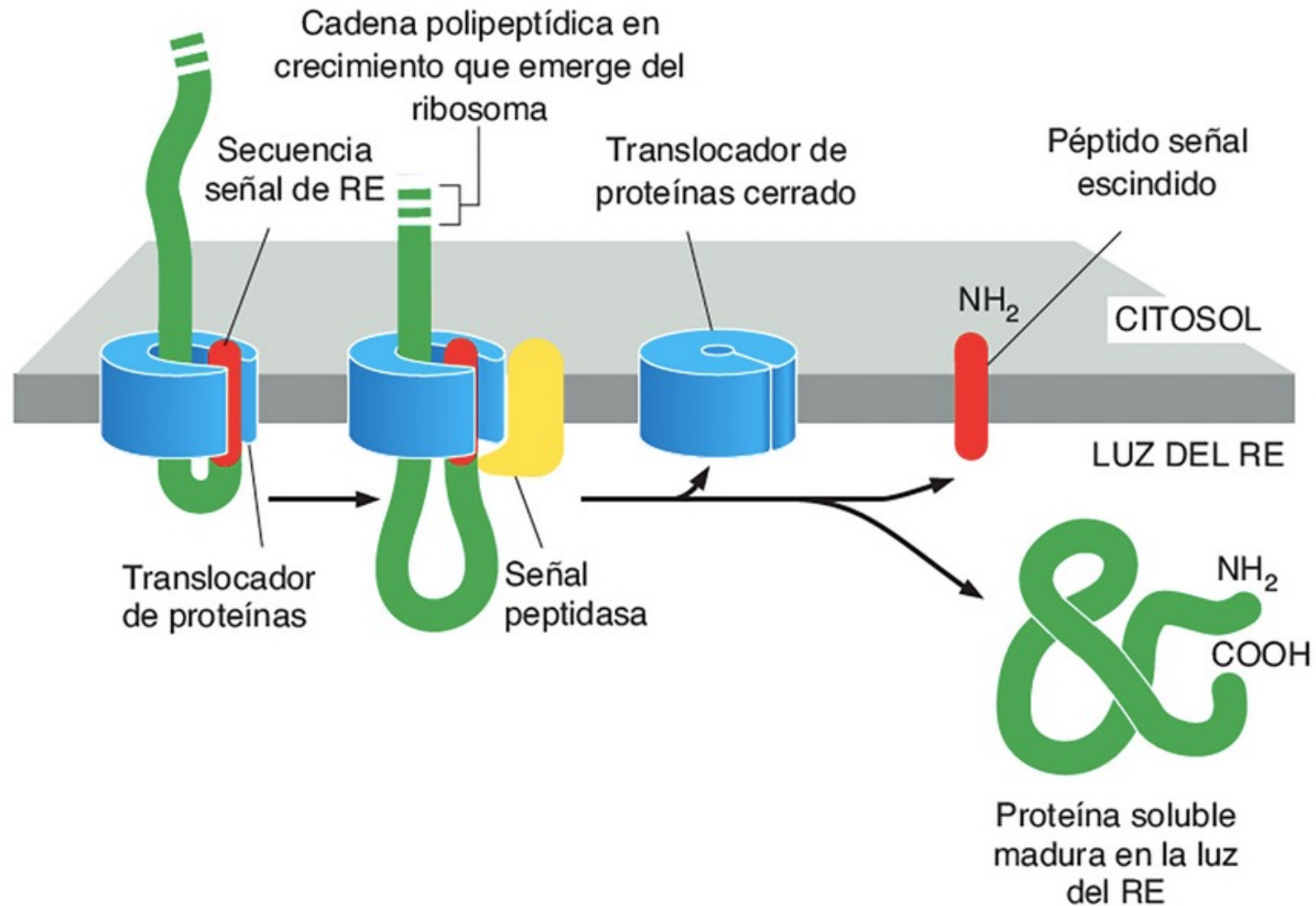
Las proteínas entran en el RER mientras son sintetizadas

Una secuencia señal de RE y una SRP dirigen a un ribosoma a la membrana del RE



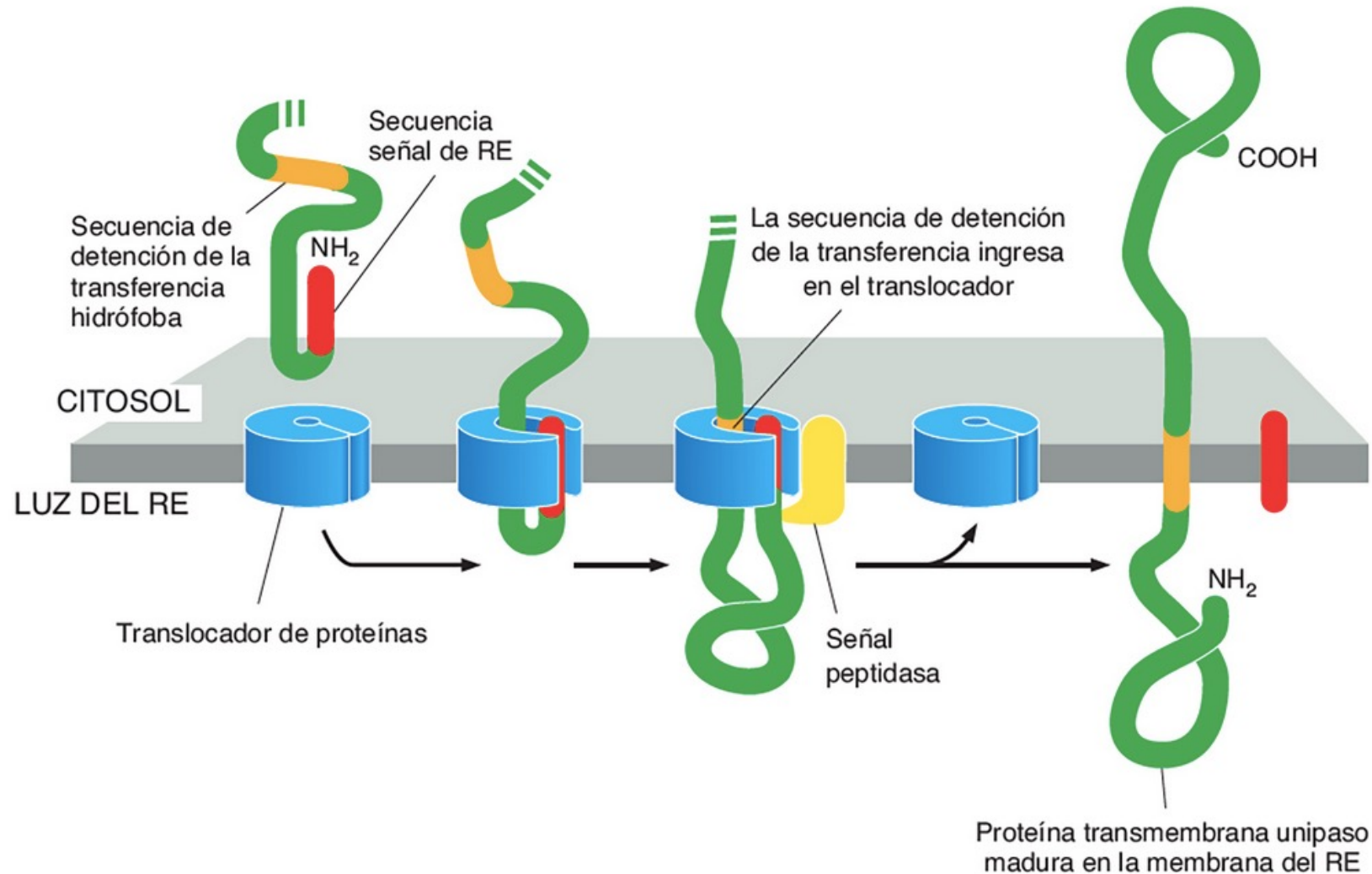
Las proteínas entran en el RER mientras son sintetizadas

Las proteínas solubles producidas en el RE son liberadas a su luz: PROTEÍNAS HIDROSOLUBLES



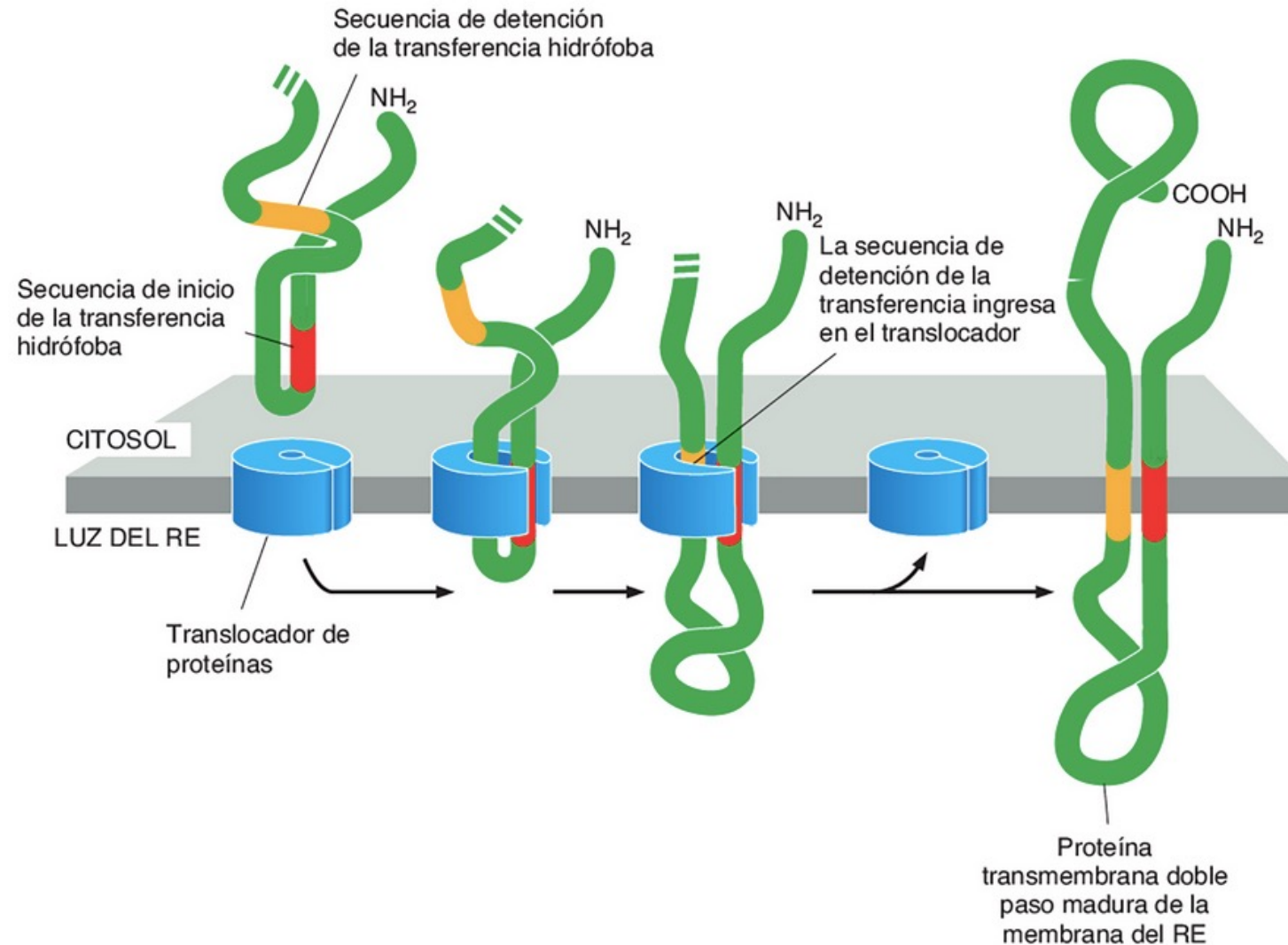
Las proteínas entran en el RER mientras son sintetizadas

Las señales de inicio y detención determinan la disposición de una PROTEÍNAS TRANSMEMBRANA en la bicapa lipídica



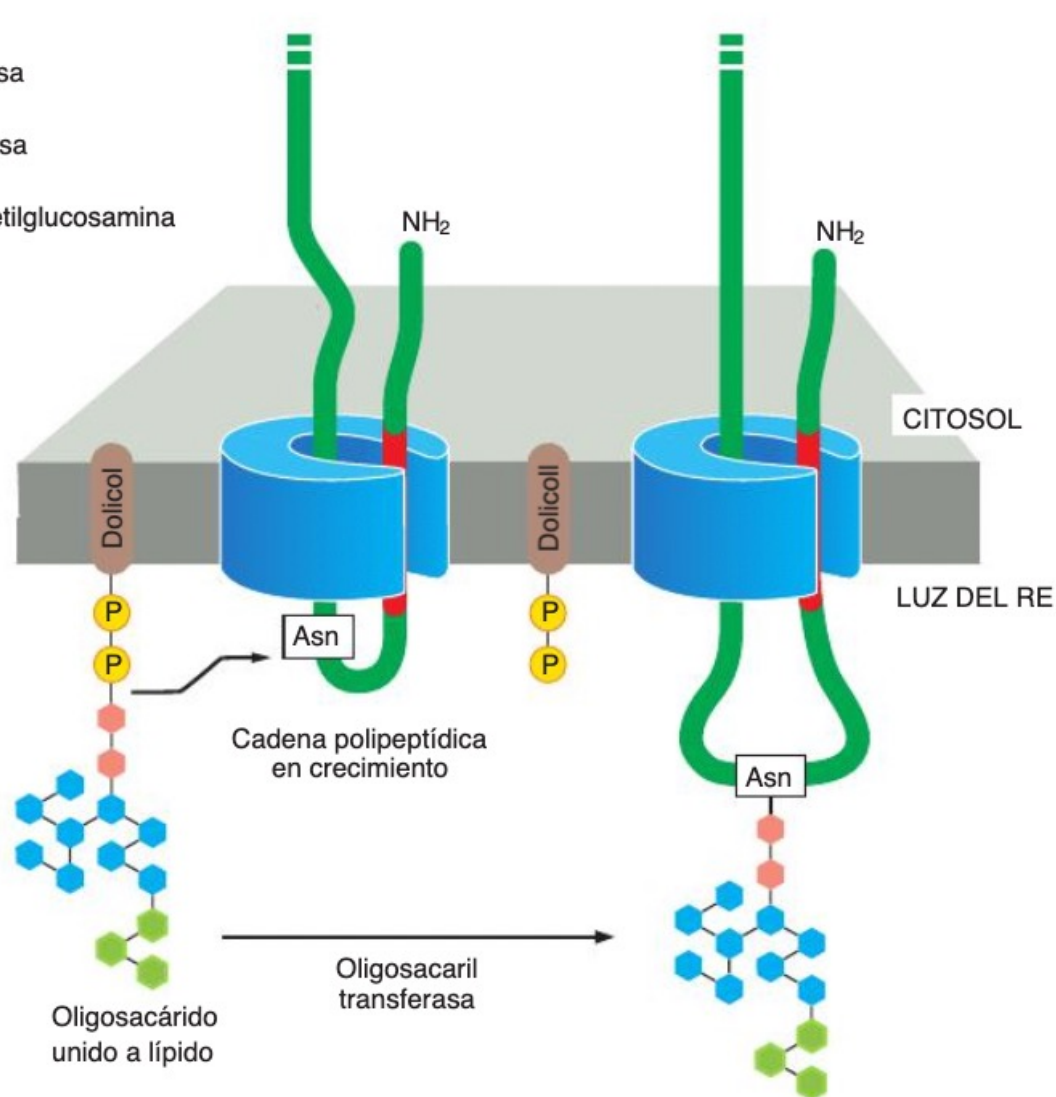
Las proteínas entran en el RER mientras son sintetizadas

Las señales de inicio y detención determinan la disposición de una PROTEÍNAS TRANSMEMBRANA en la bicapa lipídica



Muchas proteínas son sometidas a modificaciones covalentes en el RE

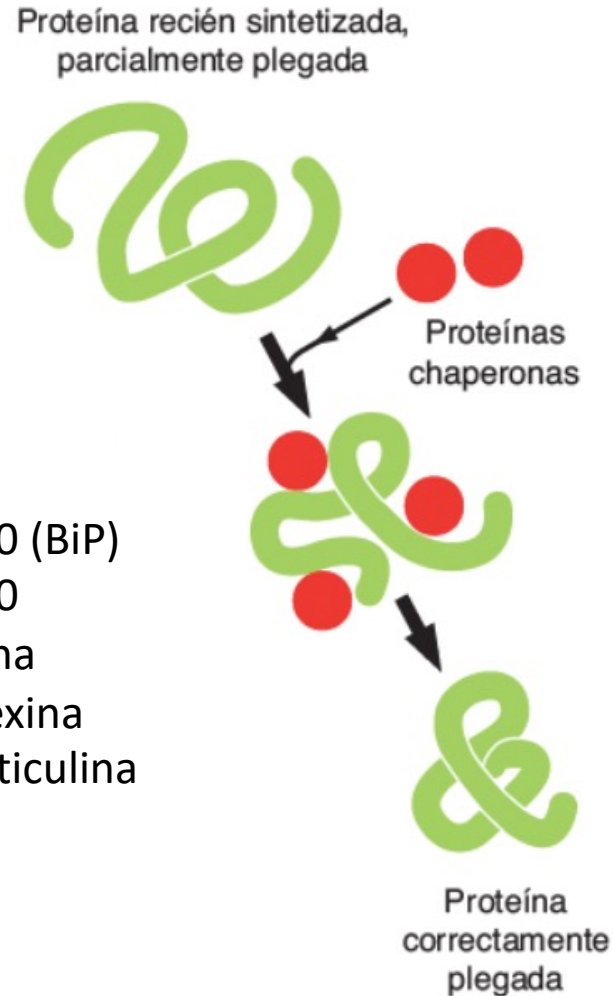
Muchas de las proteínas son convertidas en glucoproteínas



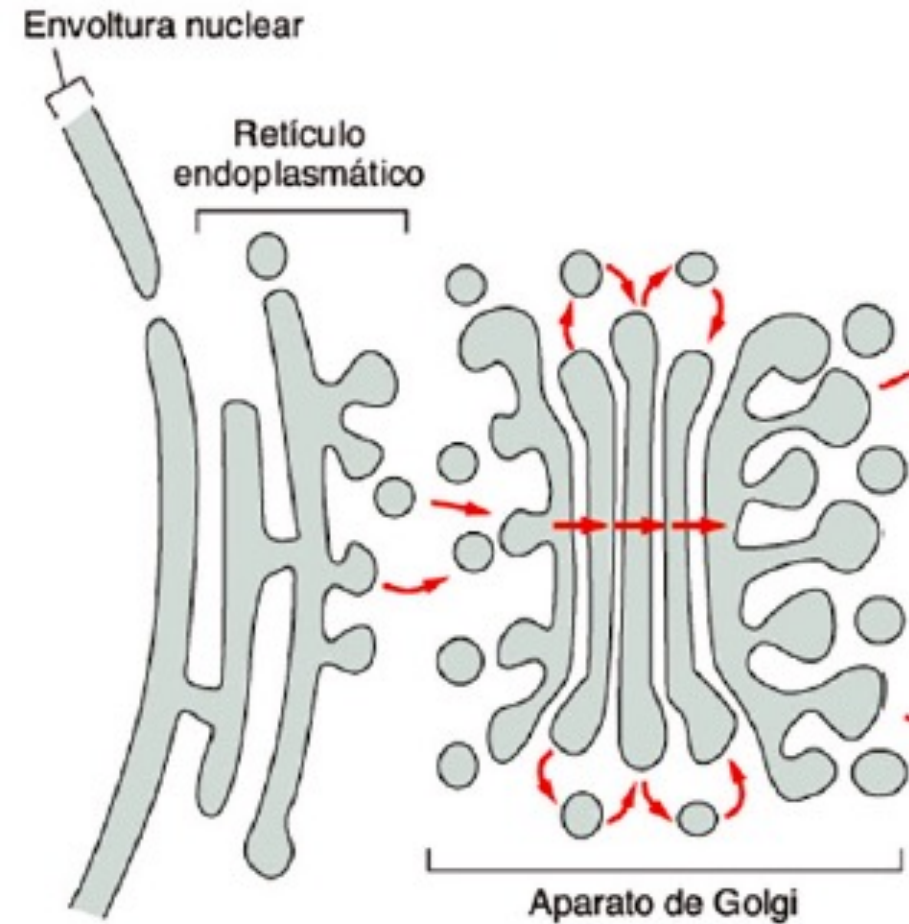
- Hidroxilación
- Puentes S-S
- Unión covalente de lípidos

La salida del RER es altamente selectiva

Las proteínas mal plegadas no salen del RER

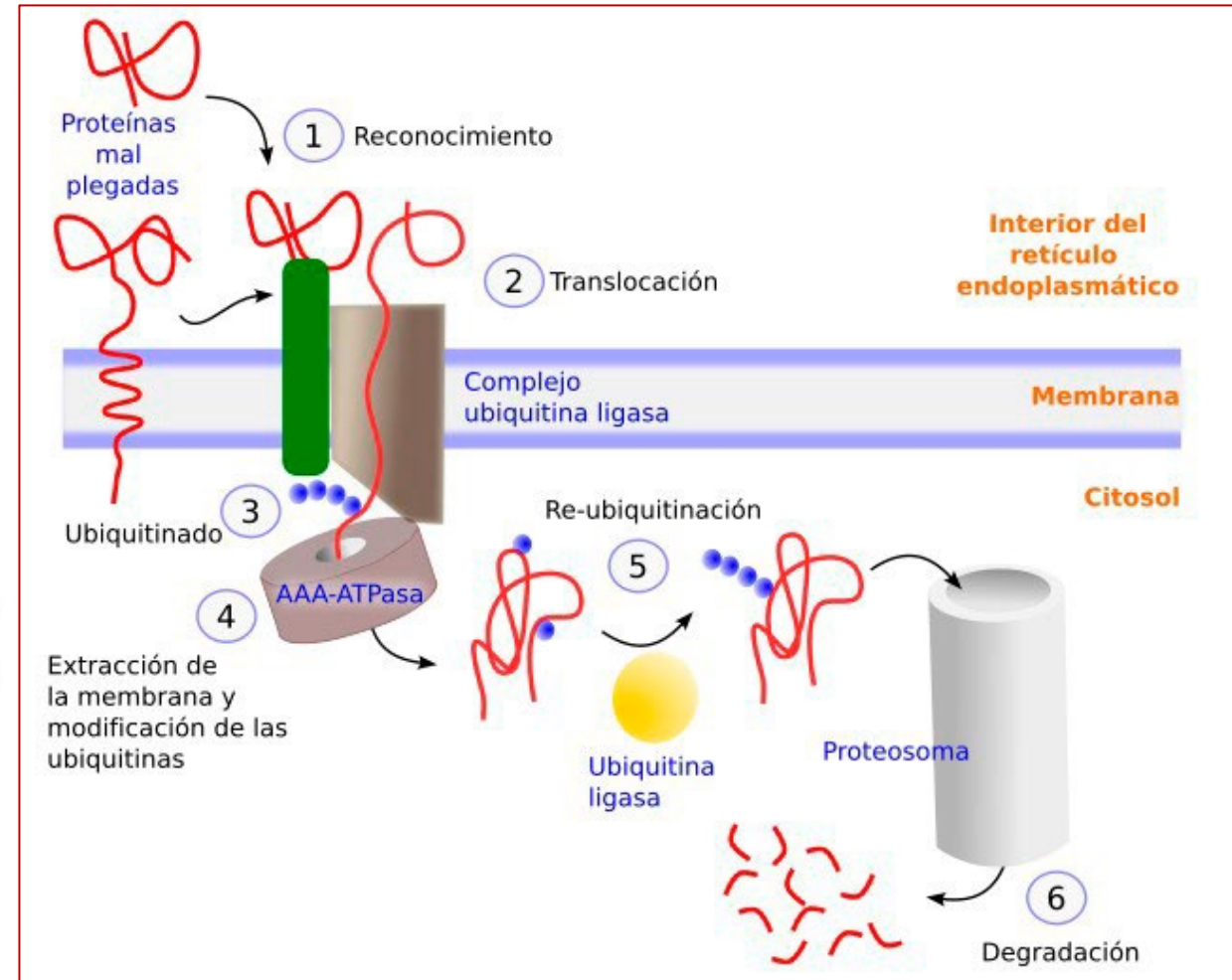
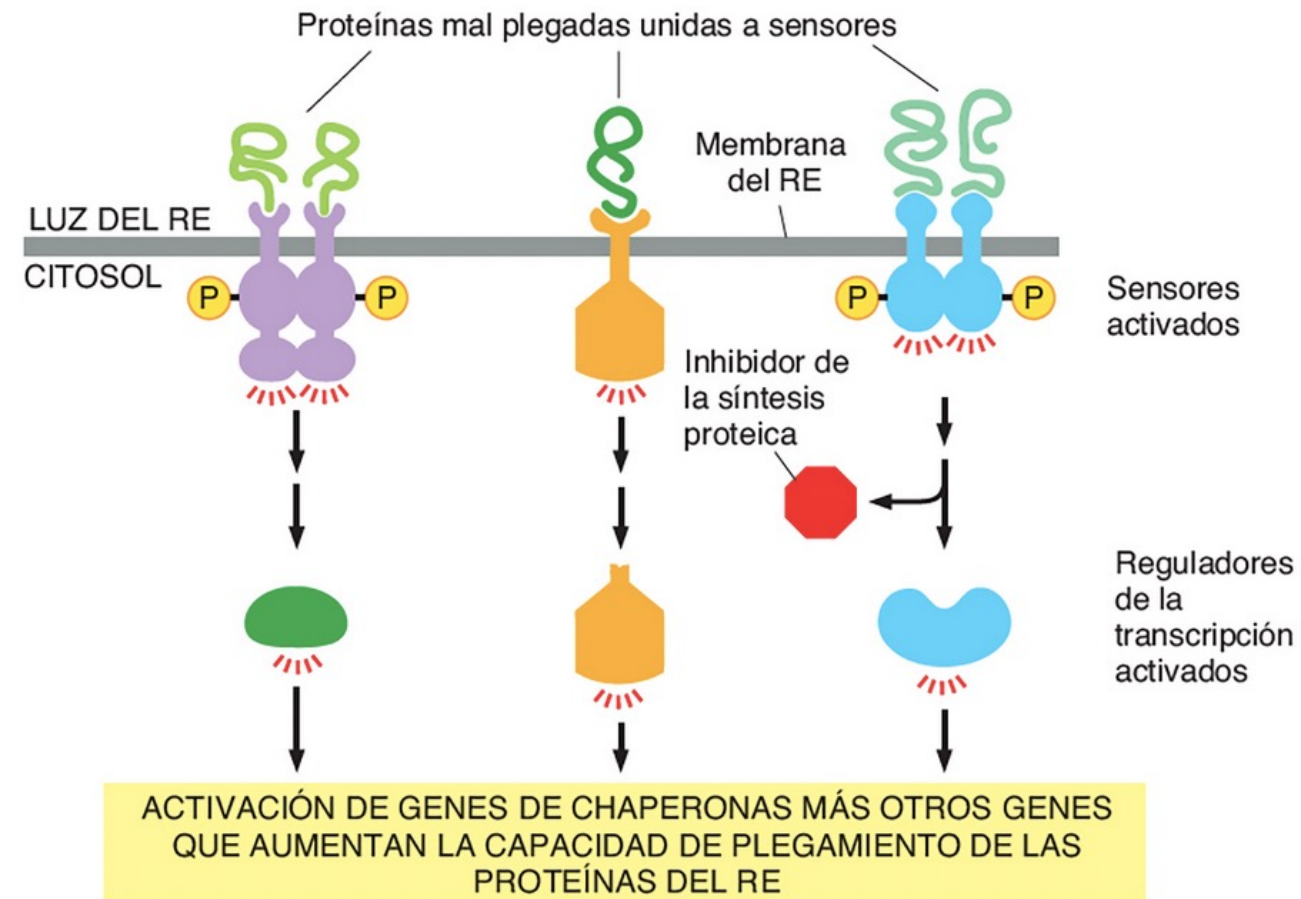


- Hsp70 (BiP)
- Hsp90
- Lectina
- Calnexina
- Calreticulina



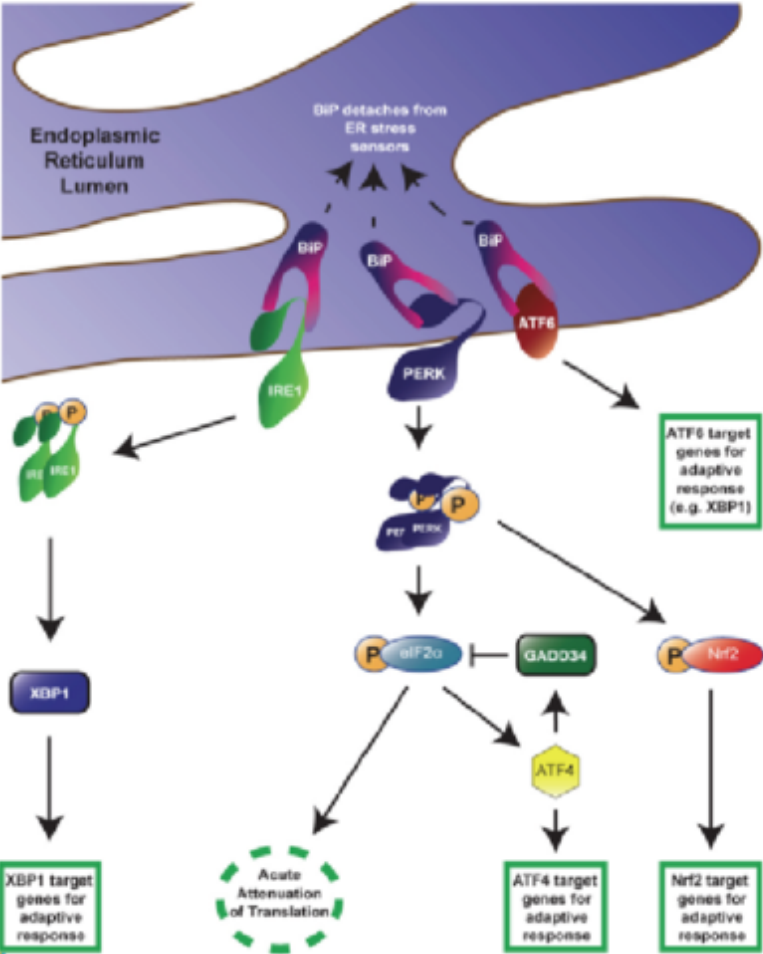
La salida del RER es altamente selectiva

La acumulación de proteínas mal plegadas en la luz del RE activa la **RESPUESTA A PROTEÍNAS NO PLEGADAS (UPR)**

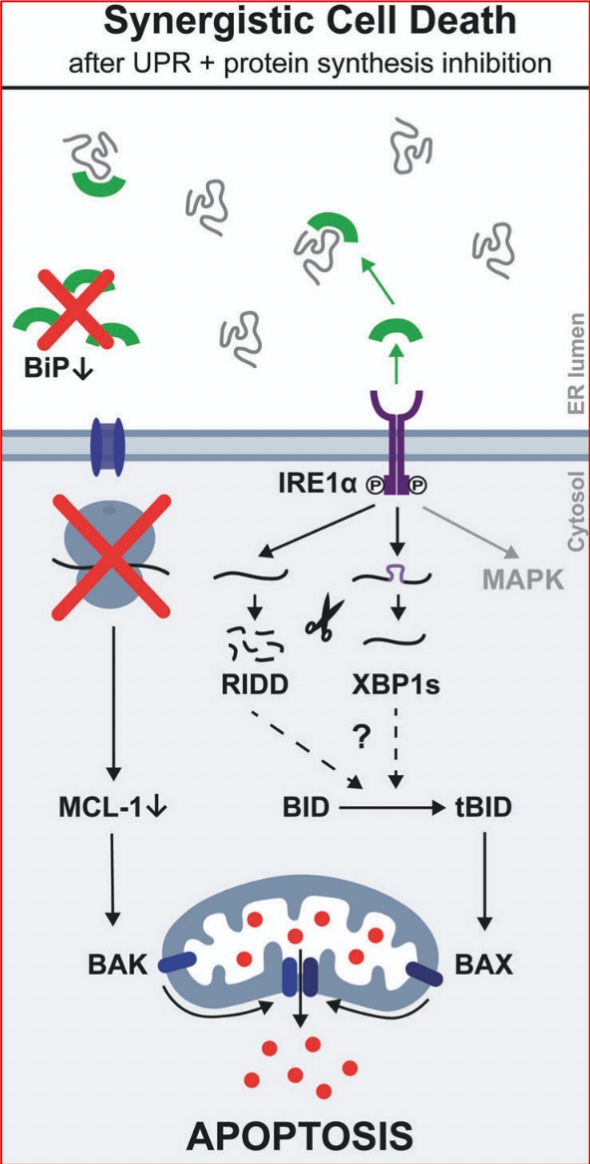
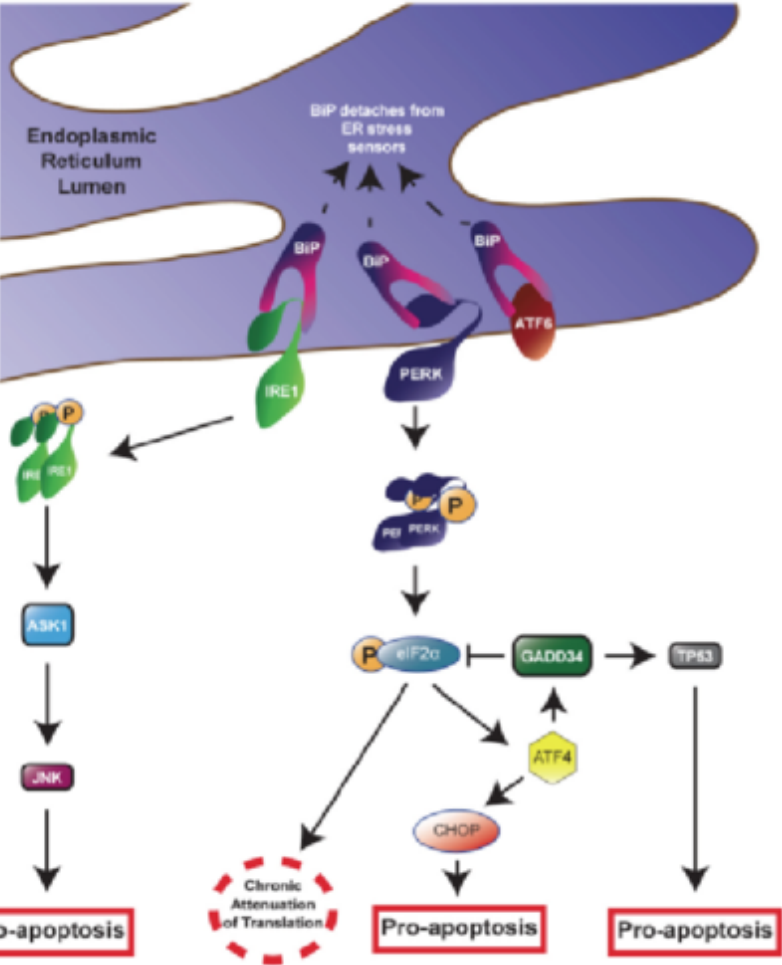


La salida del RER es altamente selectiva

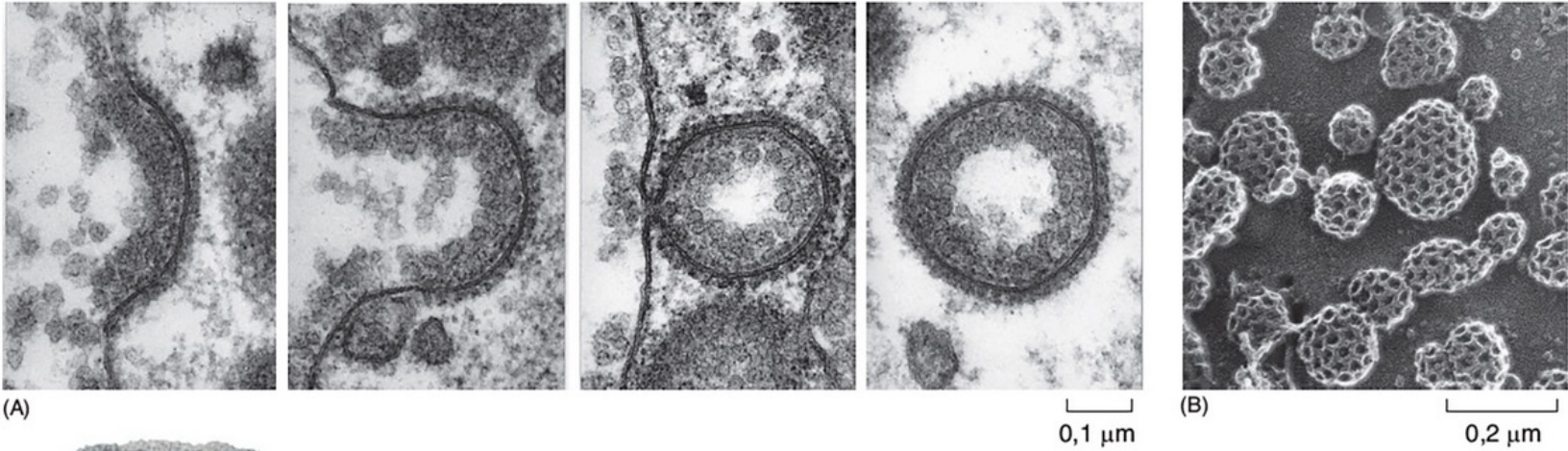
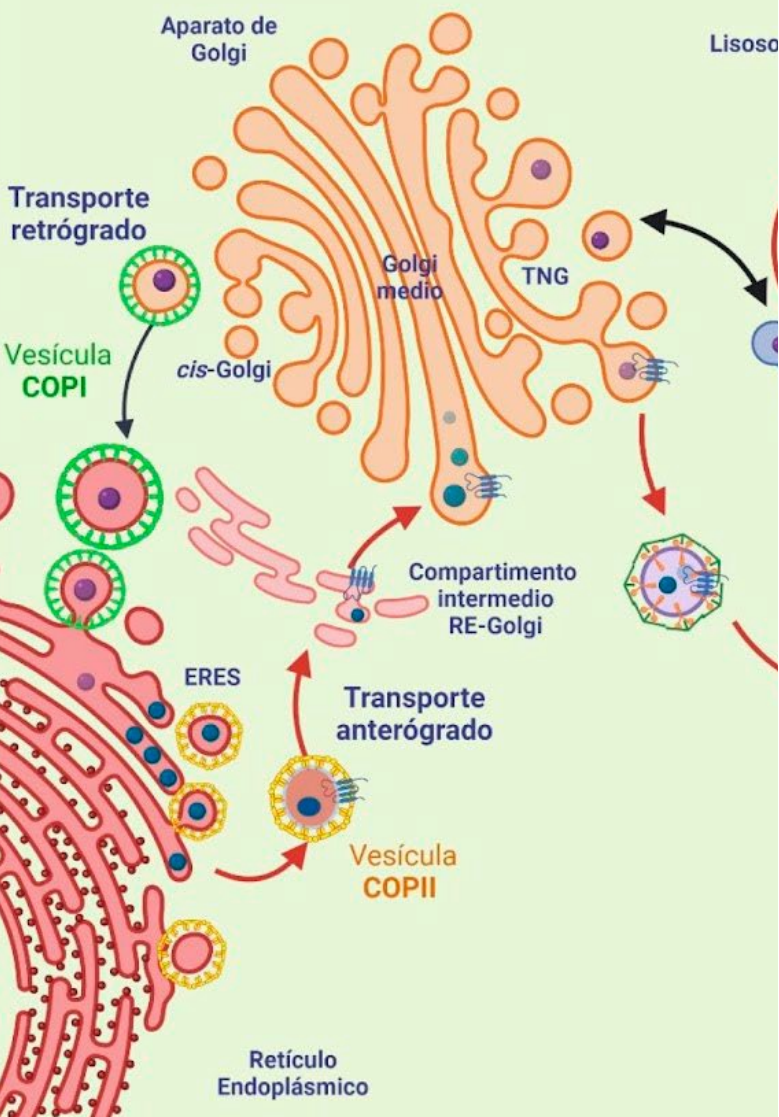
A. Adaptive Pathways of the UPR



B. Pro-apoptotic Pathways of the UPR

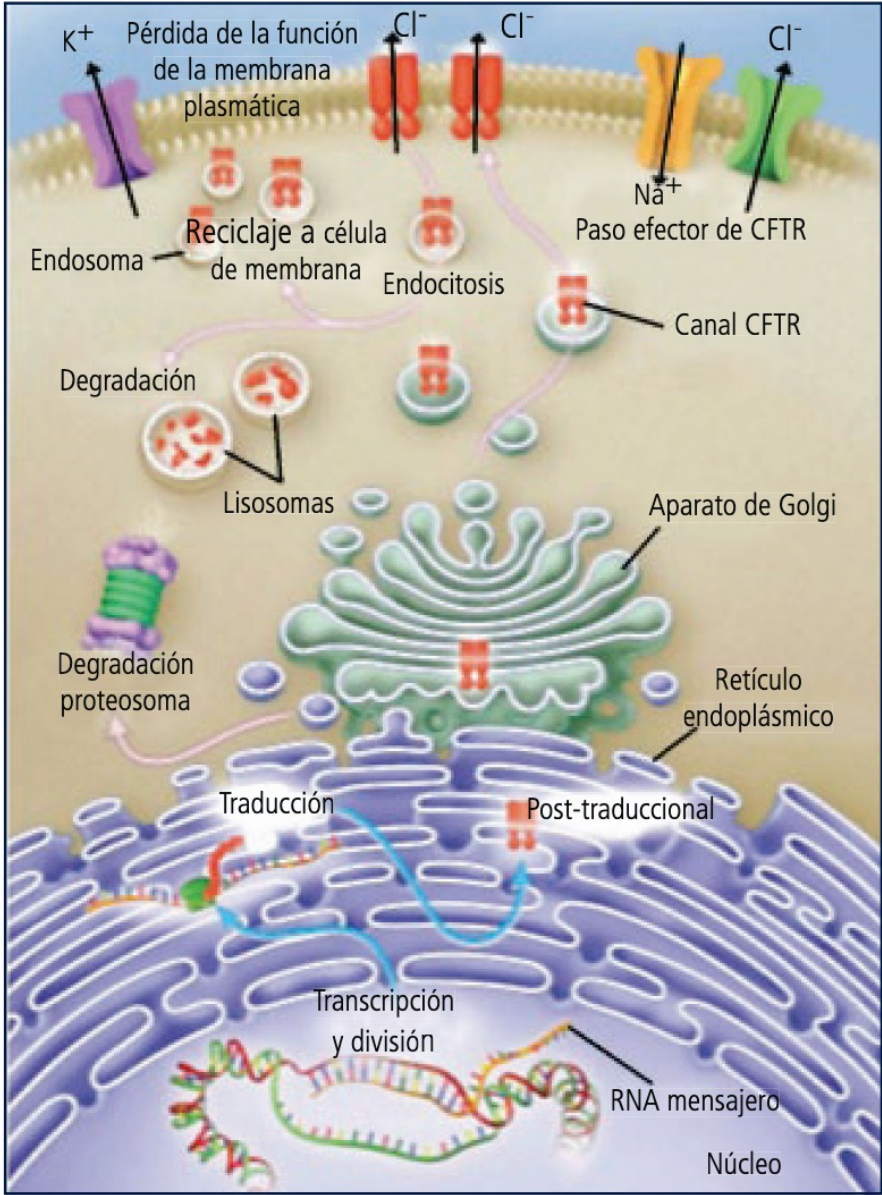
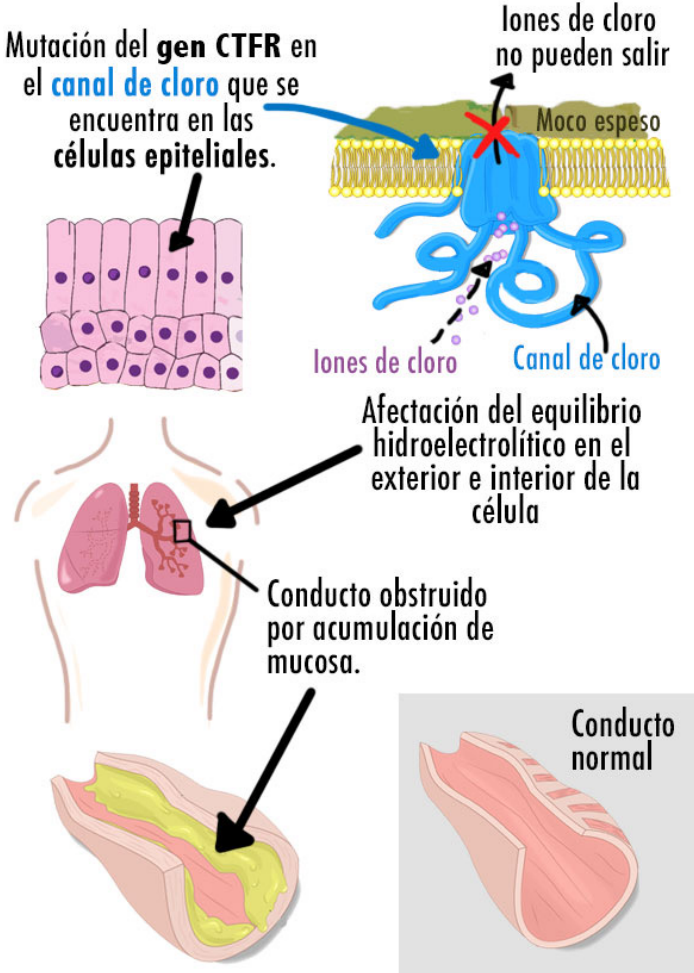
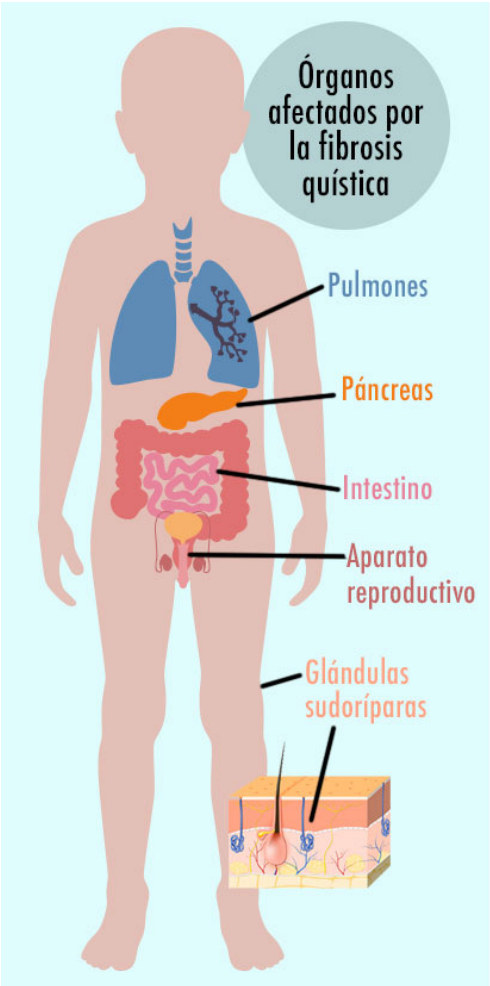


La salida del RER es altamente selectiva



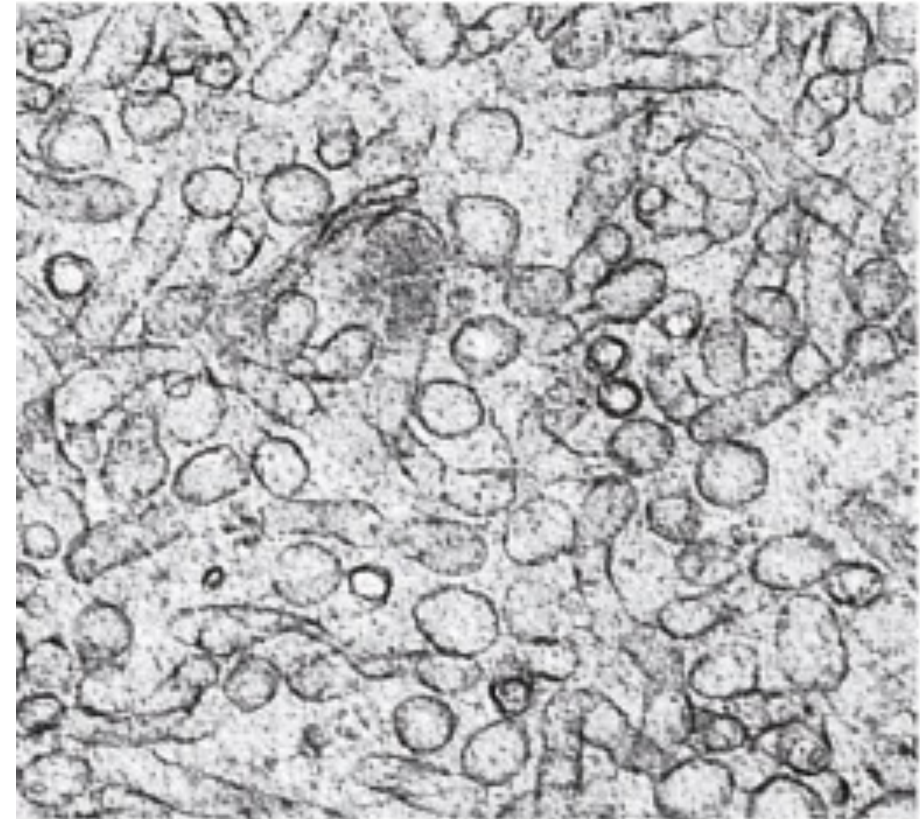
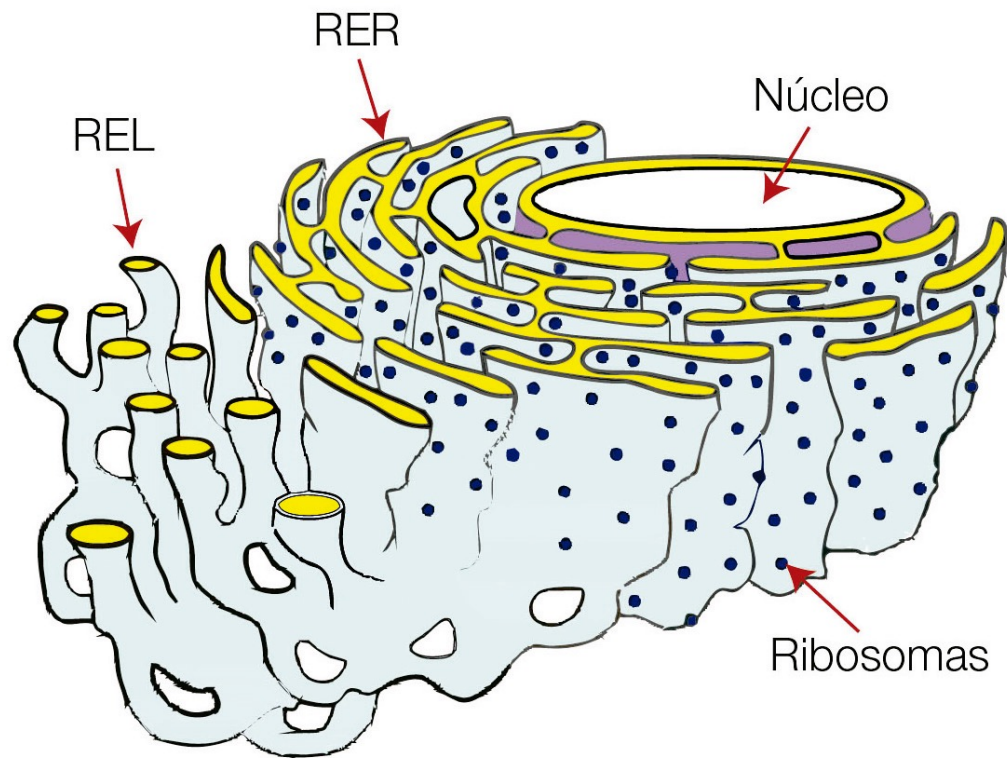
CUADRO 15-4 ALGUNOS TIPOS DE VESÍCULAS RECUBIERTAS			
Tipo de vesícula recubierta	Proteínas de la cubierta	Origen	Destino
Recubierta por clatrina	Clatrina + adaptina 1	Aparato de Golgi	Lisosoma (a través de los endosomas)
Recubierta por clatrina	Clatrina + adaptina 2	Membrana plasmática	Endosomas
Recubierta por COPII	Proteínas COPII	RE	Cisterna de Golgi
Recubierta por COPI	Proteínas COPI	Cisterna de Golgi	RE

Cystic Fibrosis: *gen CFTR*

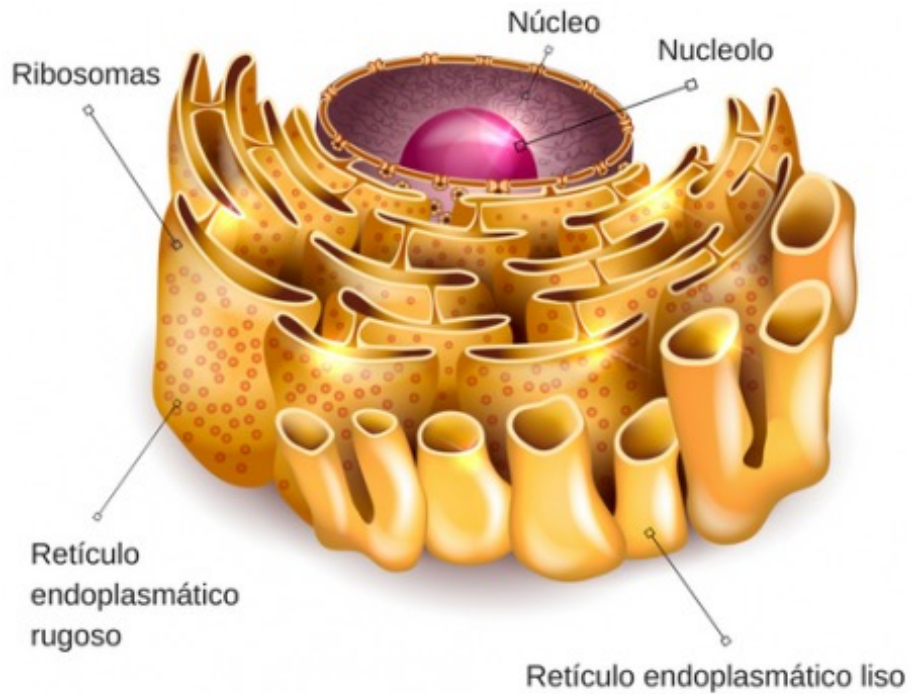


Retículo endoplasmático liso

- Red interconectada de **túbulos**
- Sin ribosomas
- Interconectado con el RER
- Síntesis de lípidos, detoxificación de sustancias liposolubles, metabolismo del glucógeno, almacenamiento de calcio...



Retículo endoplasmático liso



1. Síntesis de lípidos:

- Fosfolípidos, colesterol y ceramidas.
- Se reparten por vía vesicular a los orgánulos del sistema de endomembranas

2. Síntesis de hormonas esteroideas (Células de Leydig)

3. Detoxificación de sustancias liposolubles (Hepatocitos)

- Exógenas o derivadas del metabolismo celular.

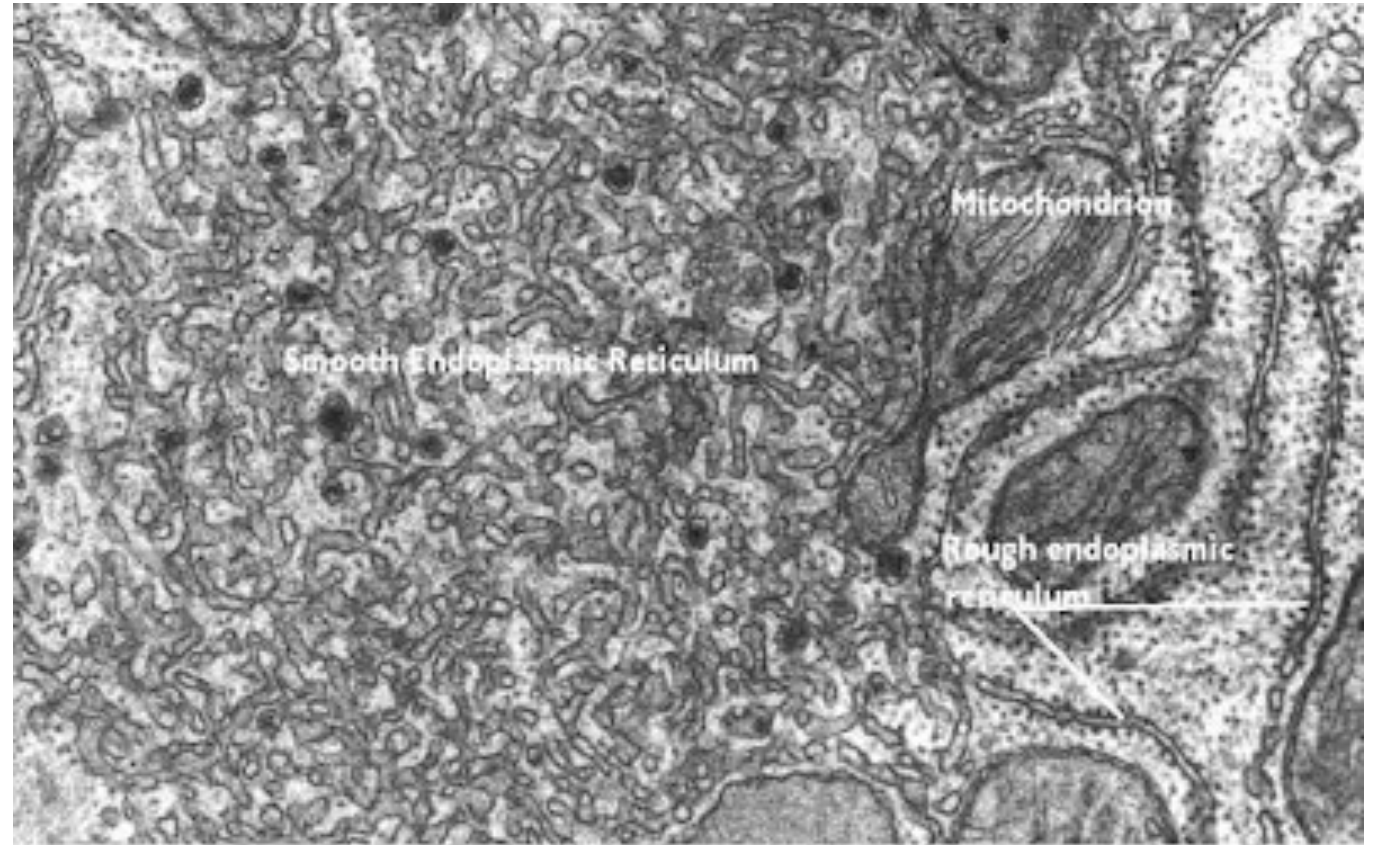
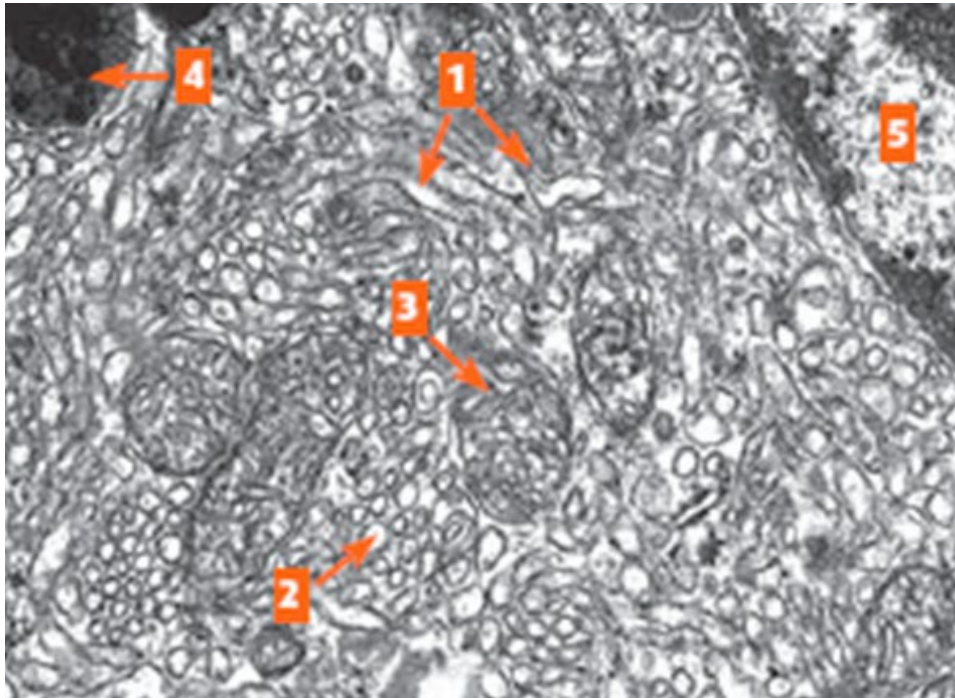
4. Metabolismo del glucógeno (Hepatocitos)

- Glucogenolisis: la glucógeno 6-Pasa en la membrana.

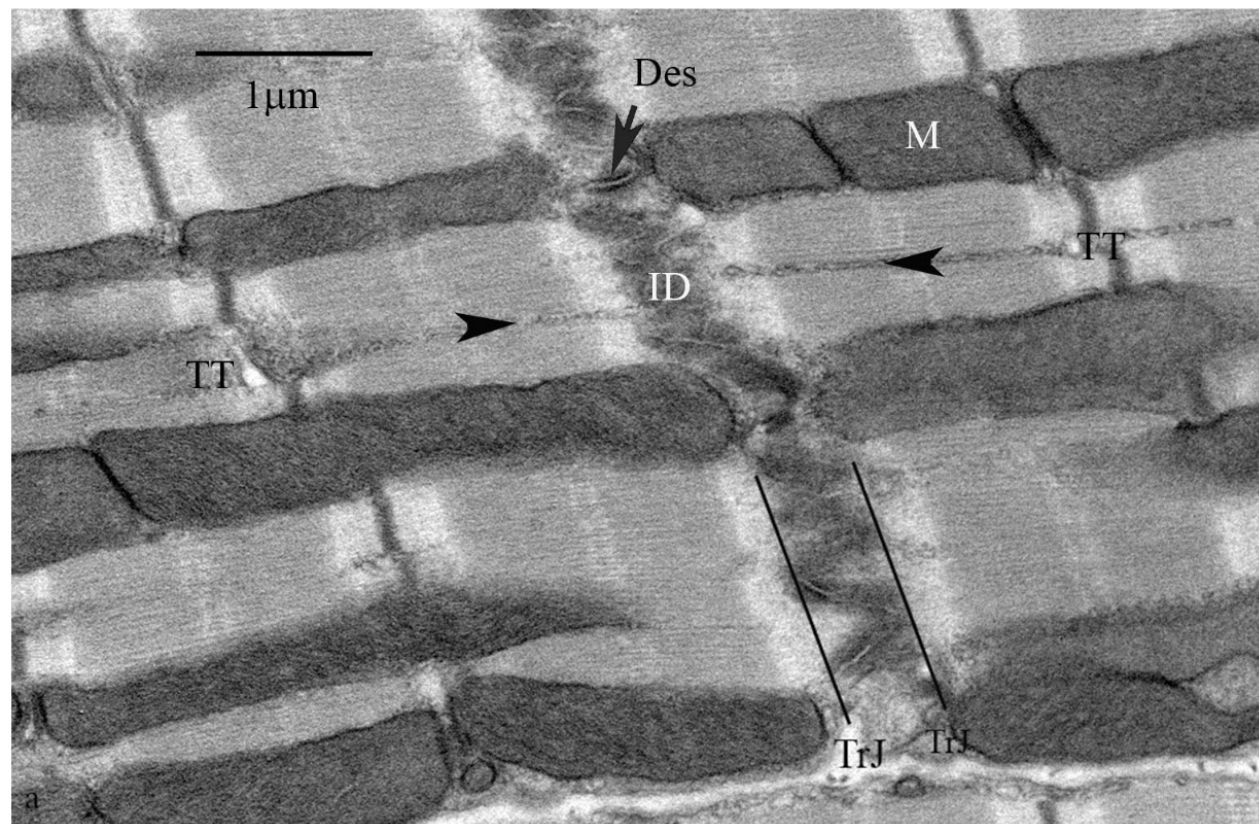
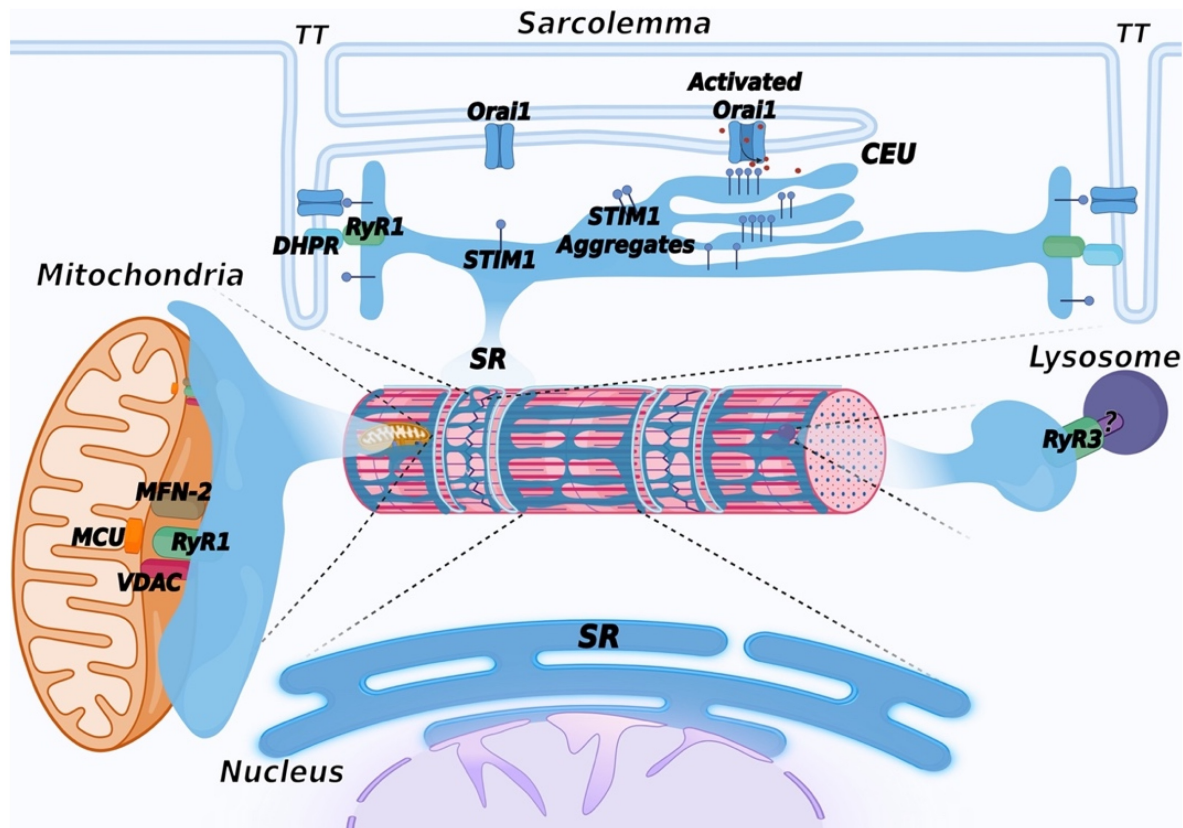
5. Almacenamiento de Calcio

- Reservorio intracelular de Ca: Bombas de Ca- ATPasas
- Retículo sarcoplásmico en células de músculo estriado y cardiaco

Retículo endoplasmático liso



Retículo endoplasmático liso





Universidad de Valladolid

Retículo endoplasmático

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

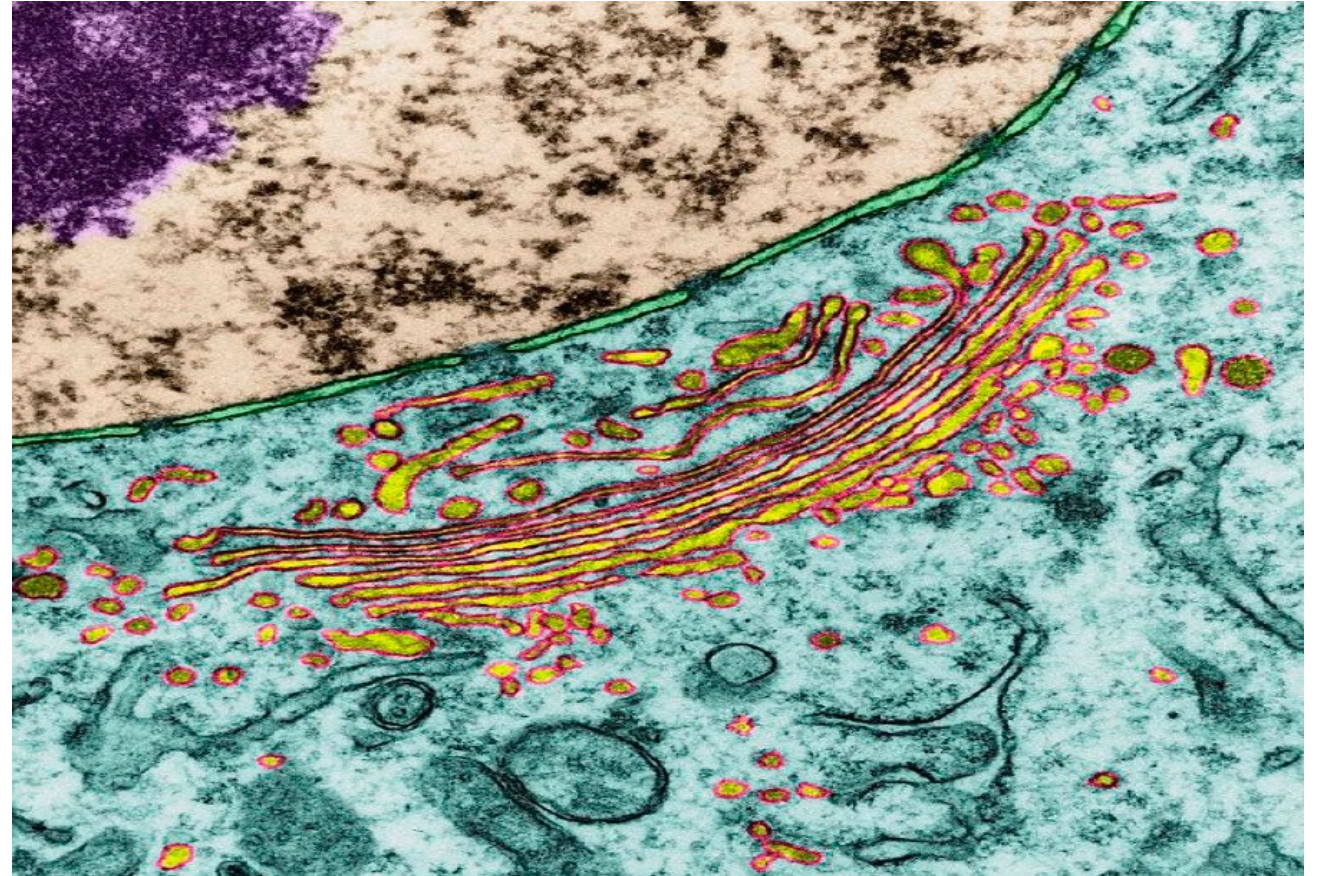
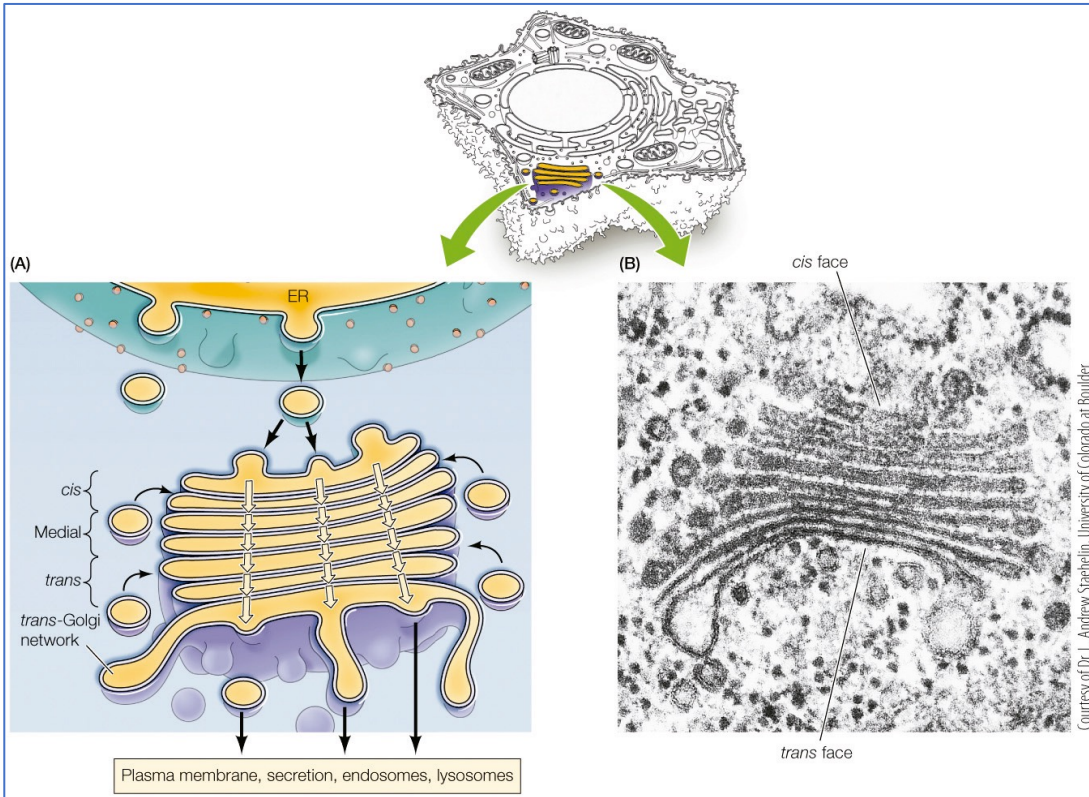
Aparato de Golgi

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es

Aparato de Golgi: pila de sacos aplanados limitados por membrana

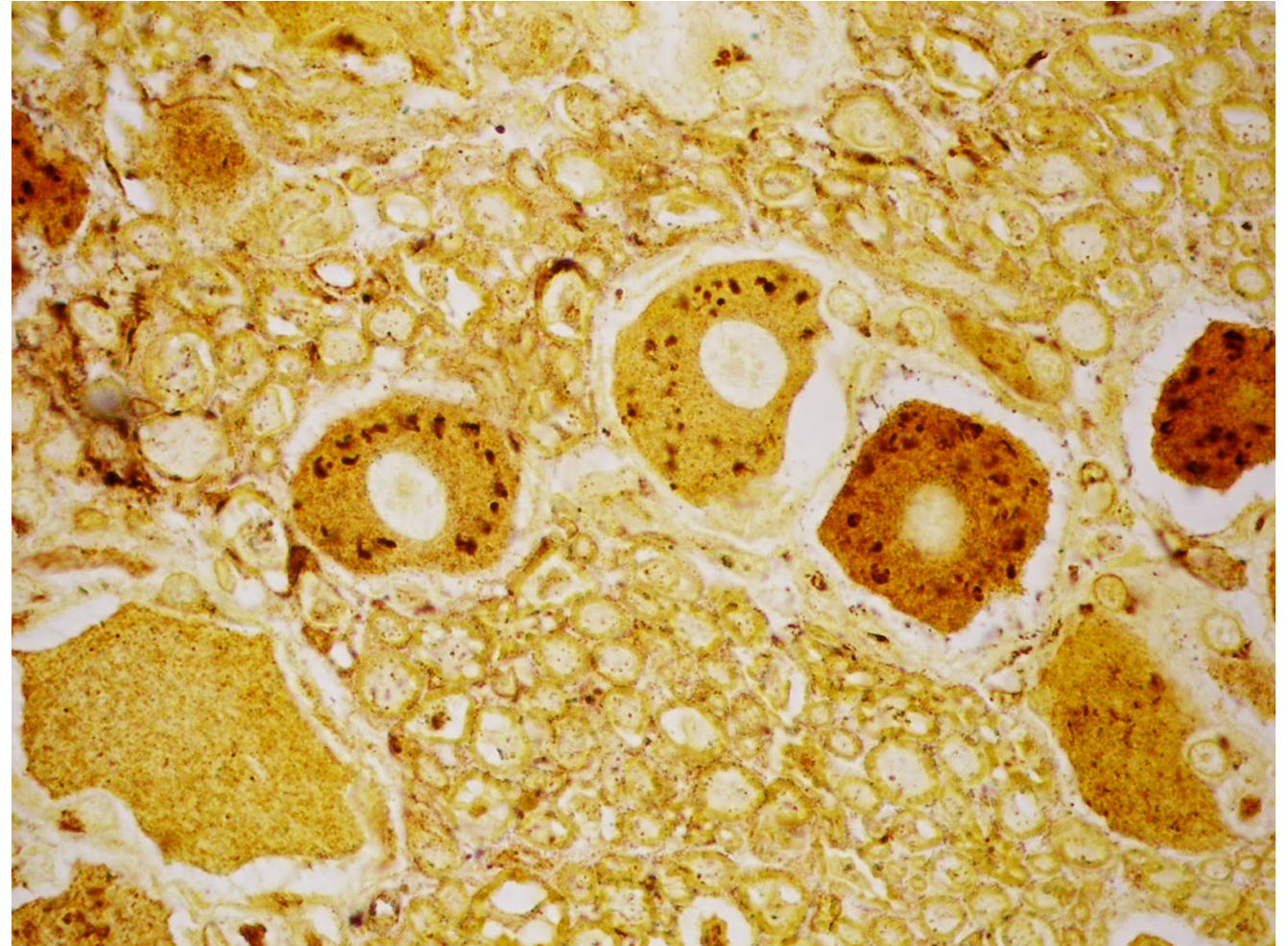


Conjunto de sáculos membranosos aplanados (cisternas) apilados en disposición paralela con vesículas junto a los extremos y elementos tubulares membranosos. **Dictiosoma**

Presente en todas las células **salvo en los eritrocitos**

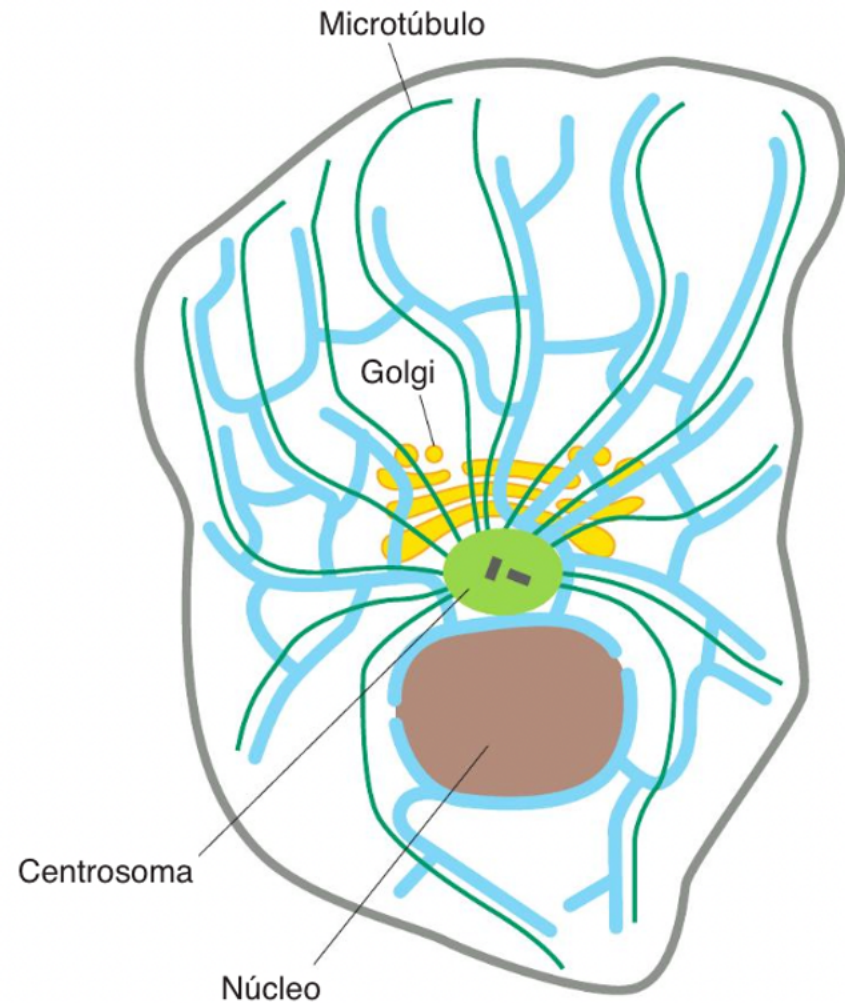
Aparato de Golgi: pila de sacos aplanados limitados por membrana

Aparato reticular interno: *“red perinuclear fina y elegante de hilos anastomosados y entrelazados”* (C. Golgi, 1889)



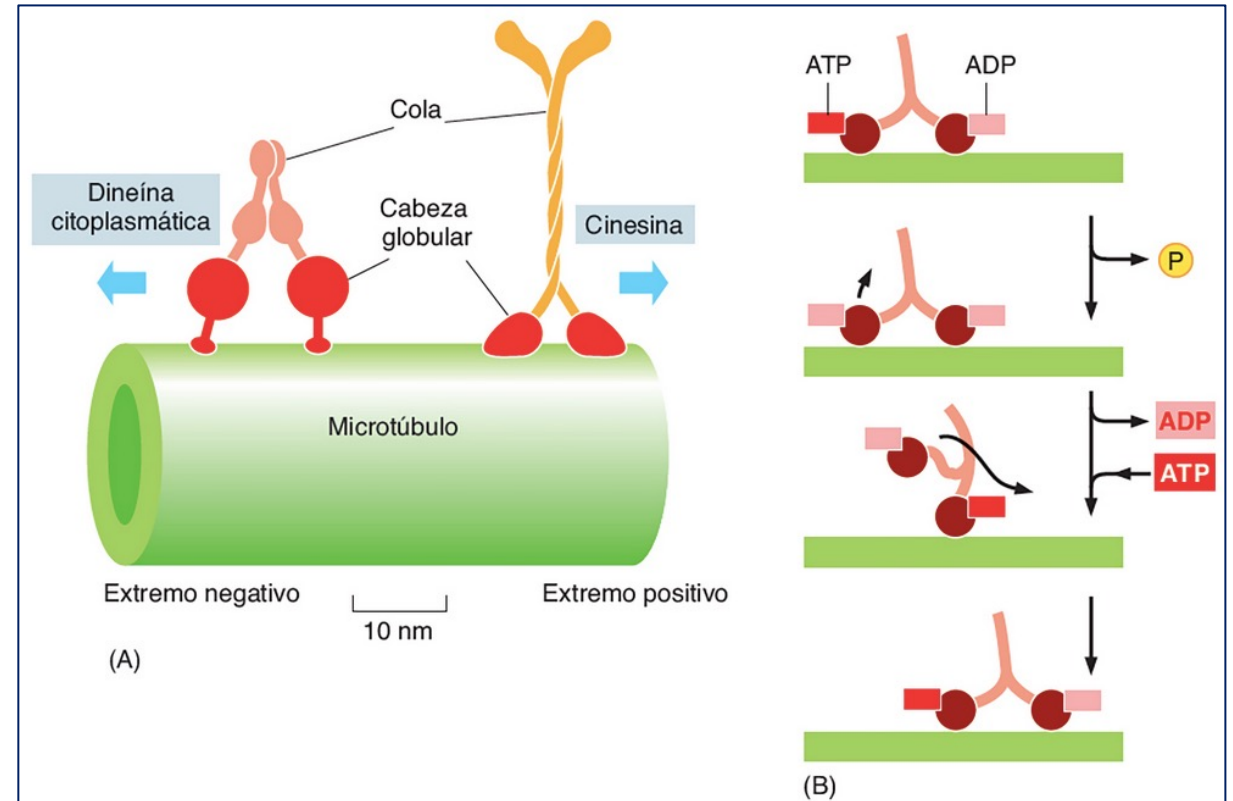
Método de Golgi: impregnaciones con osmio y rubidio

Su localización depende de los microtúbulos

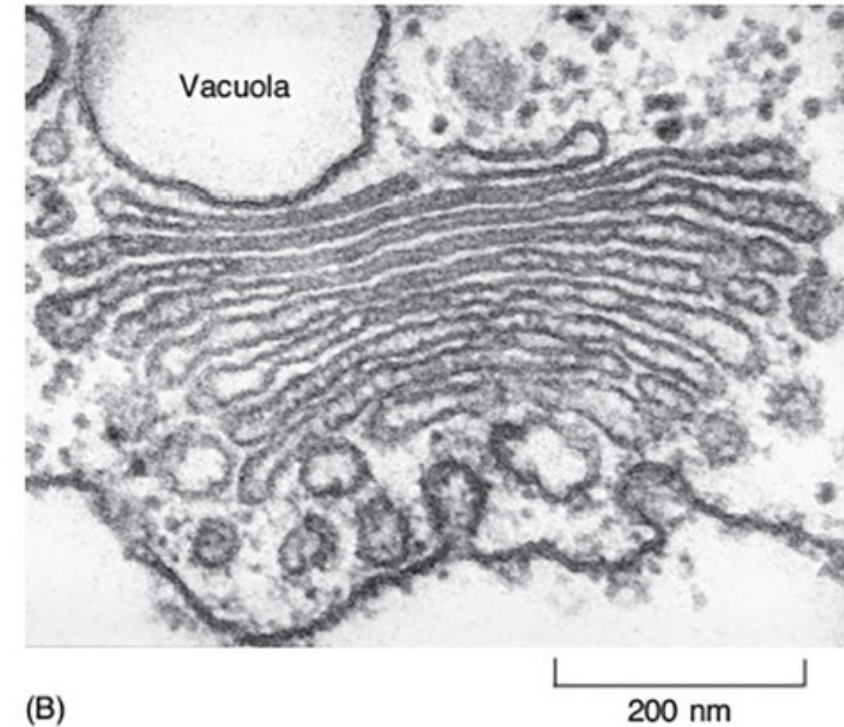
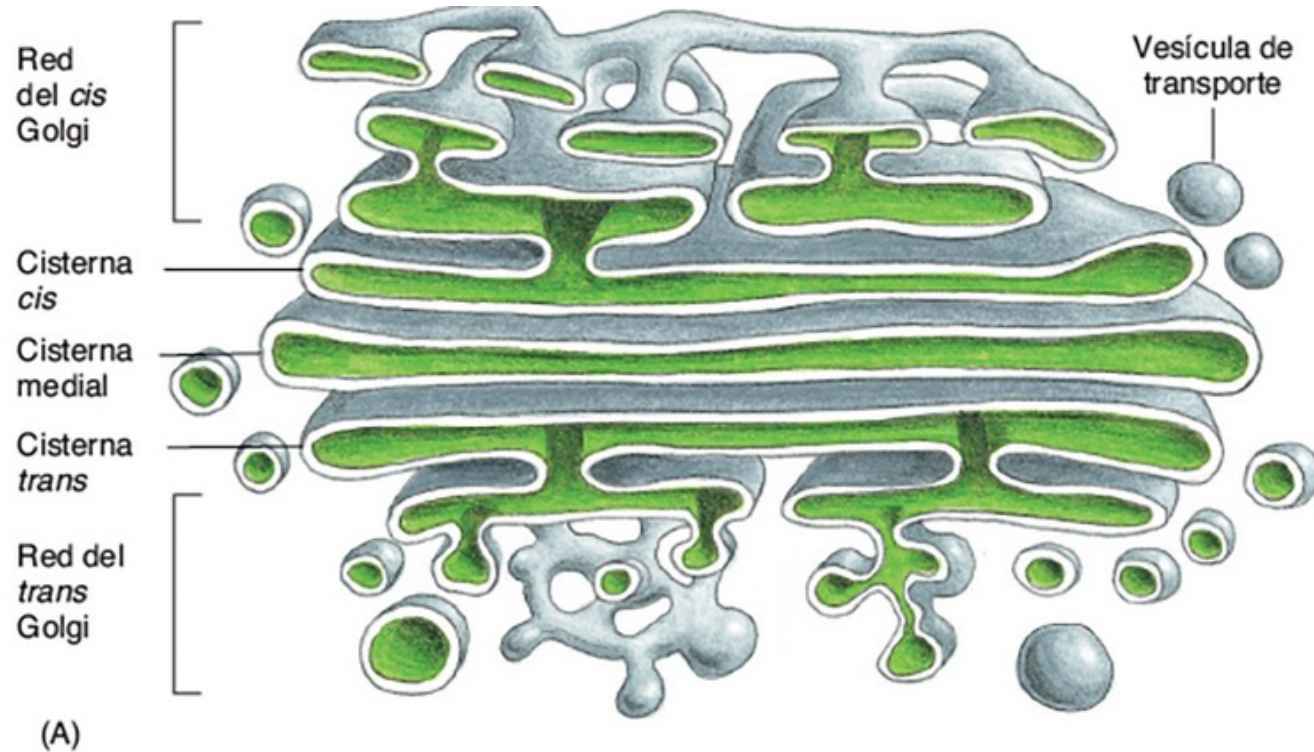


(A)

Suele estar próximo al centrosoma, cerca del núcleo



Está muy polarizado

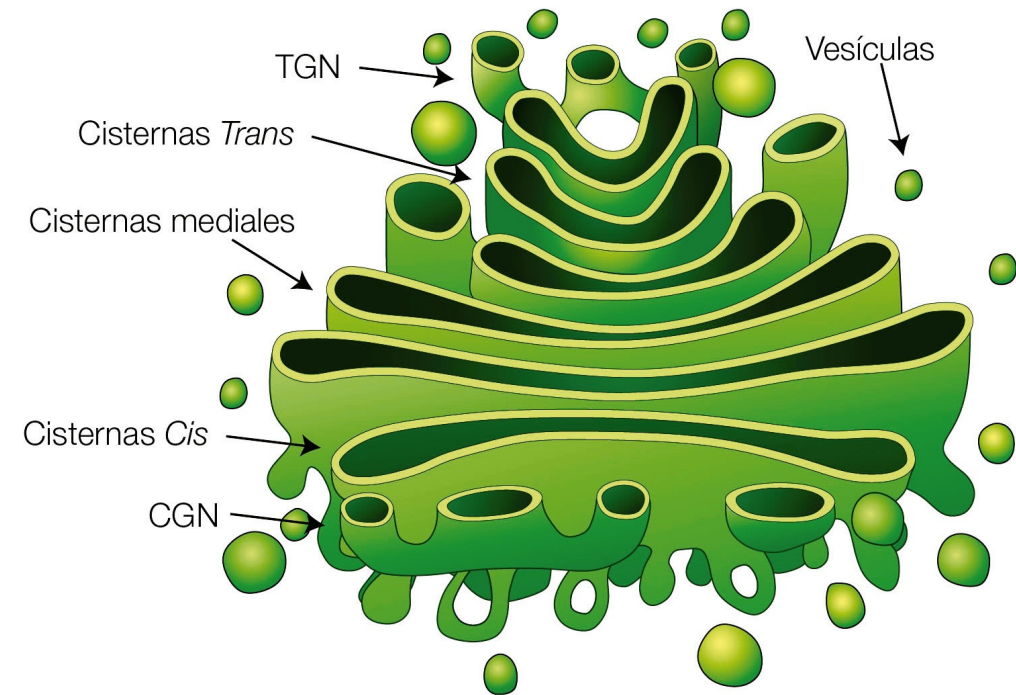


- Cada pila contiene **3-20 cisternas**
- El número de pilas de cisternas de Golgi por célula **varía mucho** según el tipo celular
- La cisterna más externa de cada cara está conectada a una **red de vesículas y tubos membranosos interconectados**
- Muy dinámico y polarizado

Está muy polarizado

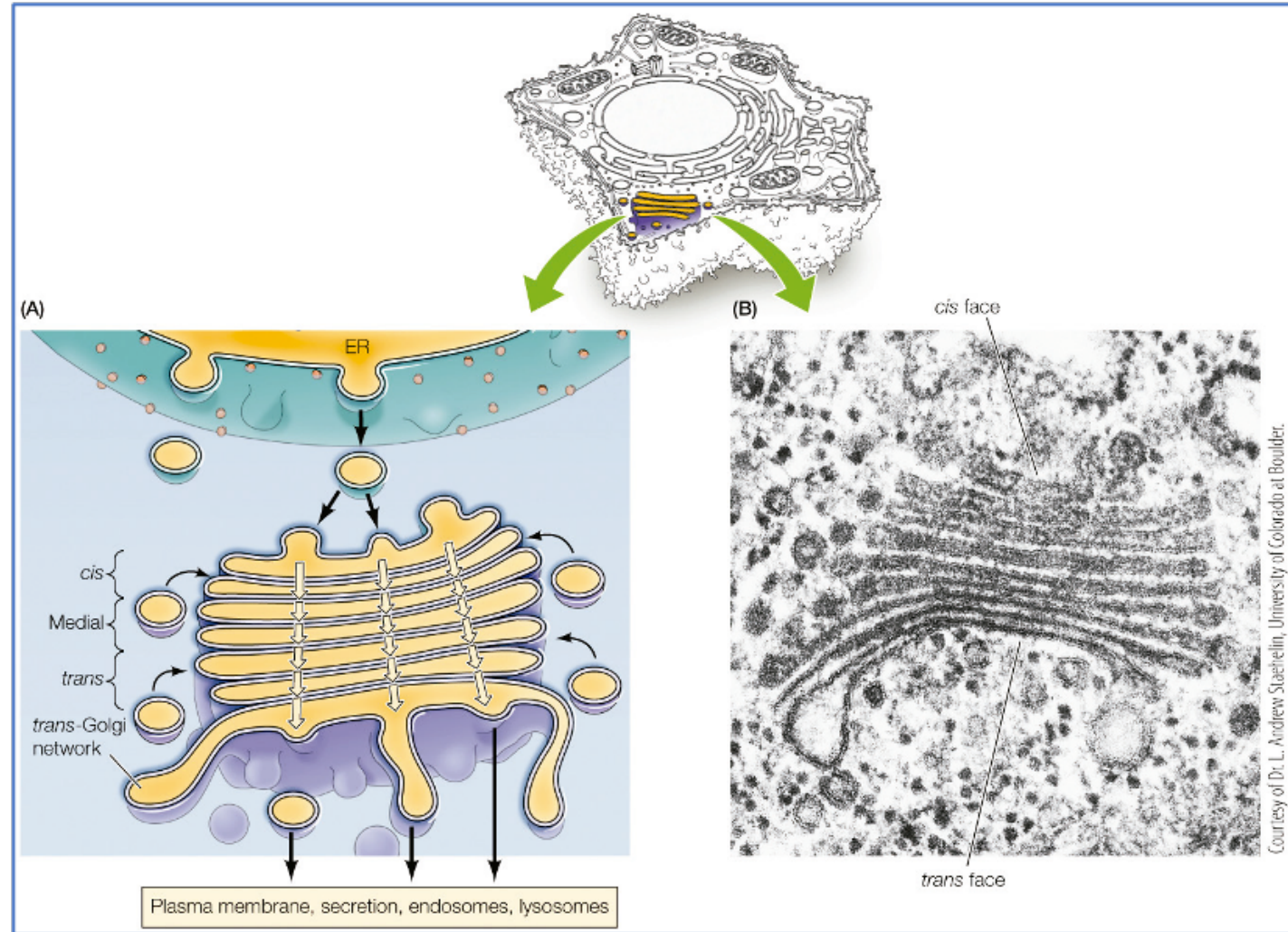
Lisosoma
Membrana plasmática
Vesículas de secreción

↑
Cara Trans

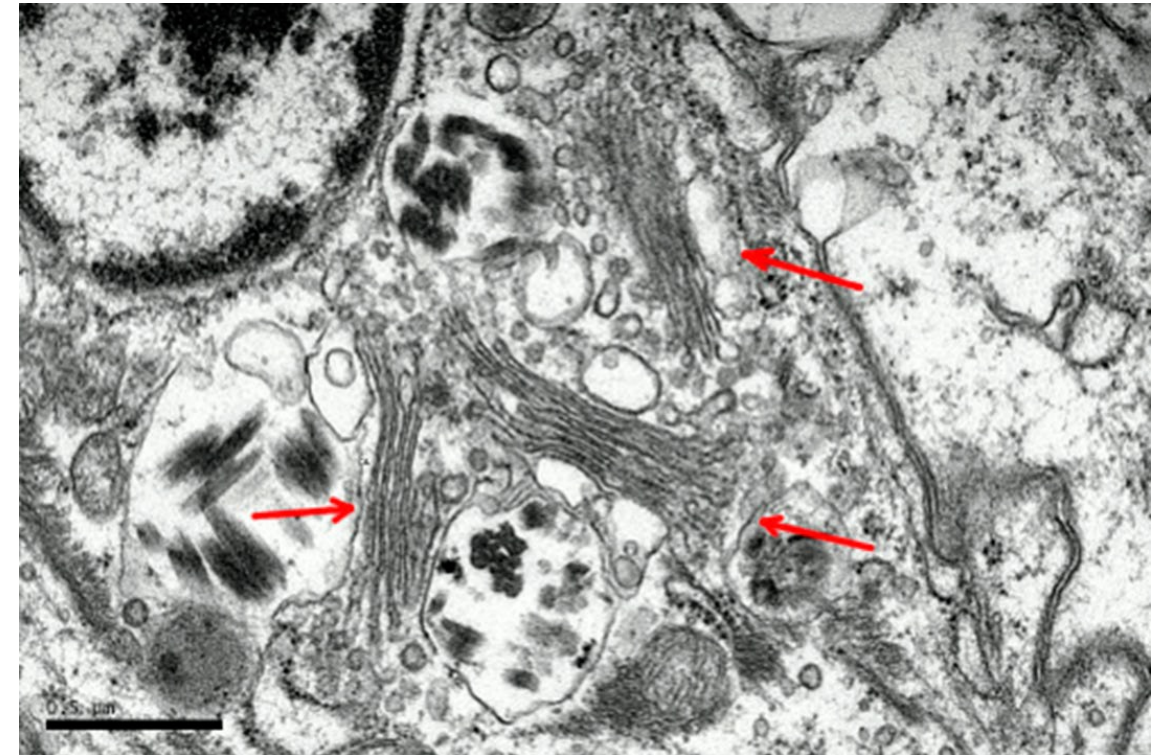
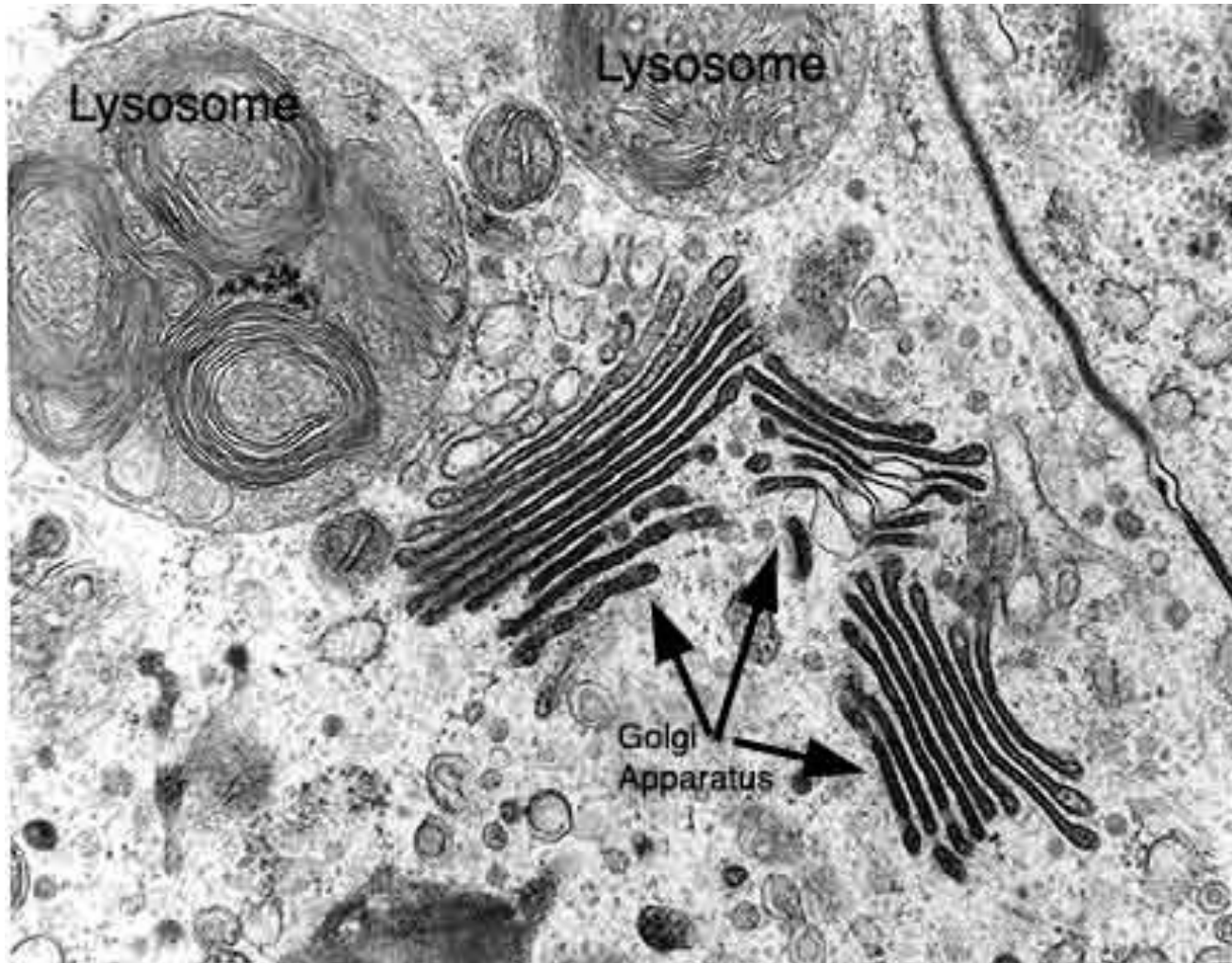


↑
Cara Cis

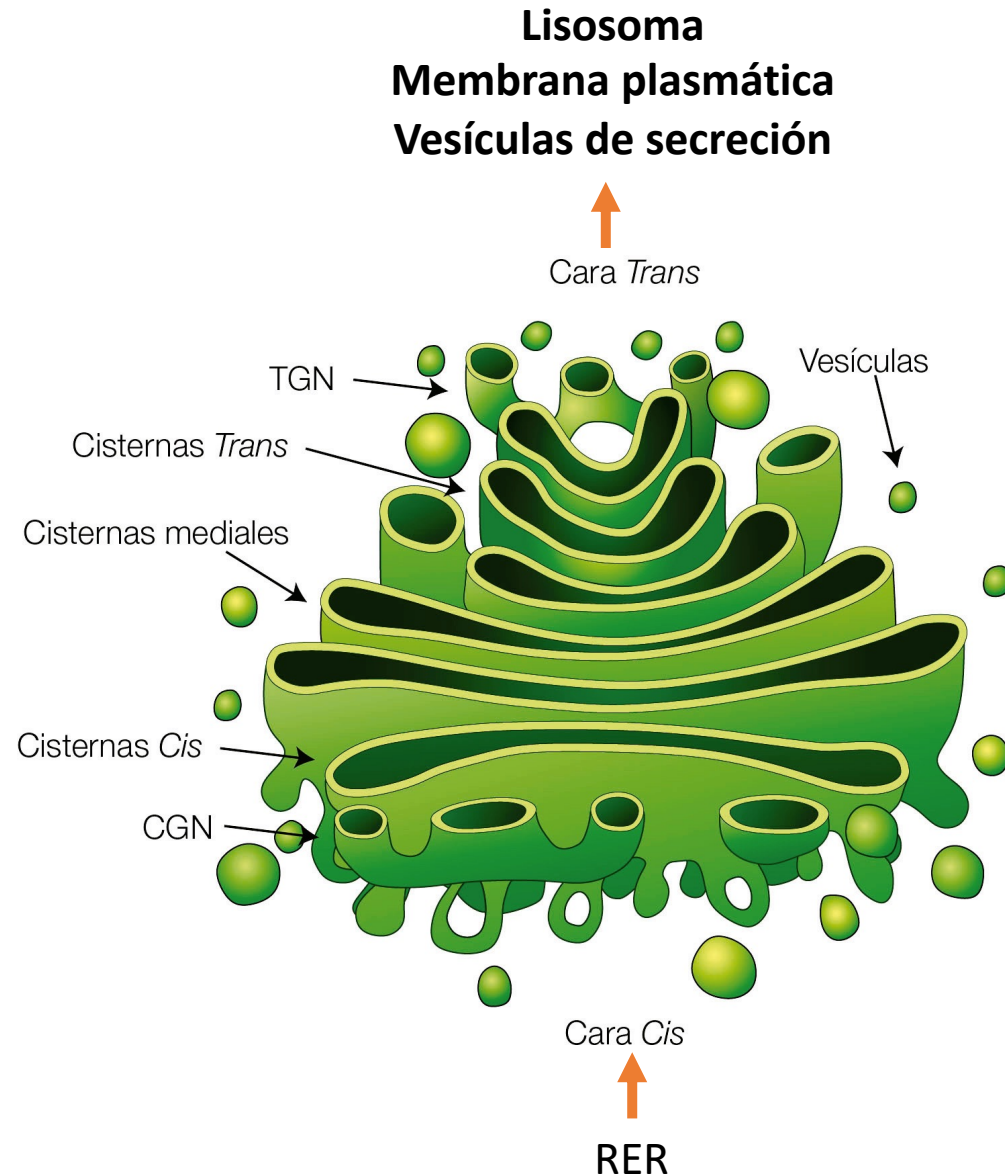
RER



Está muy polarizado: el número de pilas es variable



Está muy polarizado

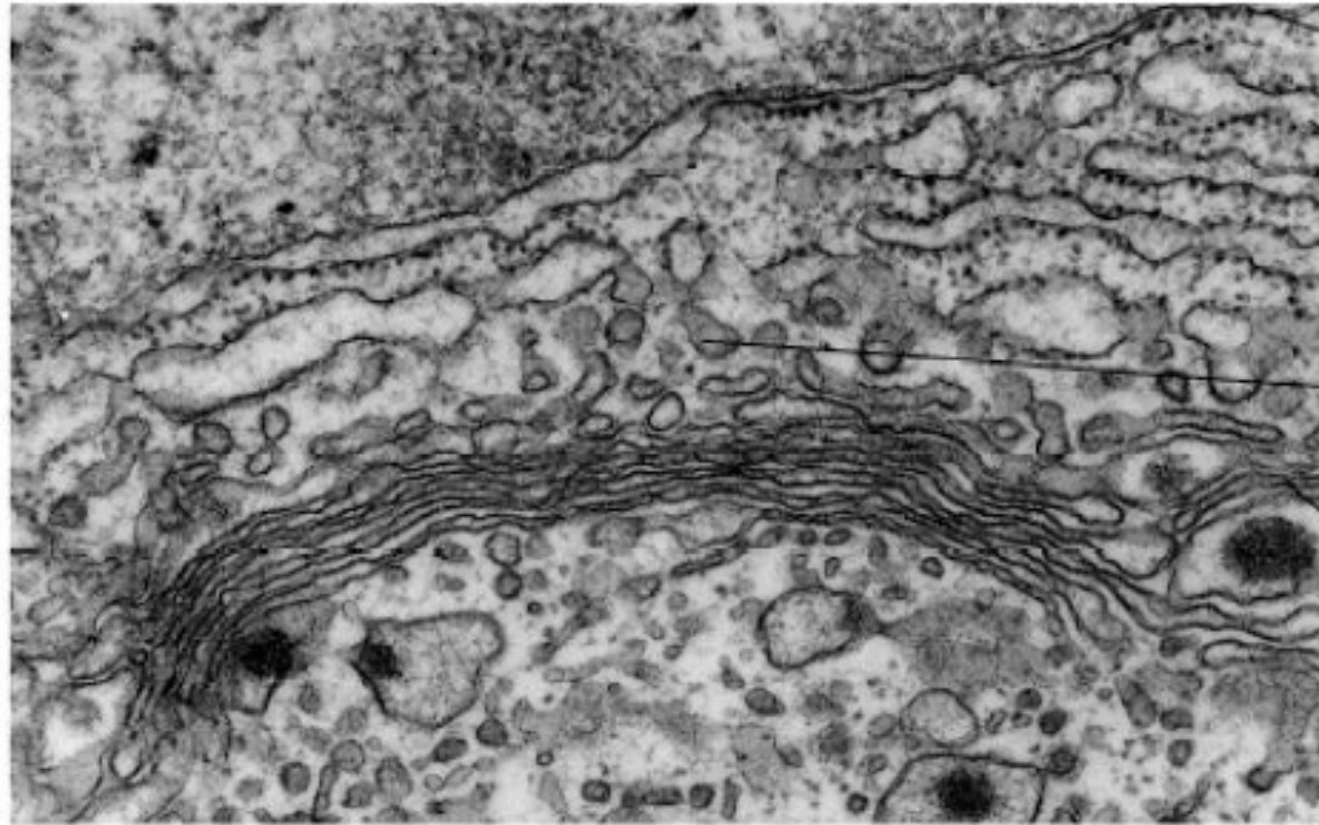


- Cambio de pH
- Cambio de composición

Compartimento intermedio entre el RER y el aparato de Golgi

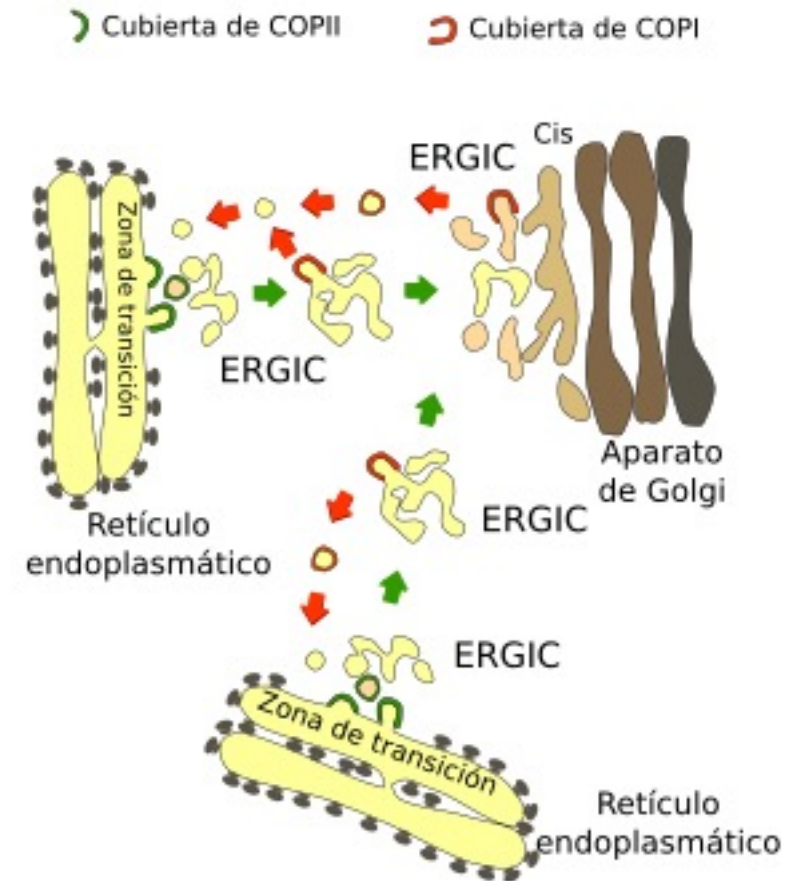
Endoplasmic Reticulum-Golgi Intermediate Compartment

ERGIC



(B)

1 μm

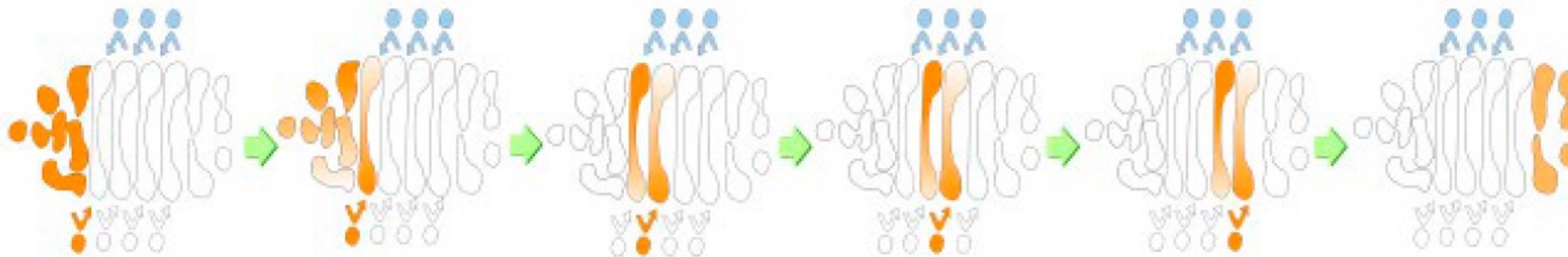
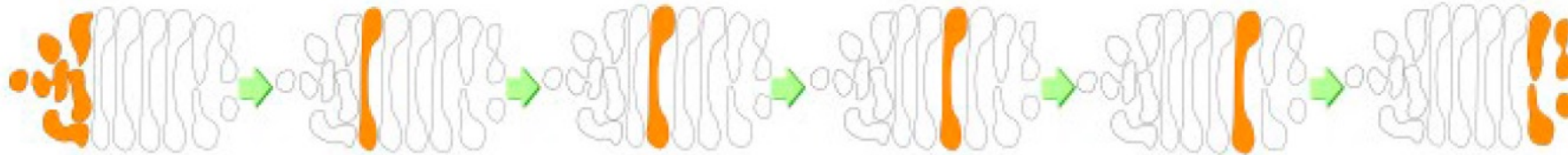


Vesículas del ERGIC de diferentes zonas de transición se fusionan para formar las primeras cisternas CIS

El destino mayoritario de las proteínas sintetizadas en el RER es el Golgi

Las proteínas viajan en secuencia a través de las cisternas de dos maneras: **vesículas** vs. **maduración de las cisternas**

MODELO DE MADURACIÓN DE CISTERNAS

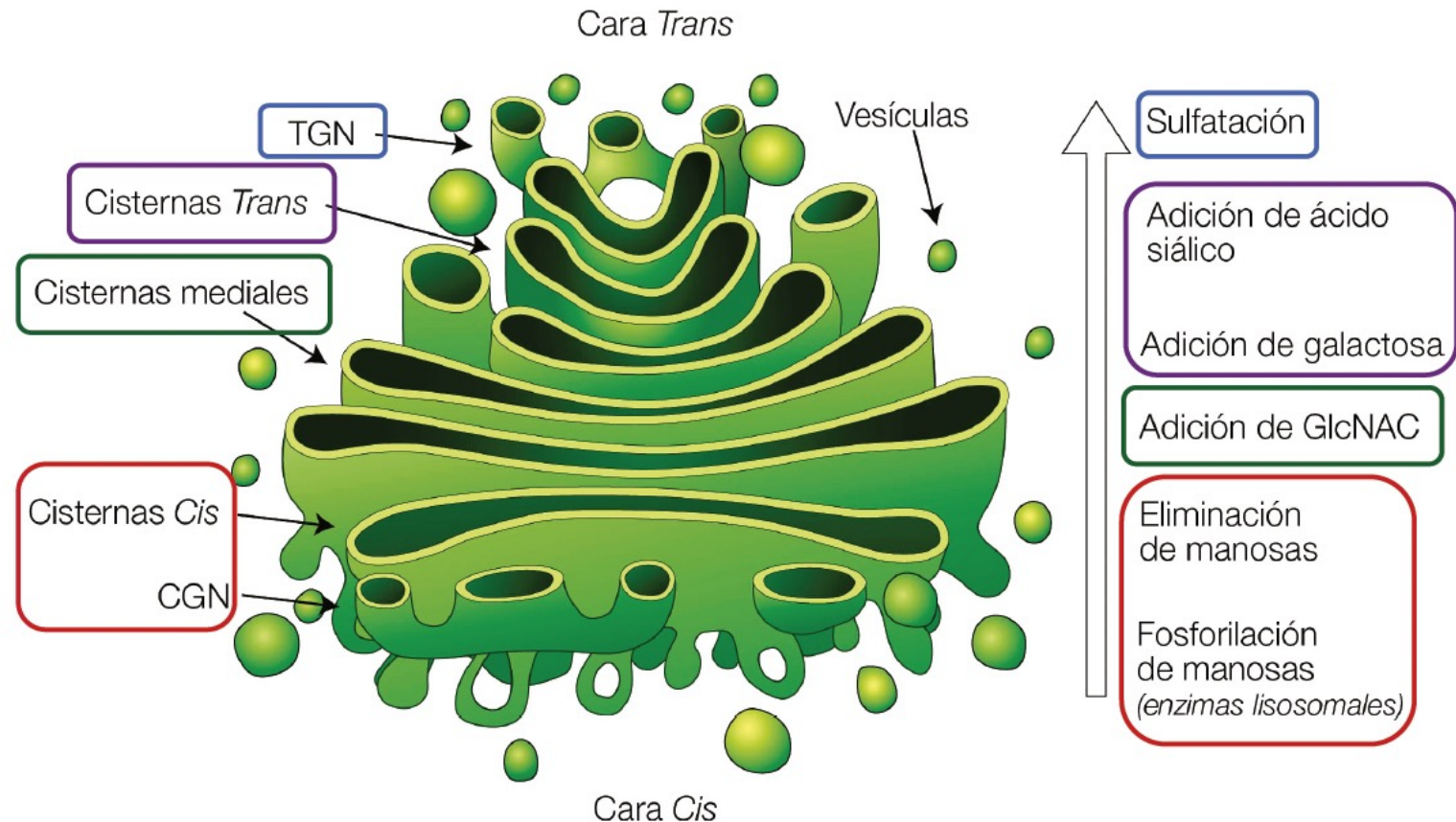


Vesículas transicionales o de transición

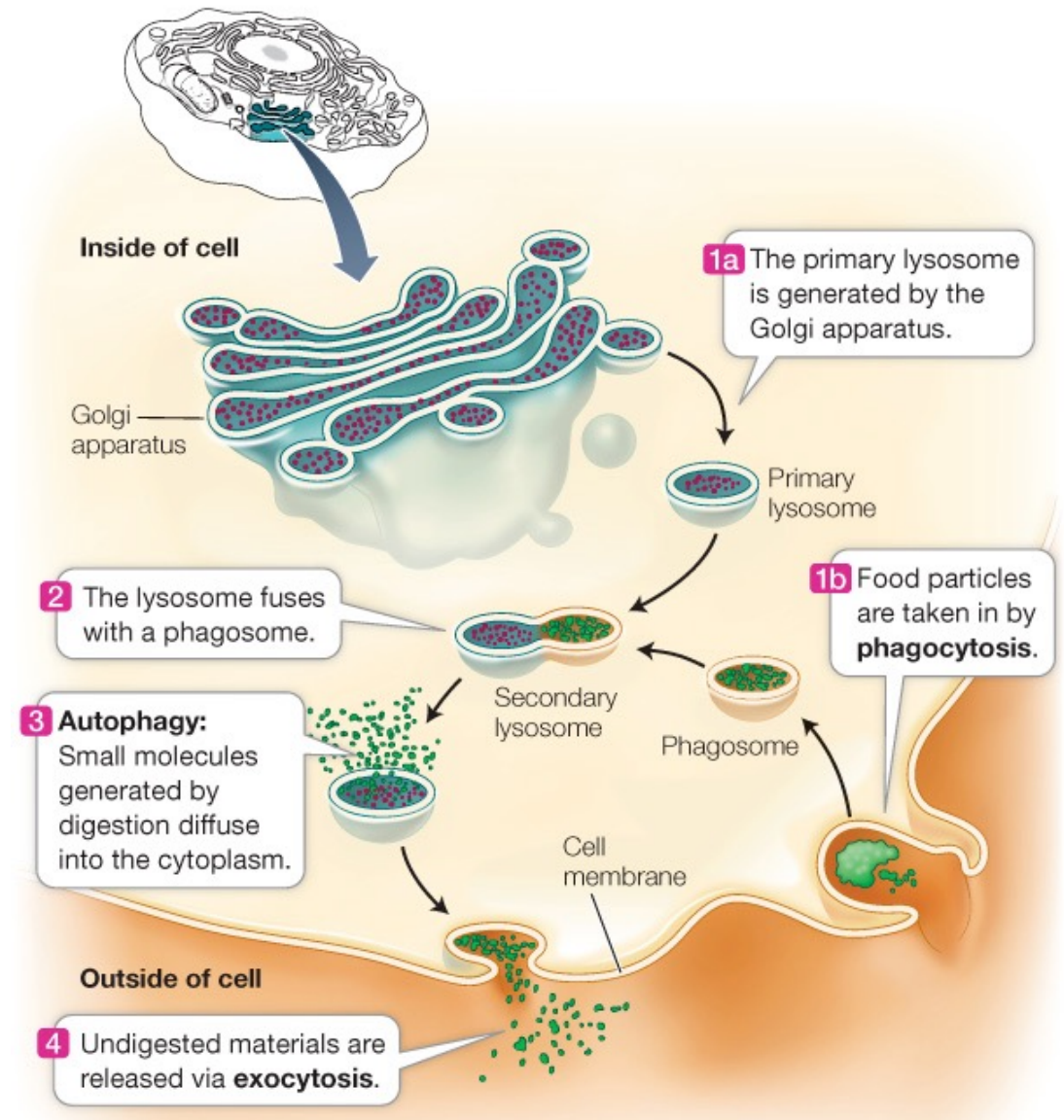
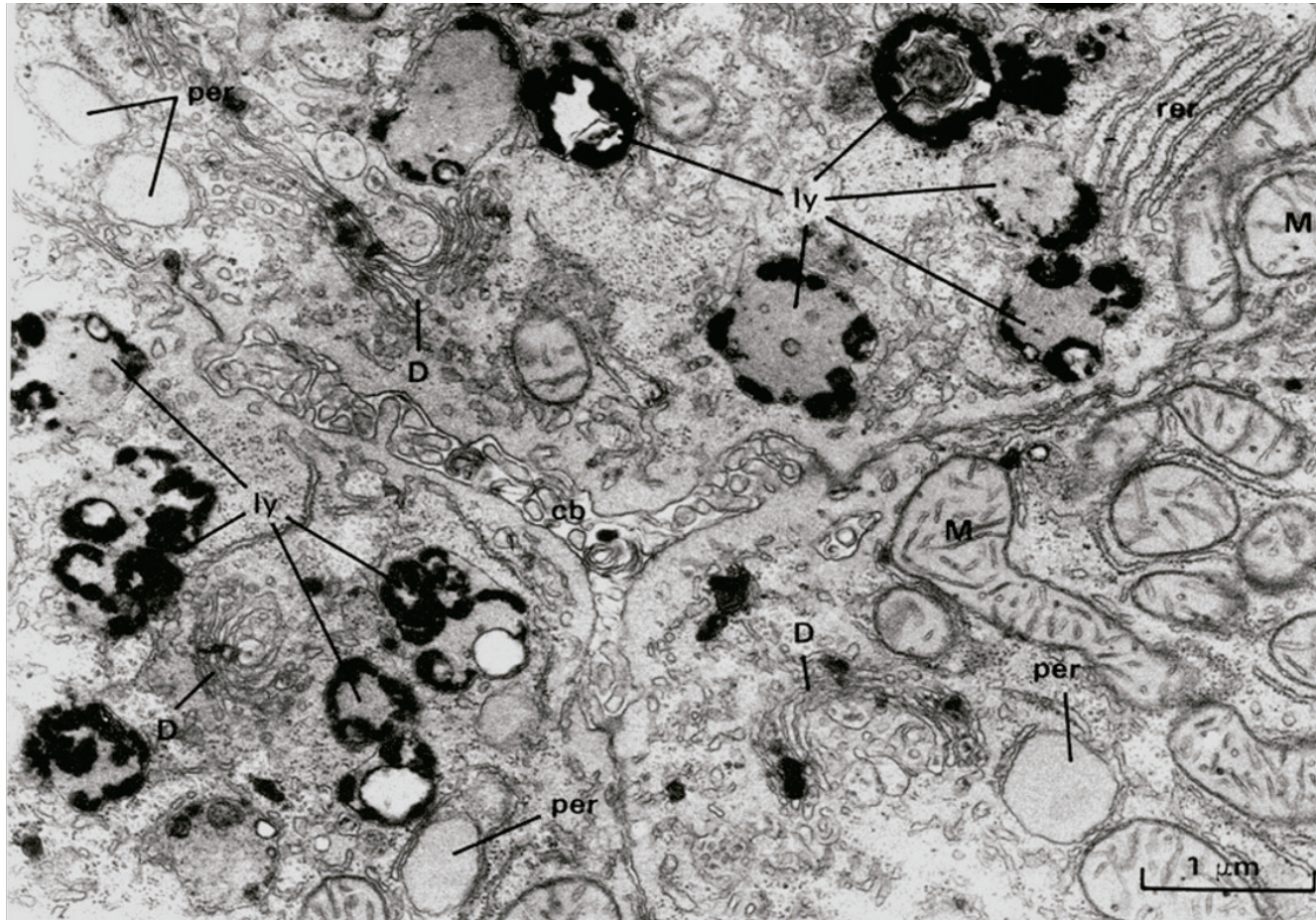
Funciones del aparato de Golgi

Cada compartimento posee un grupo específico de enzimas responsables de la maduración secuencial de las proteínas.

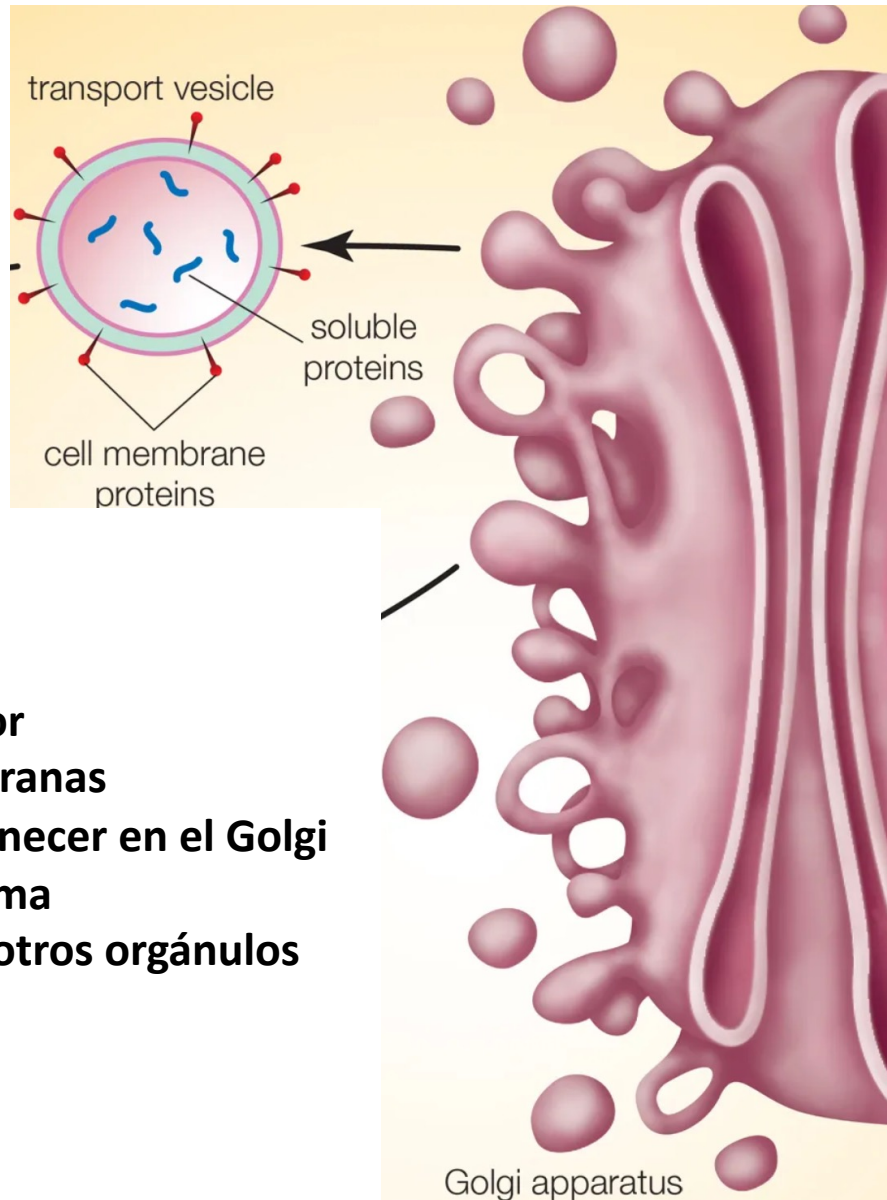
1. GLUCOSIDADACIÓN
2. SULFATACIÓN
3. FRAGMENTACIÓN
4. MARCAJE DE PROTEINAS-ENZIMAS
5. DISTRIBUCIÓN DE MACROMOLÉCULAS
6. RECICLAJE DE MEMBRANAS
7. FORMACIÓN DE LISOSOMAS PRIMARIOS



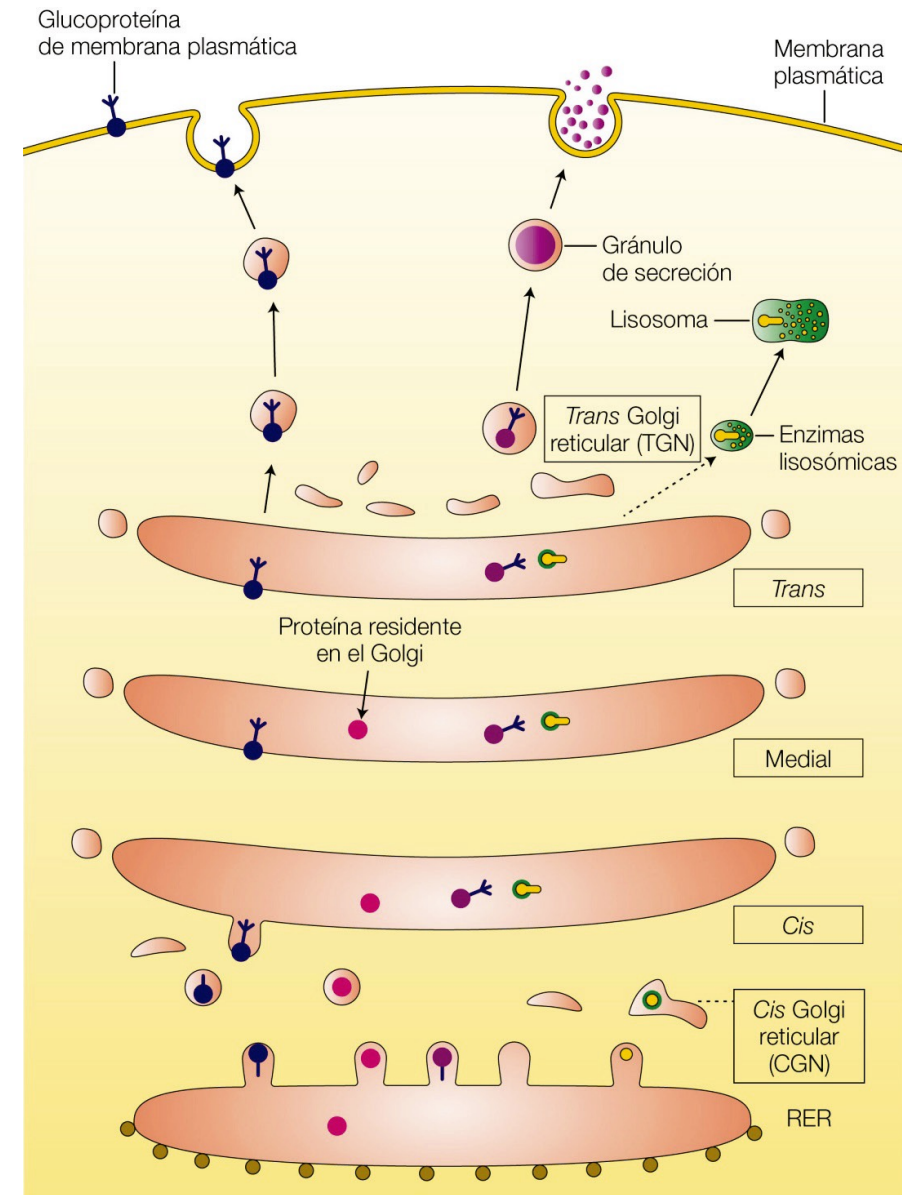
Funciones del aparato de Golgi: formación de lisosomas



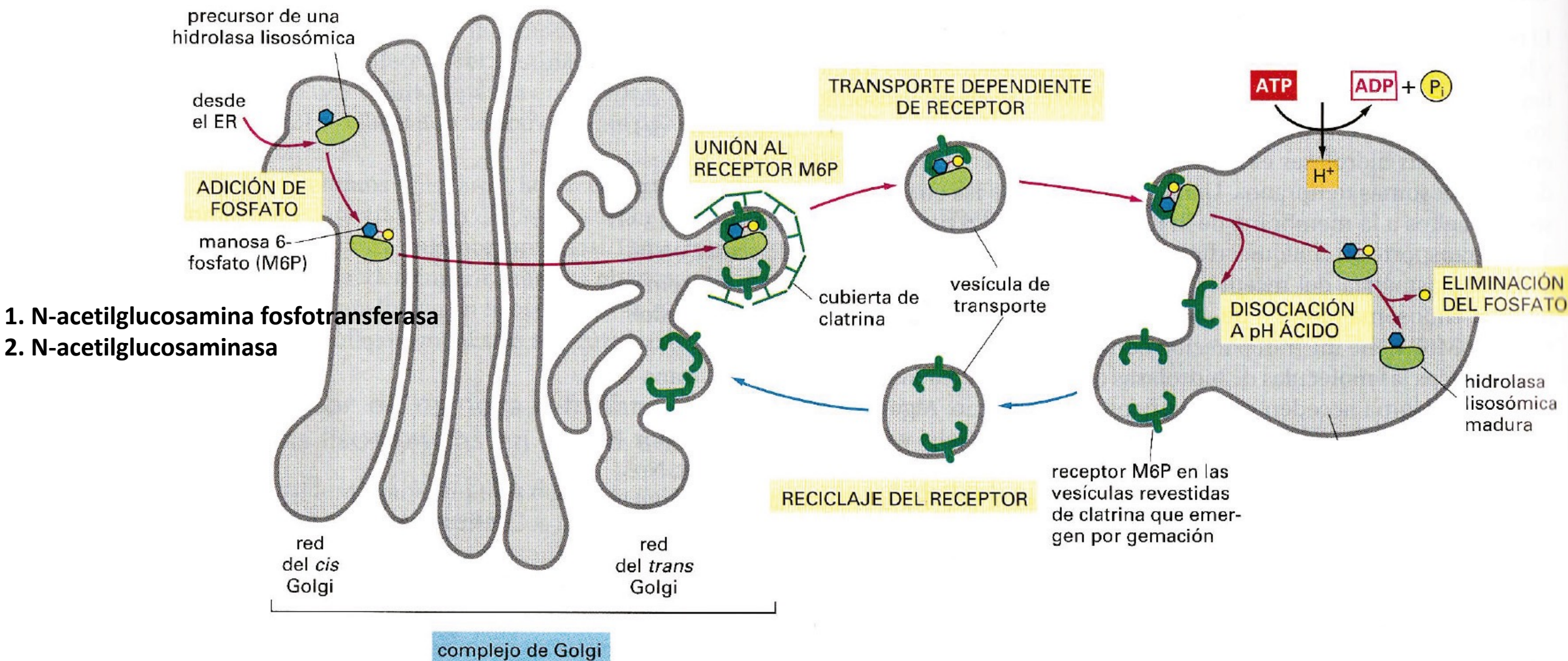
Funciones del aparato de Golgi: marcaje y distribución



- Exterior
- Membranas
- Permanecer en el Golgi
- Lisosoma
- RER y otros orgánulos

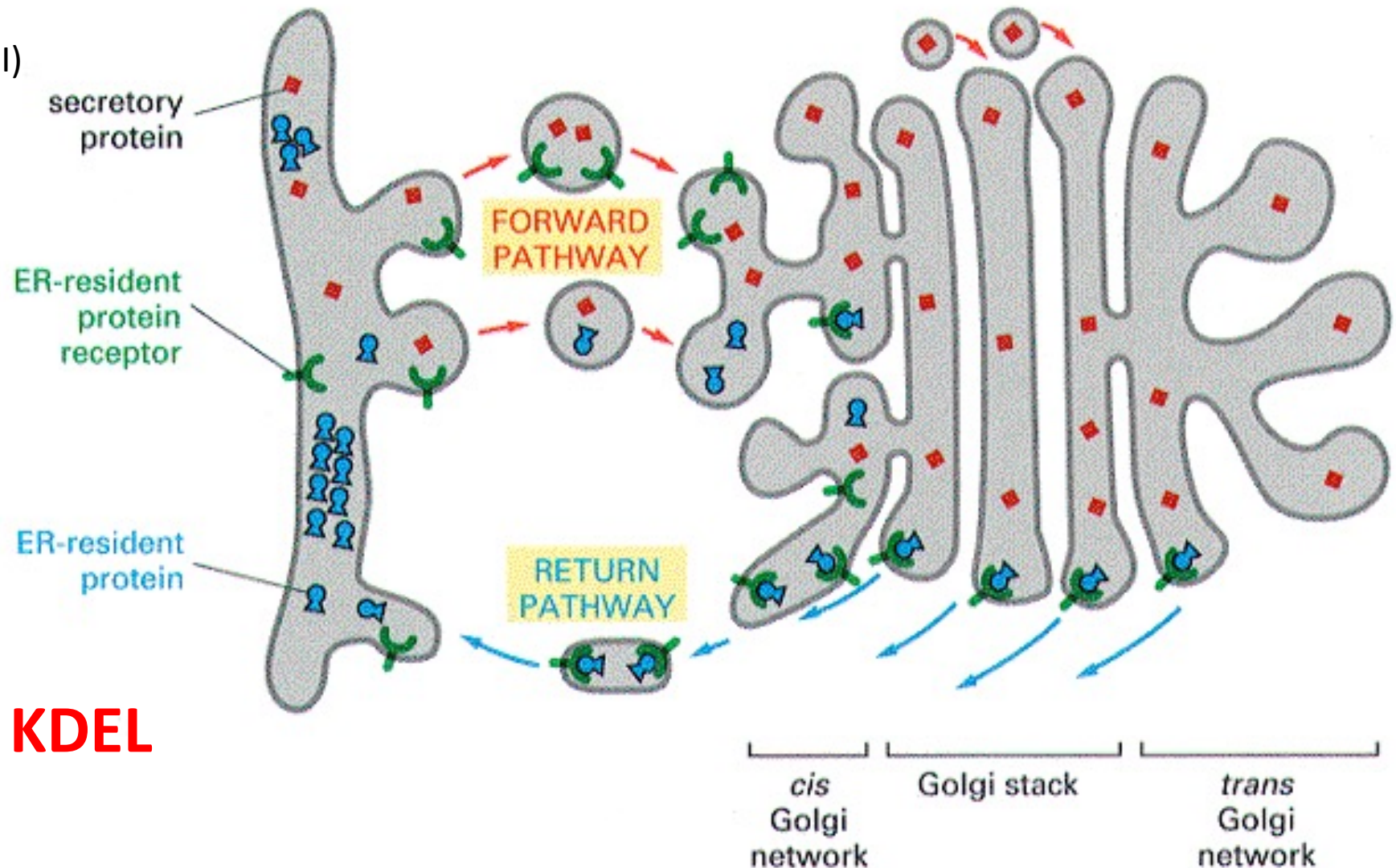


Funciones del aparato de Golgi: marcaje y distribución



Funciones del aparato de Golgi: marcaje y distribución

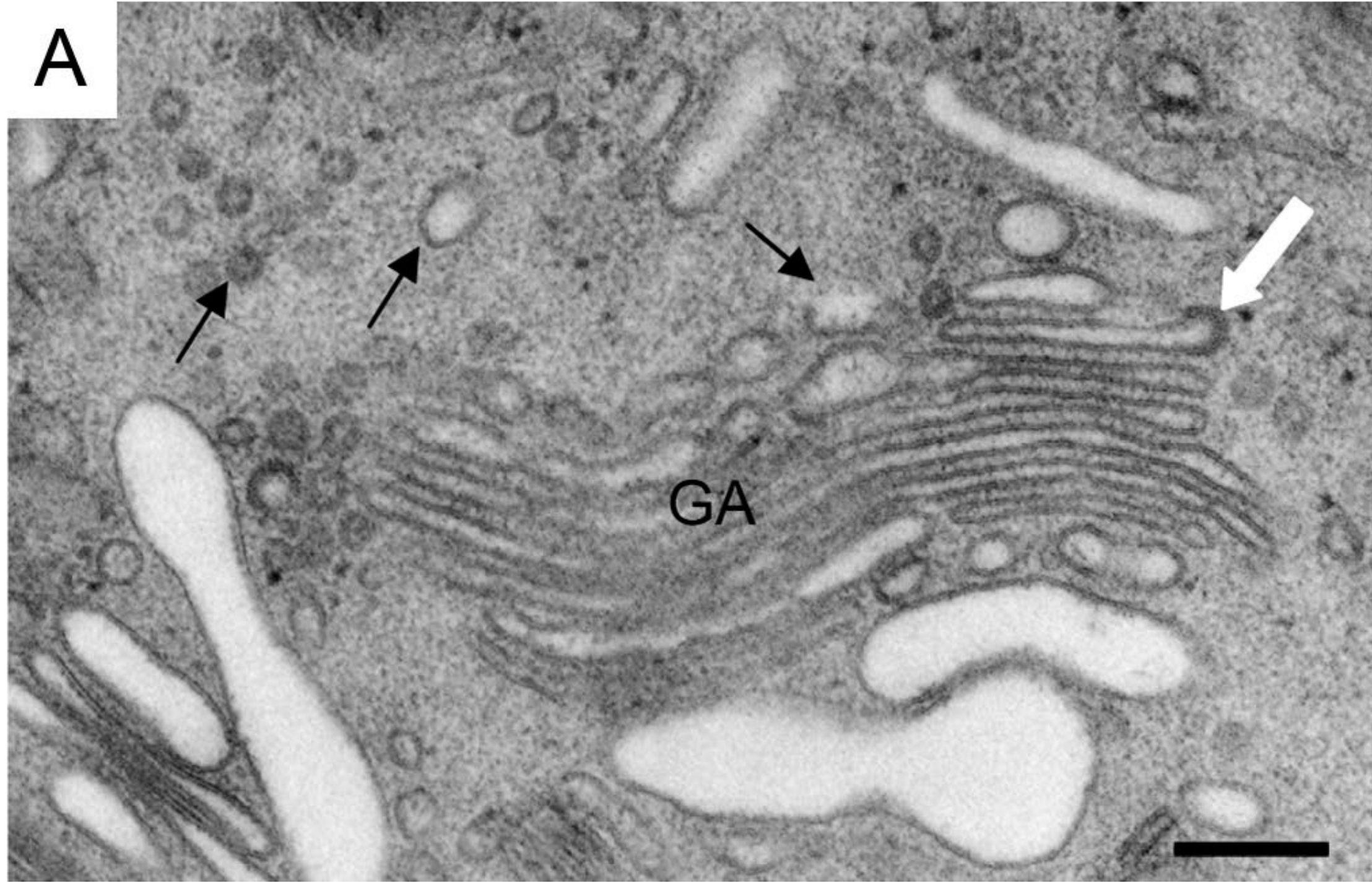
- **Anterógrado** (vesículas COPII)
- **Retrógrado** (vesículas COPI)

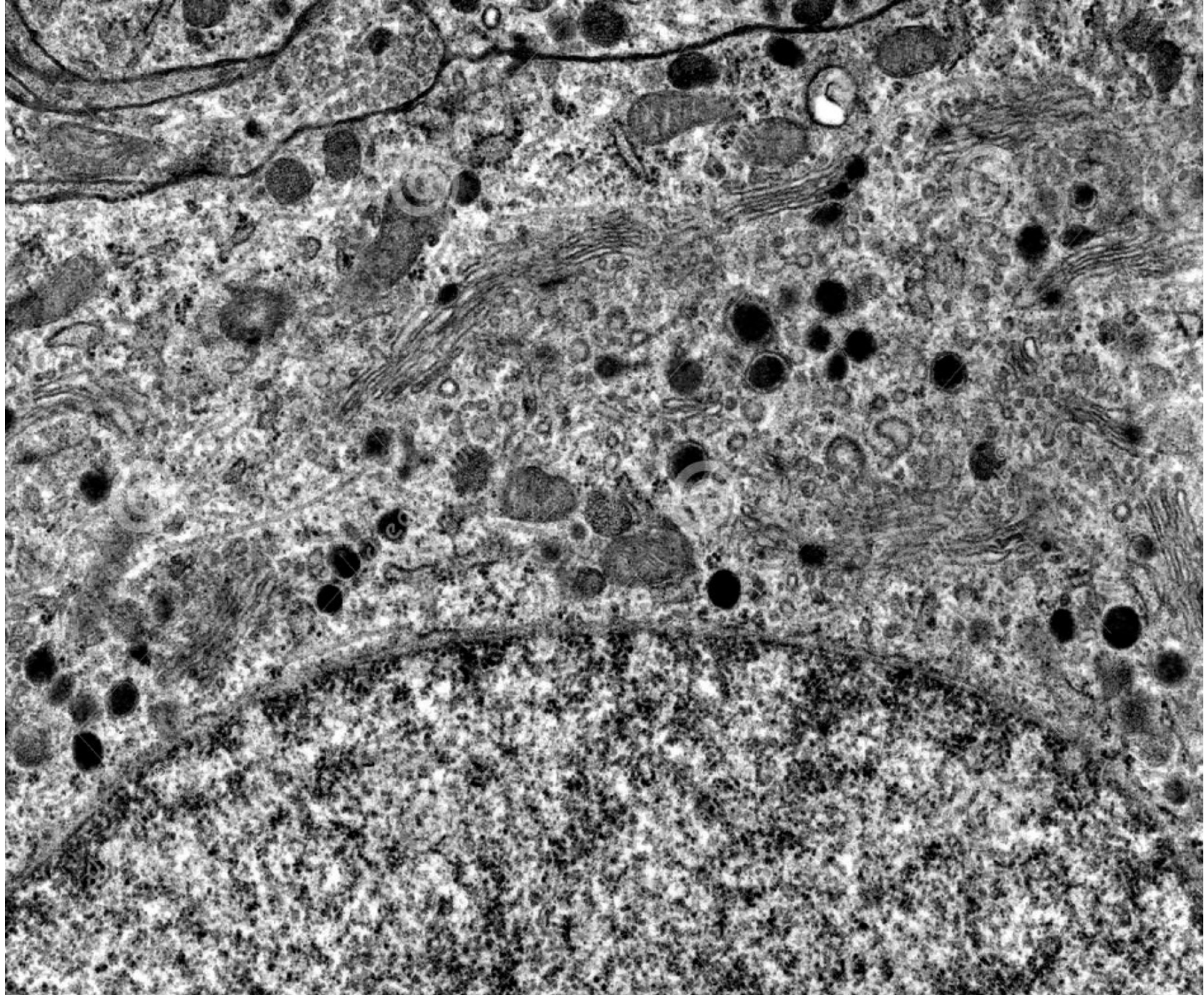


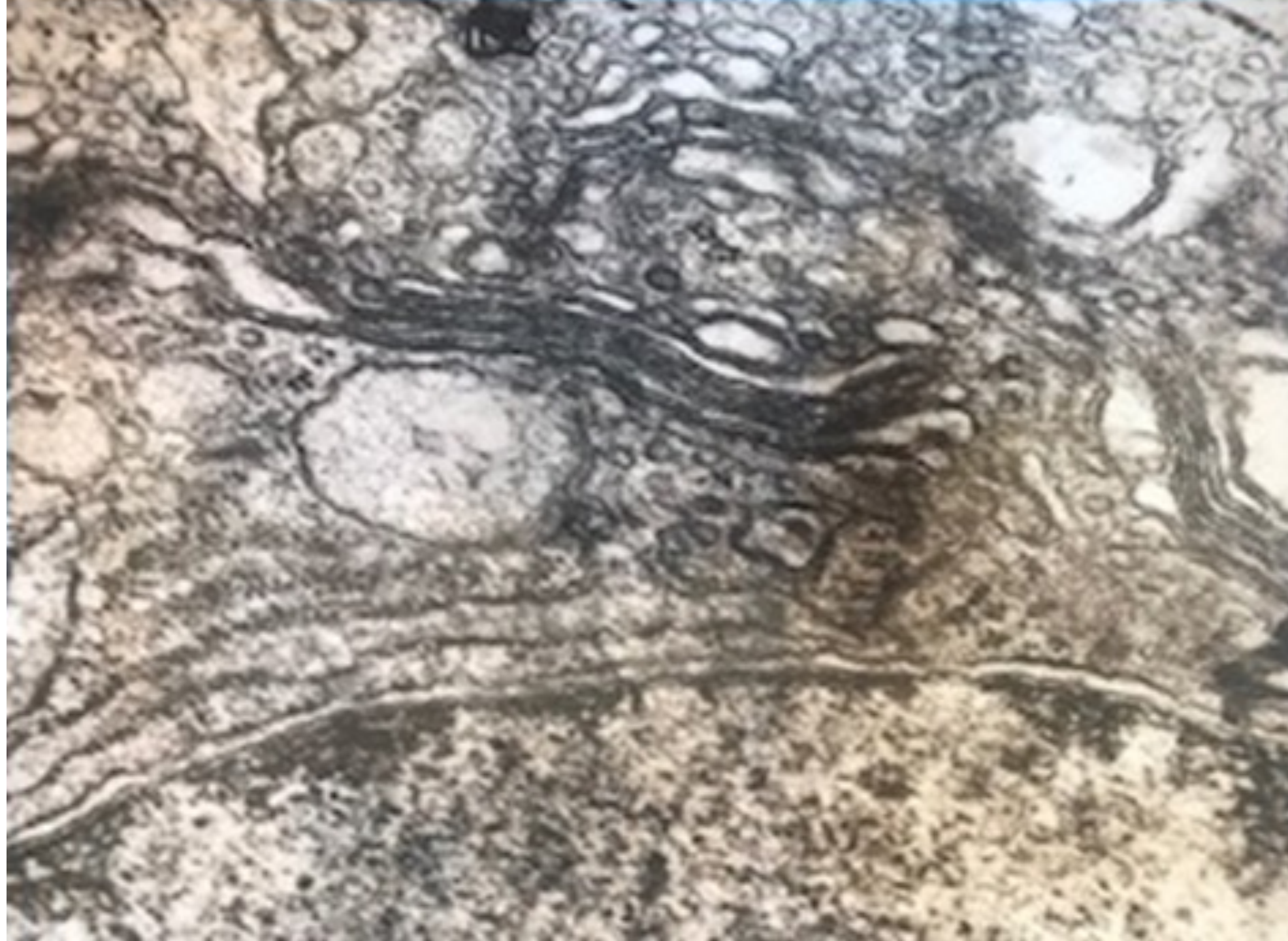
Proteínas **KDEL**

Proceso de **RECUPERACIÓN SELECTIVA**: secuencia Lys-Asp-Glu-Leu (KDEL)

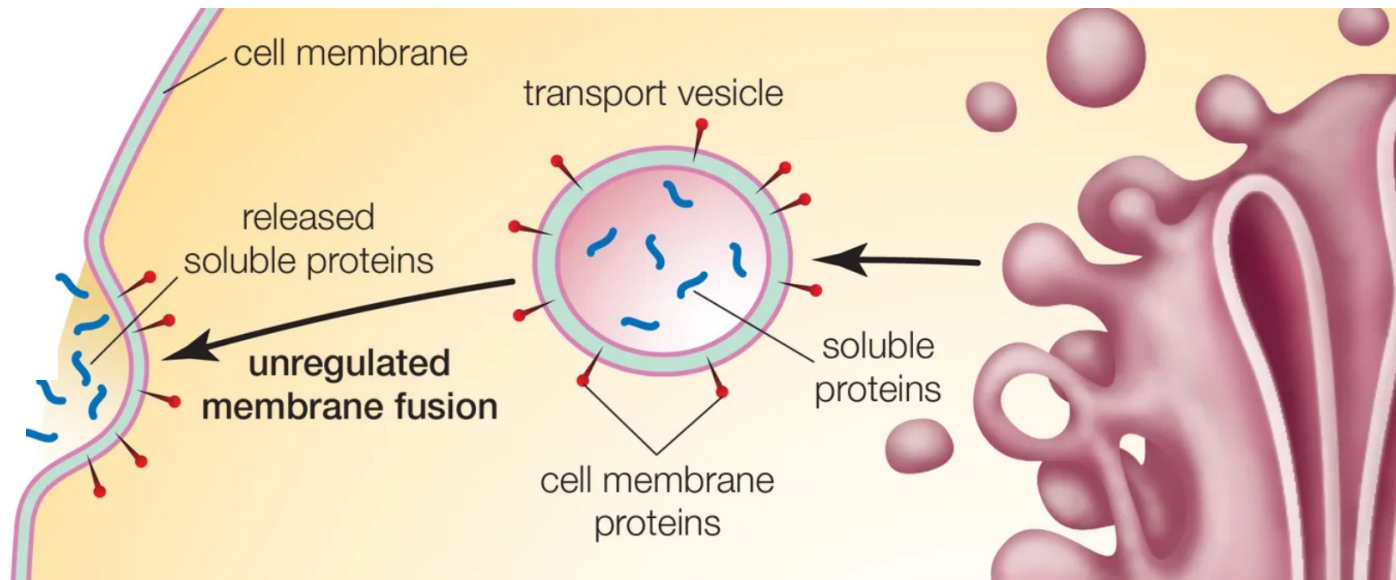
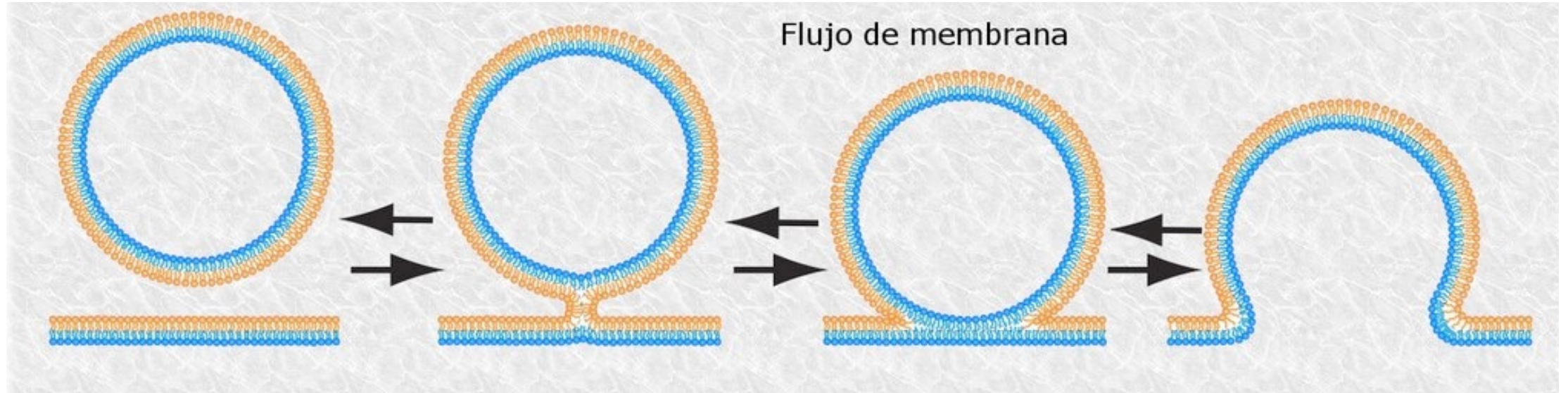
A



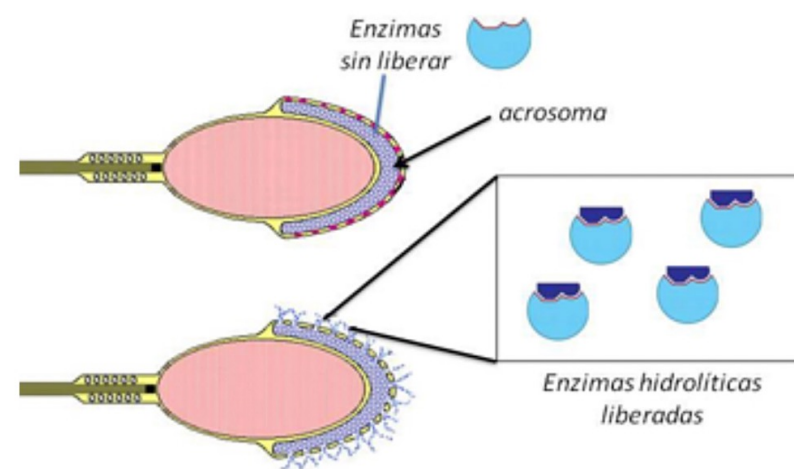
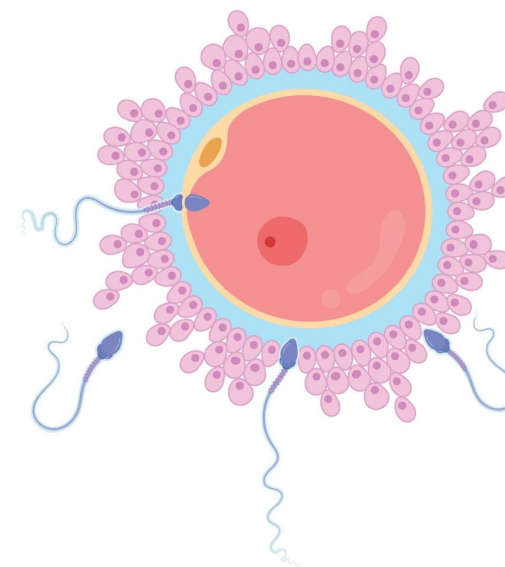
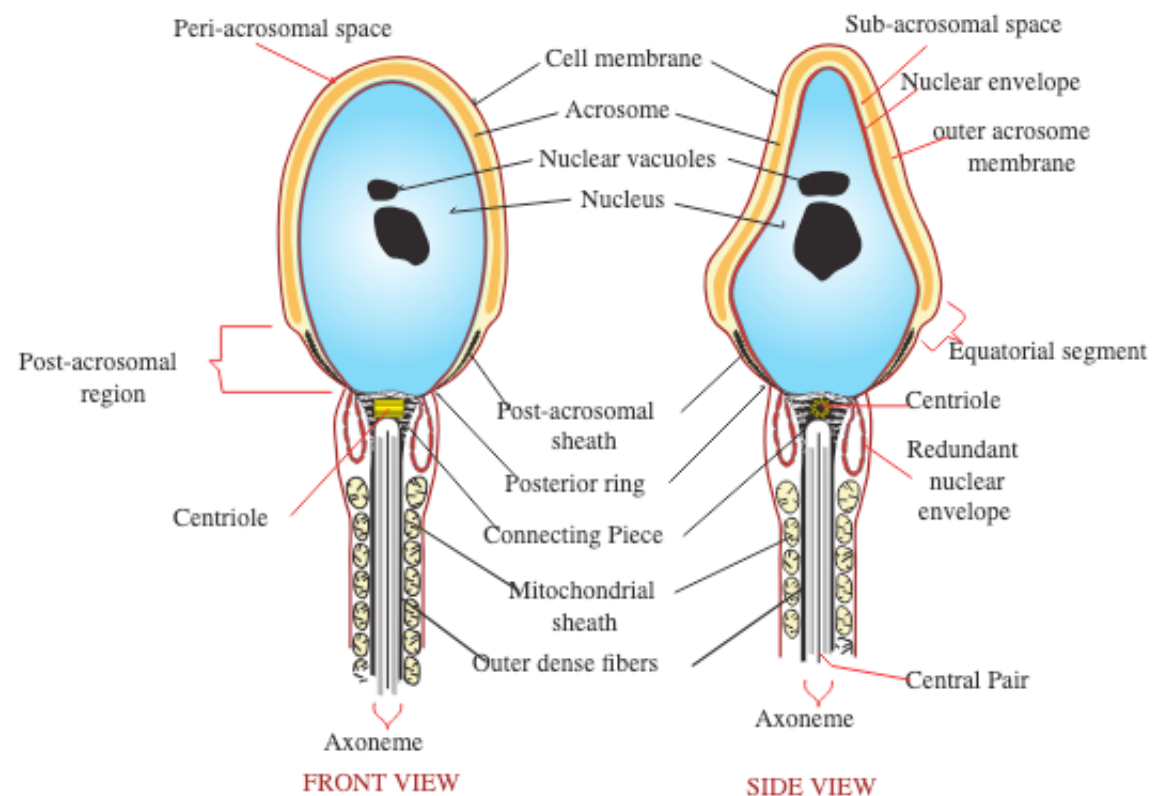
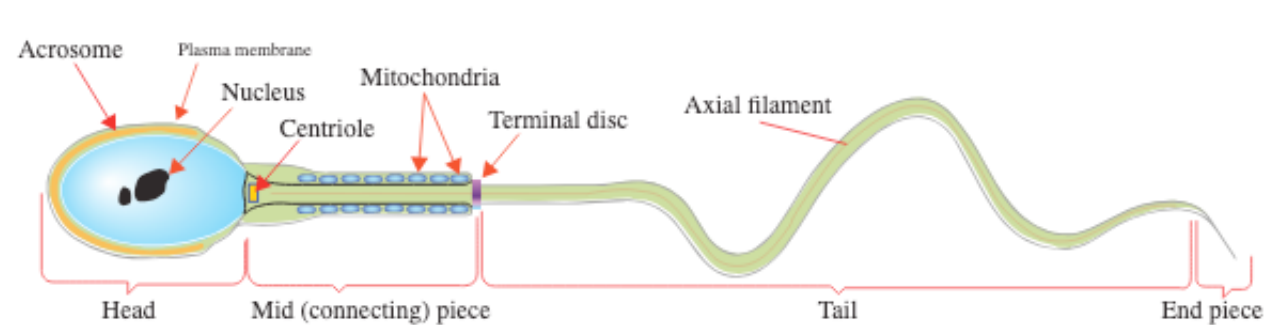




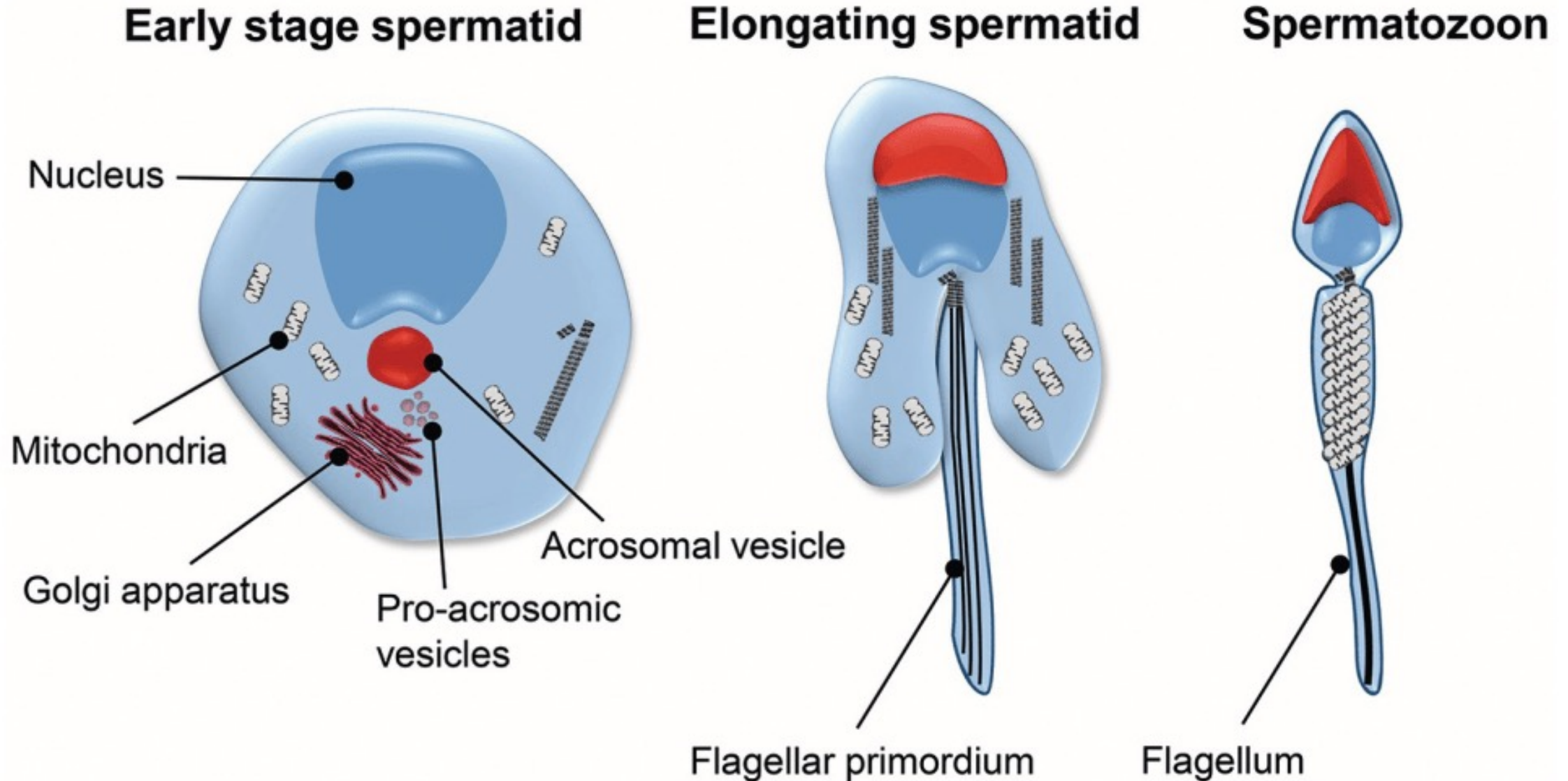
Funciones del aparato de Golgi: reciclado de membranas



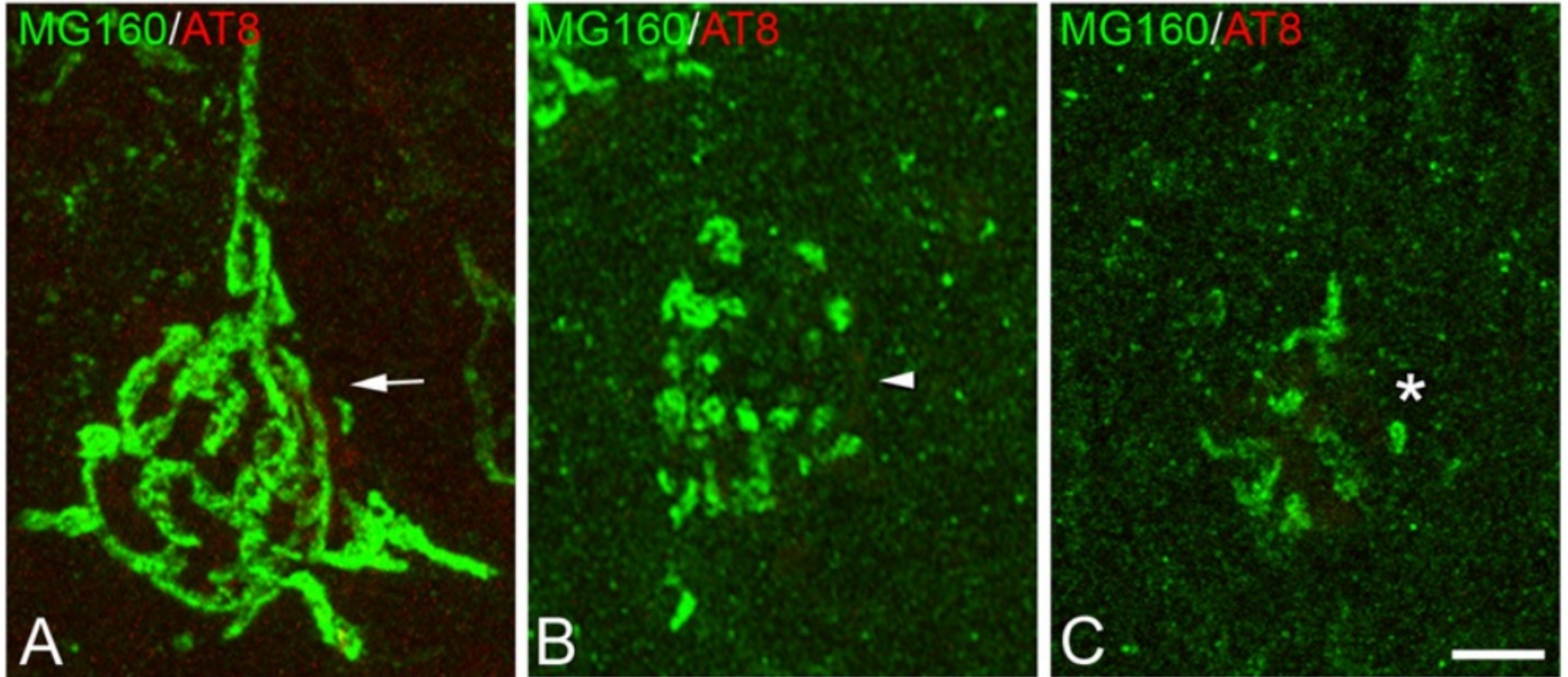
Funciones del aparato de Golgi: participa en la formación del acrosoma



Funciones del aparato de Golgi: participa en la formación del acrosoma



Las alteraciones morfométricas del aparato de Golgi en la enfermedad de Alzheimer están relacionadas con la hiperfosforilación de tau





Universidad de Valladolid

Aparato de Golgi

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

Lisosomas y peroxisomas

Prof. Ricardo Usategui Martín

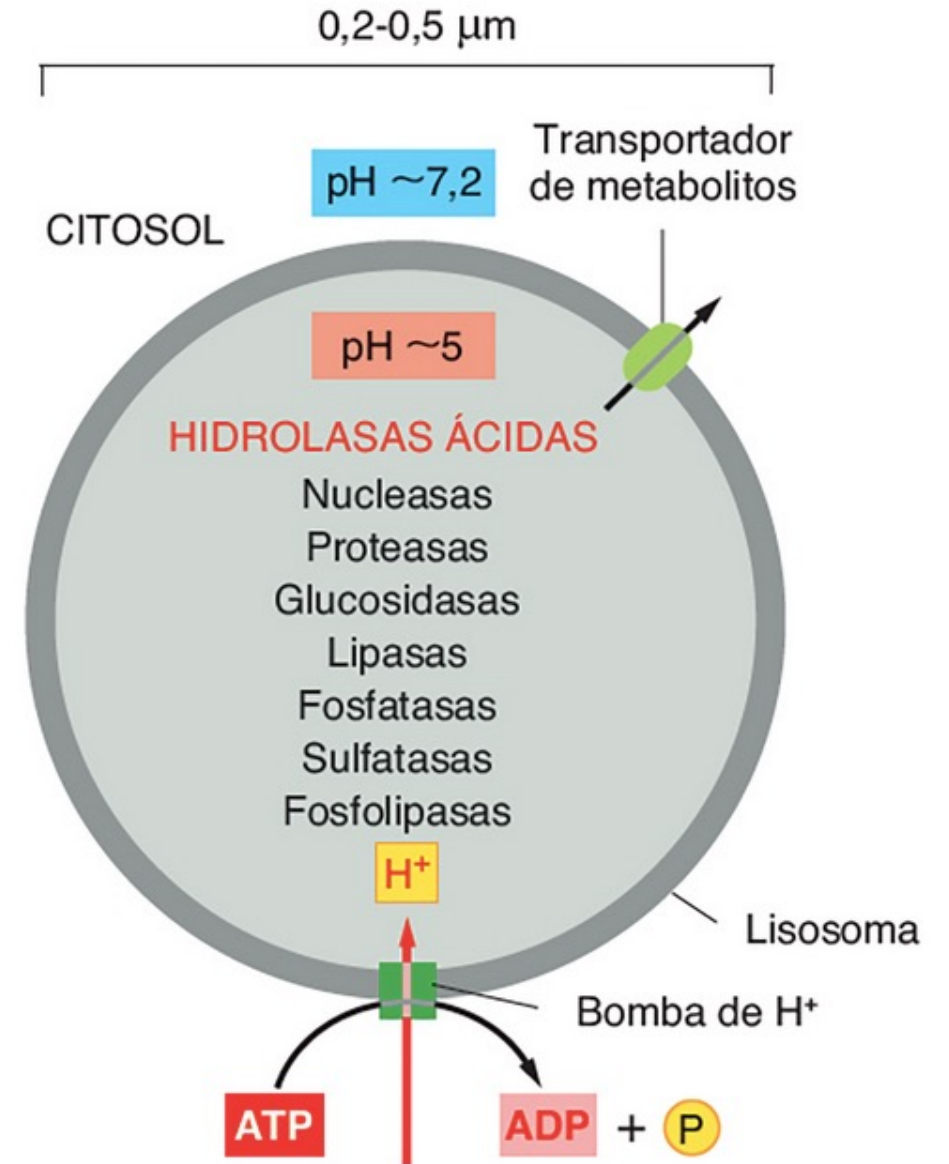
Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es

Los lisosomas son los principales sitios de digestión intracelular

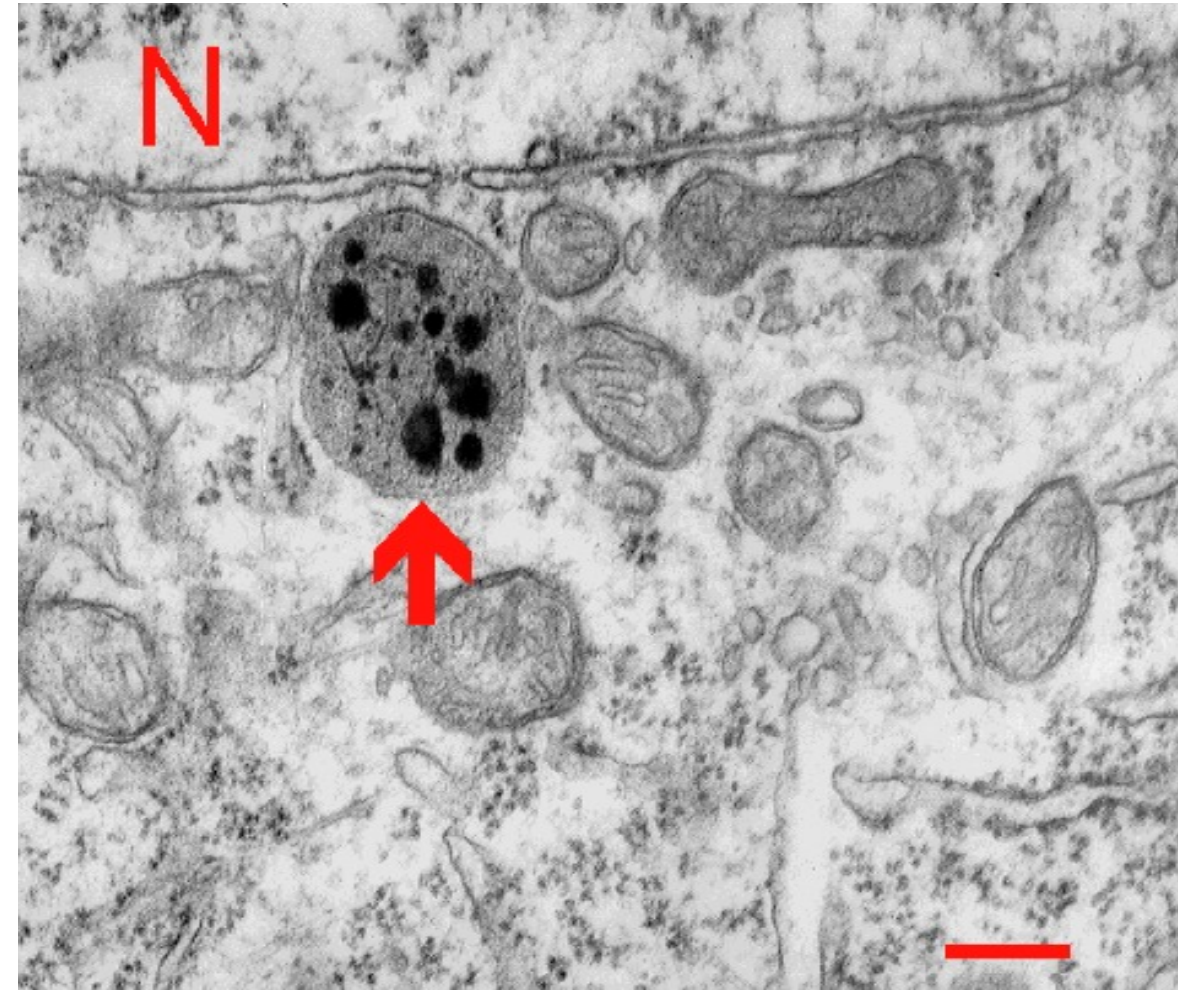
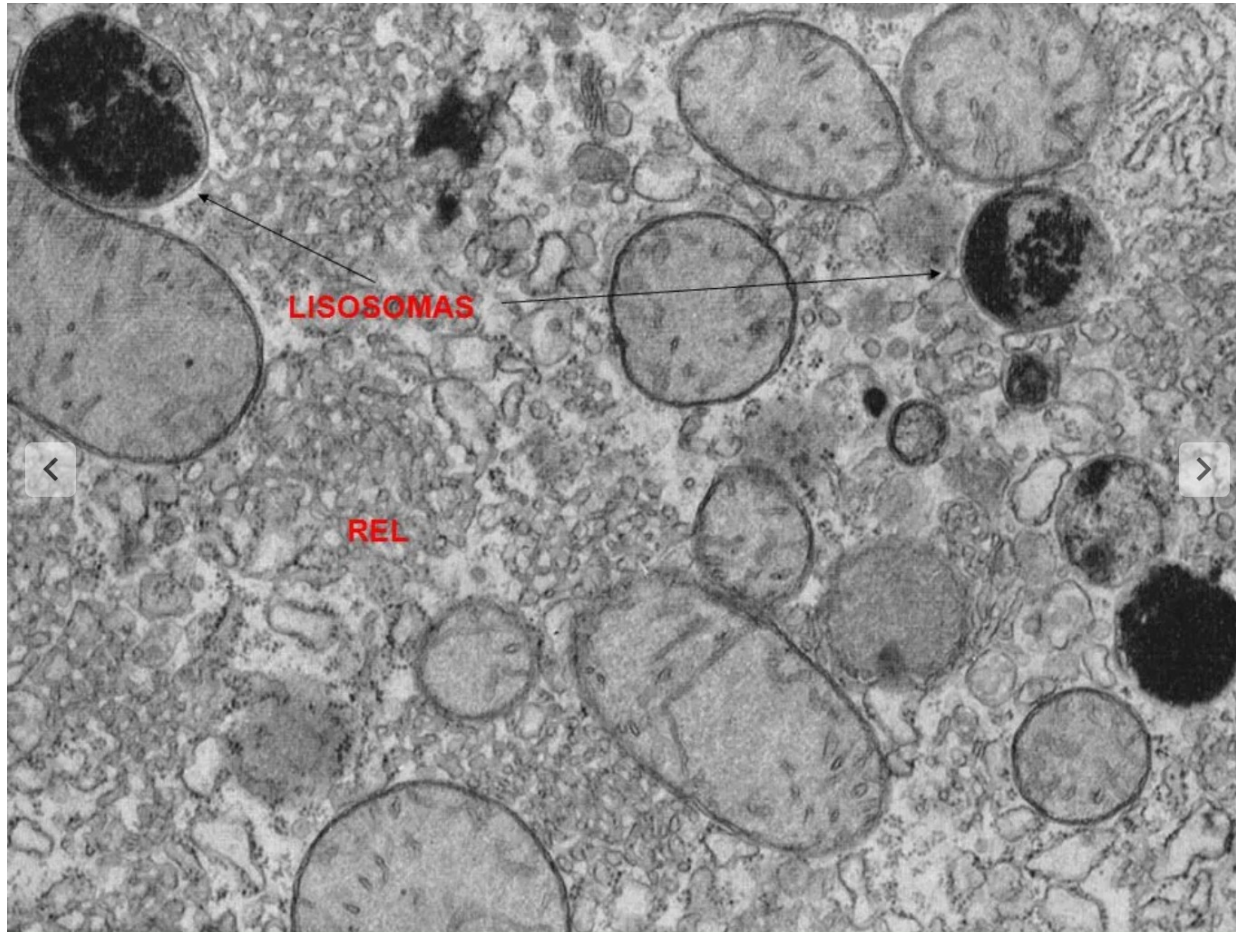
Un lisosoma contiene gran variedad de enzimas hidrolíticas

- Presentes en la mayoría de células nucleadas
- Muy abundantes en células con actividad fagocítica
- Cara interna de la membrana muy glucosidada: protección
- Transportadores de membrana específicos para permitir la salida de productos de la degradación al citosol



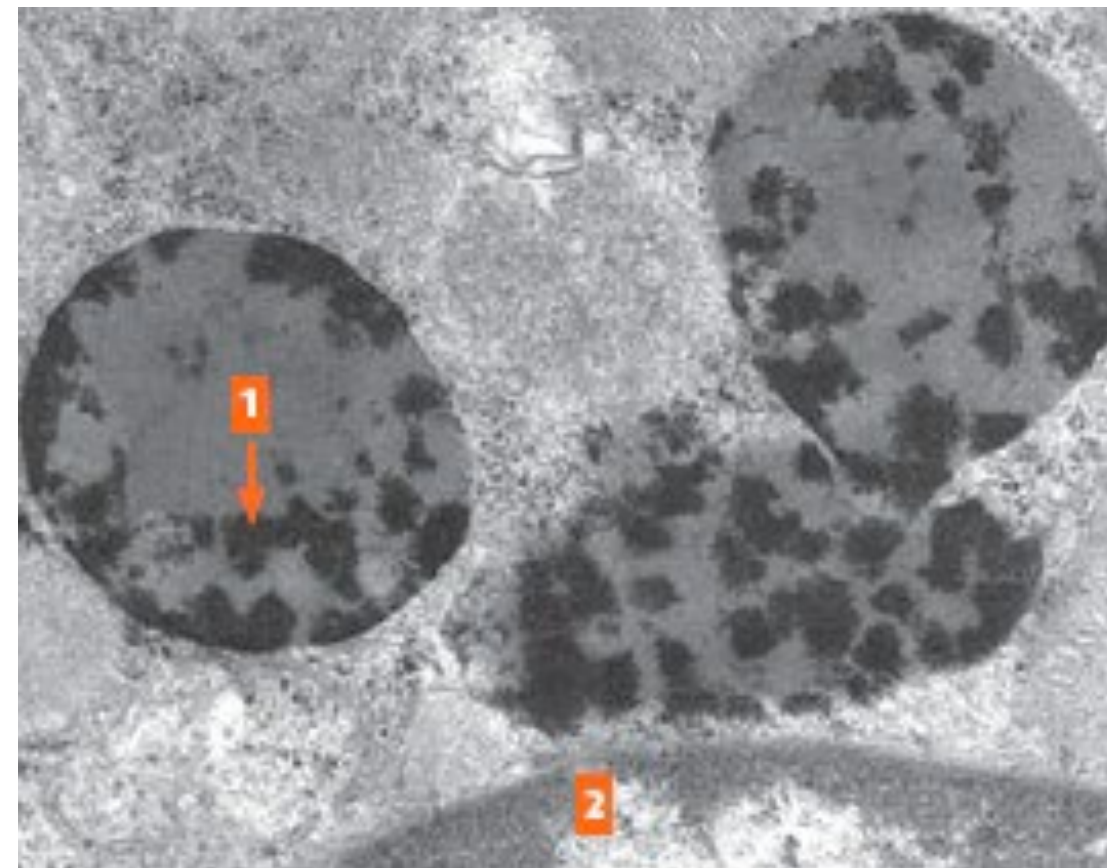
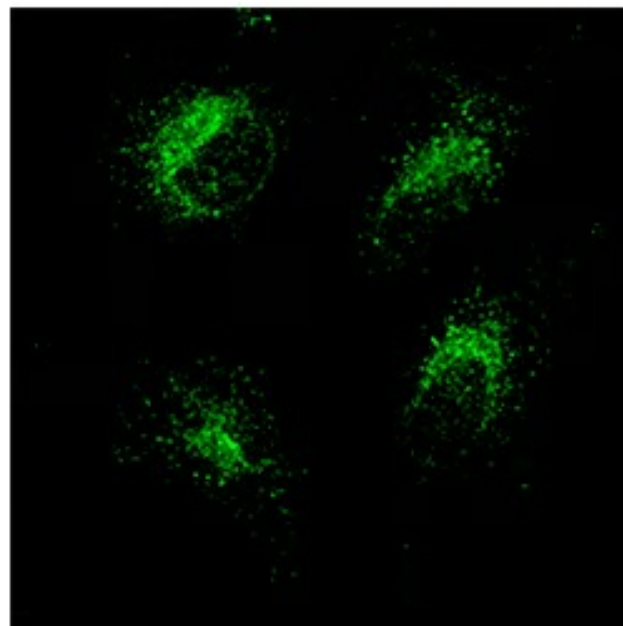
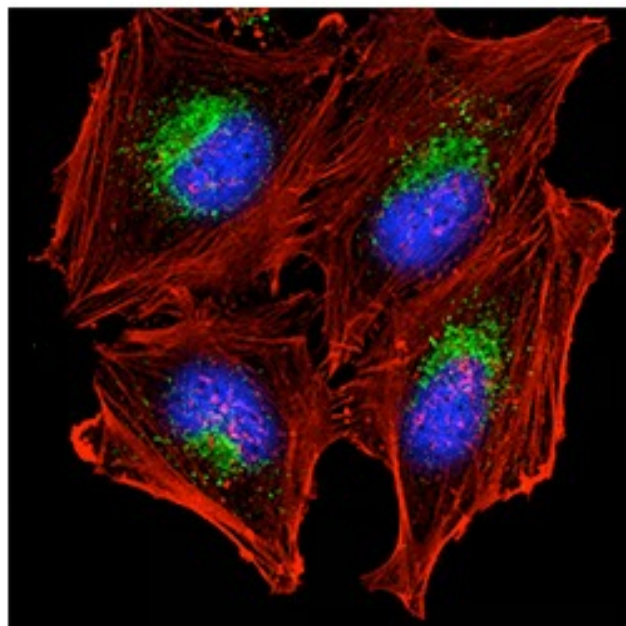
Los lisosomas son los principales sitios de digestión intracelular

Fueron descritos por **C. de Duve** (1945) (actividad fosfatasa ácida)

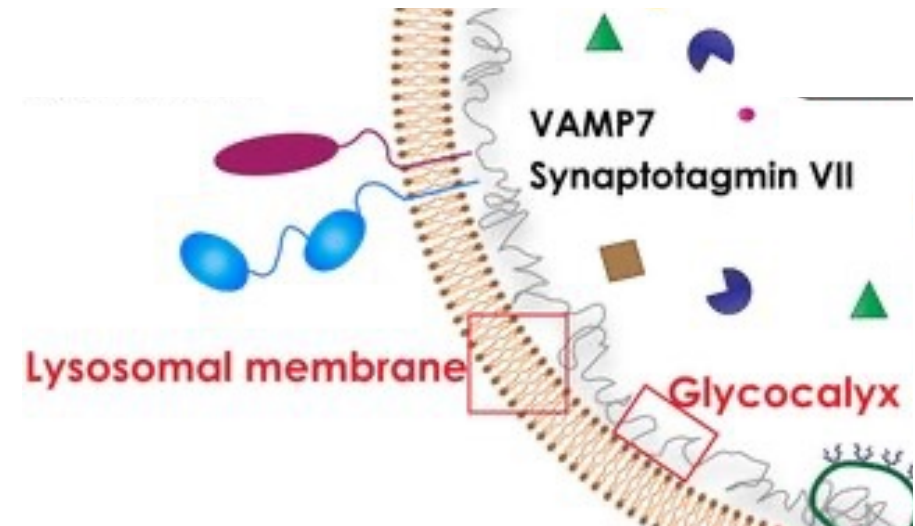
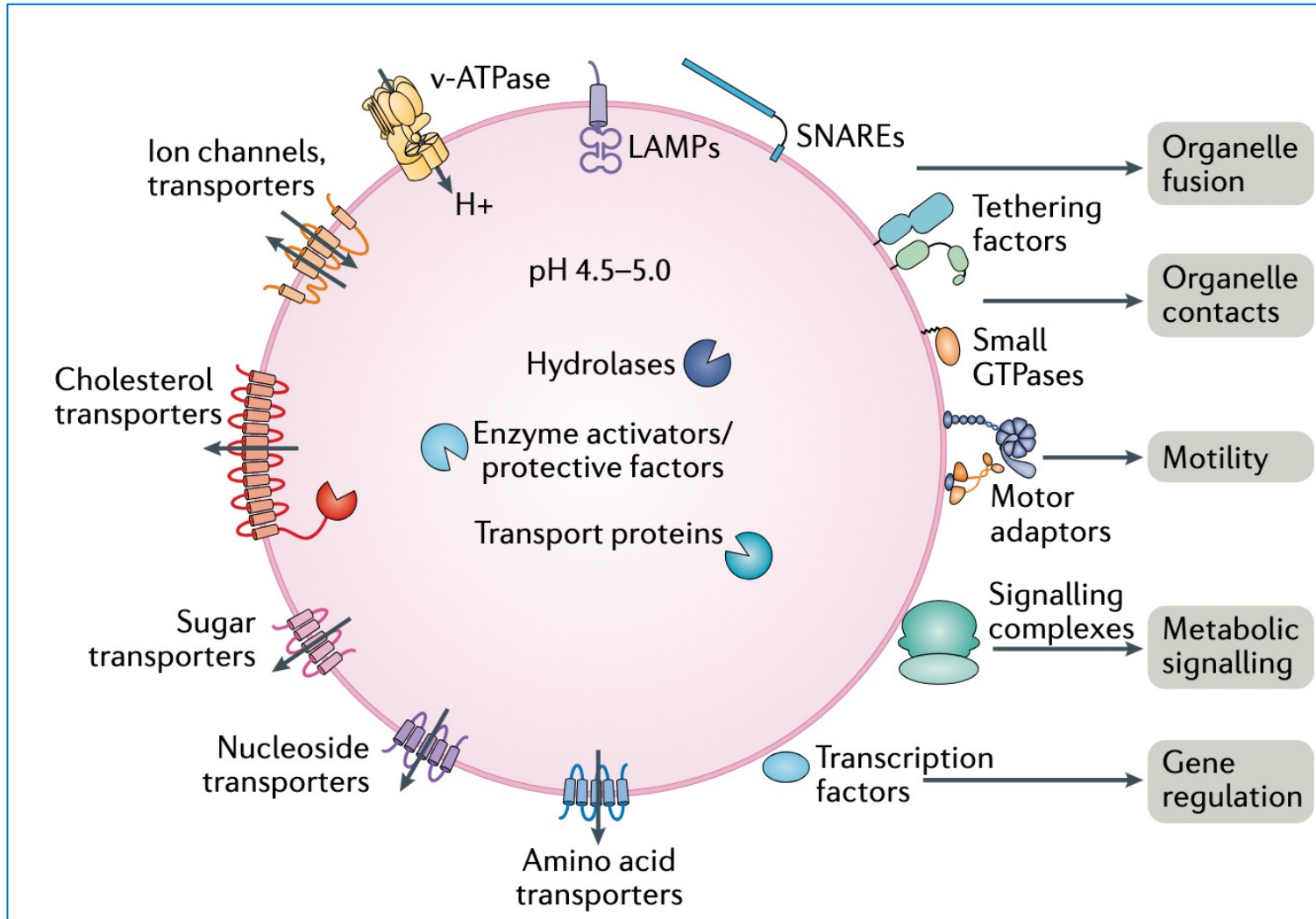


Visualización de los lisosomas

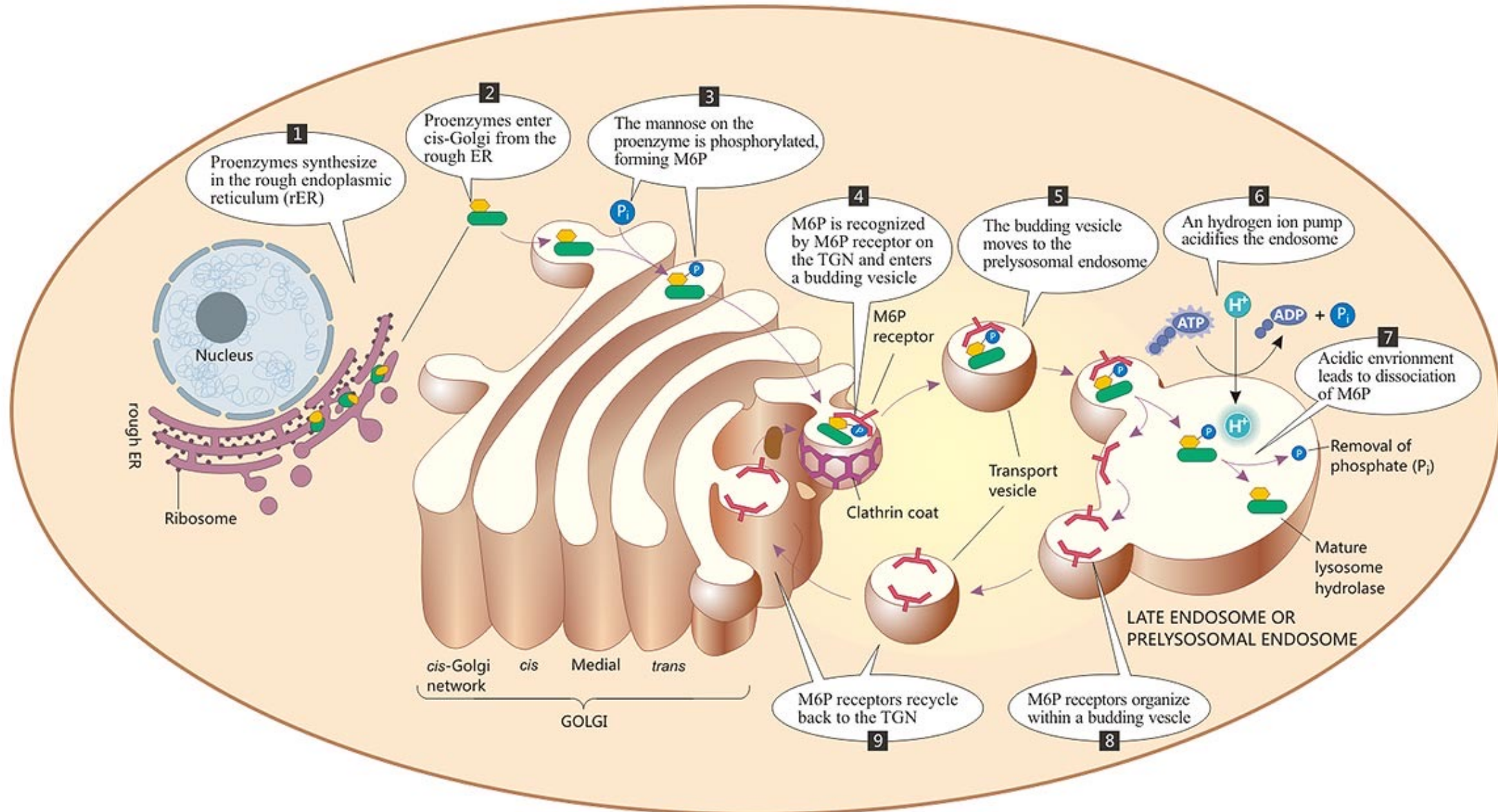
Fosfatasa ácida, LAMP1, LAMP2...



Los lisosomas son los principales sitios de digestión intracelular



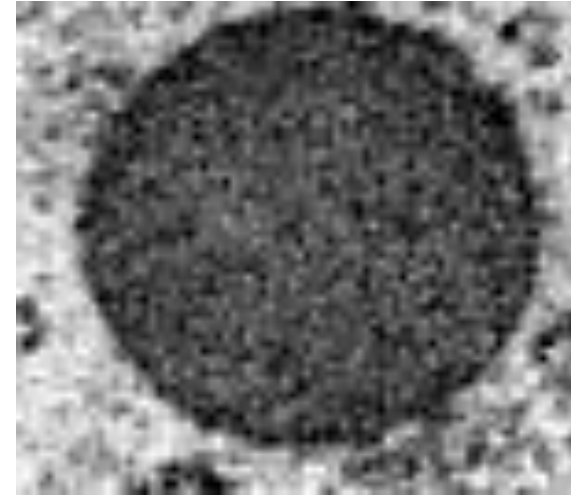
Biogénesis de los lisosomas y síntesis de enzimas lisosomales



Lisosomas primarios y secundarios

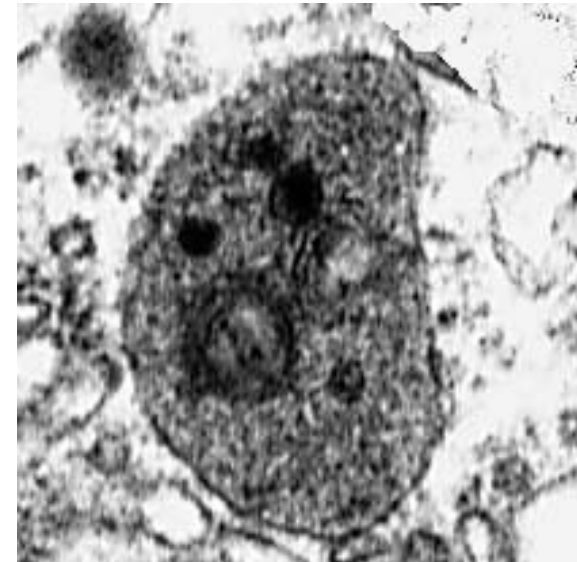
LISOSOMAS PRIMARIOS:

- No han participado en procesos digestivos
- Son los más pequeños
- Esféricos, con **contenido homogéneo**



LISOSOMAS SECUNDARIOS:

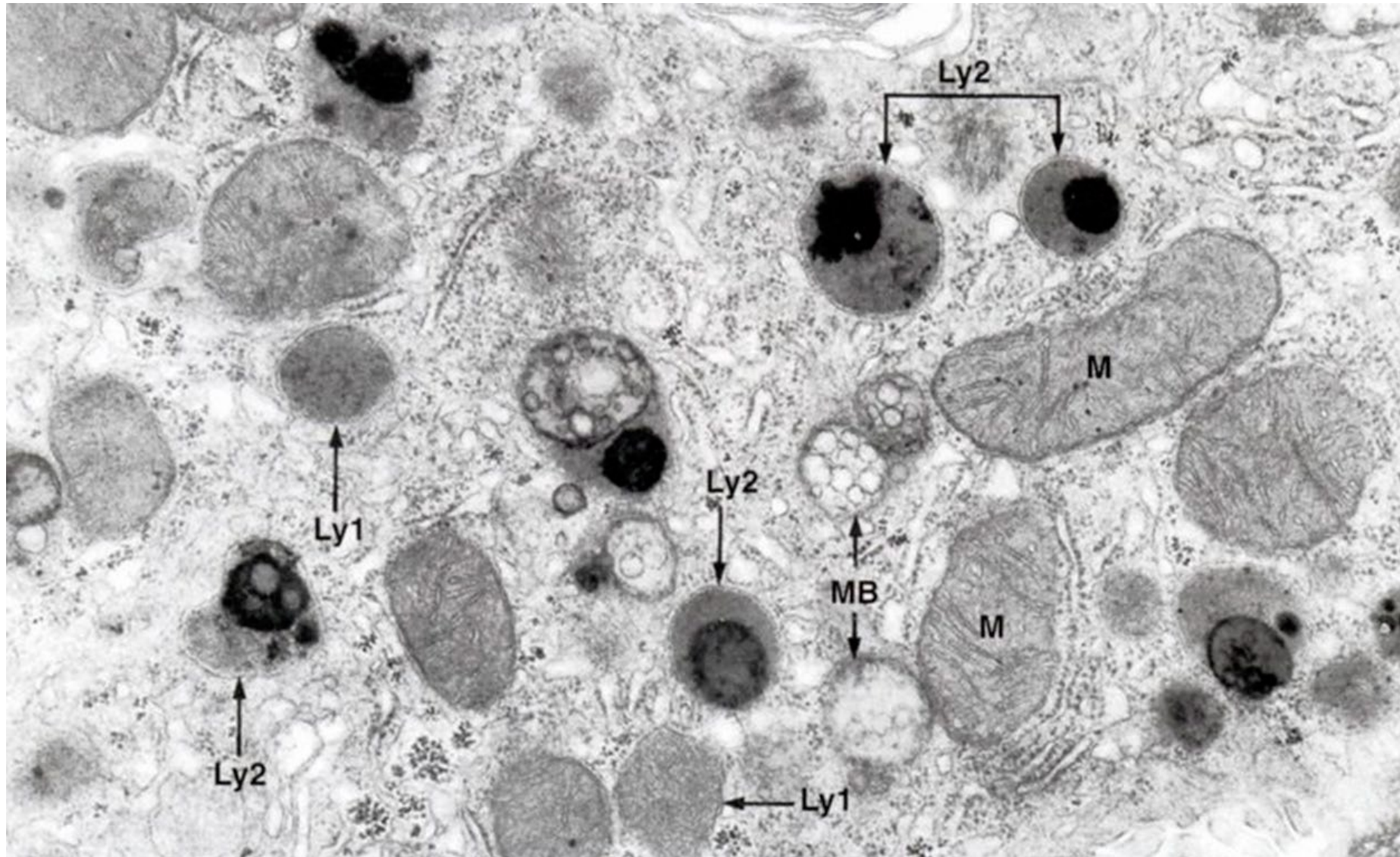
- Resultado de la fusión lisosoma- vesícula
- Han degradado o están degradando
- Más grandes
- **Irregulares y de contenido heterogéneo**



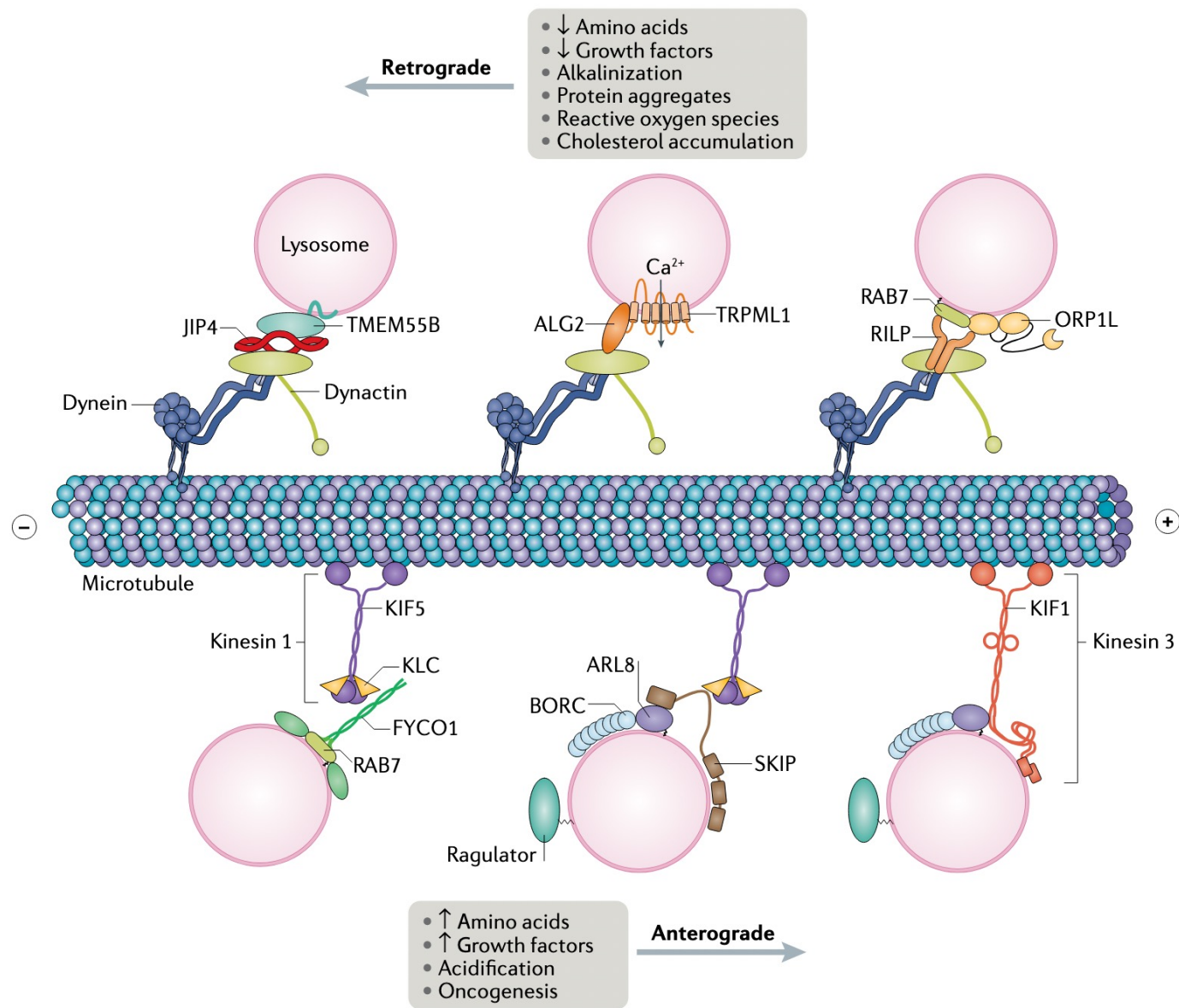
CUERPOS RESIDUALES:

- Contienen productos que no se pueden degradar

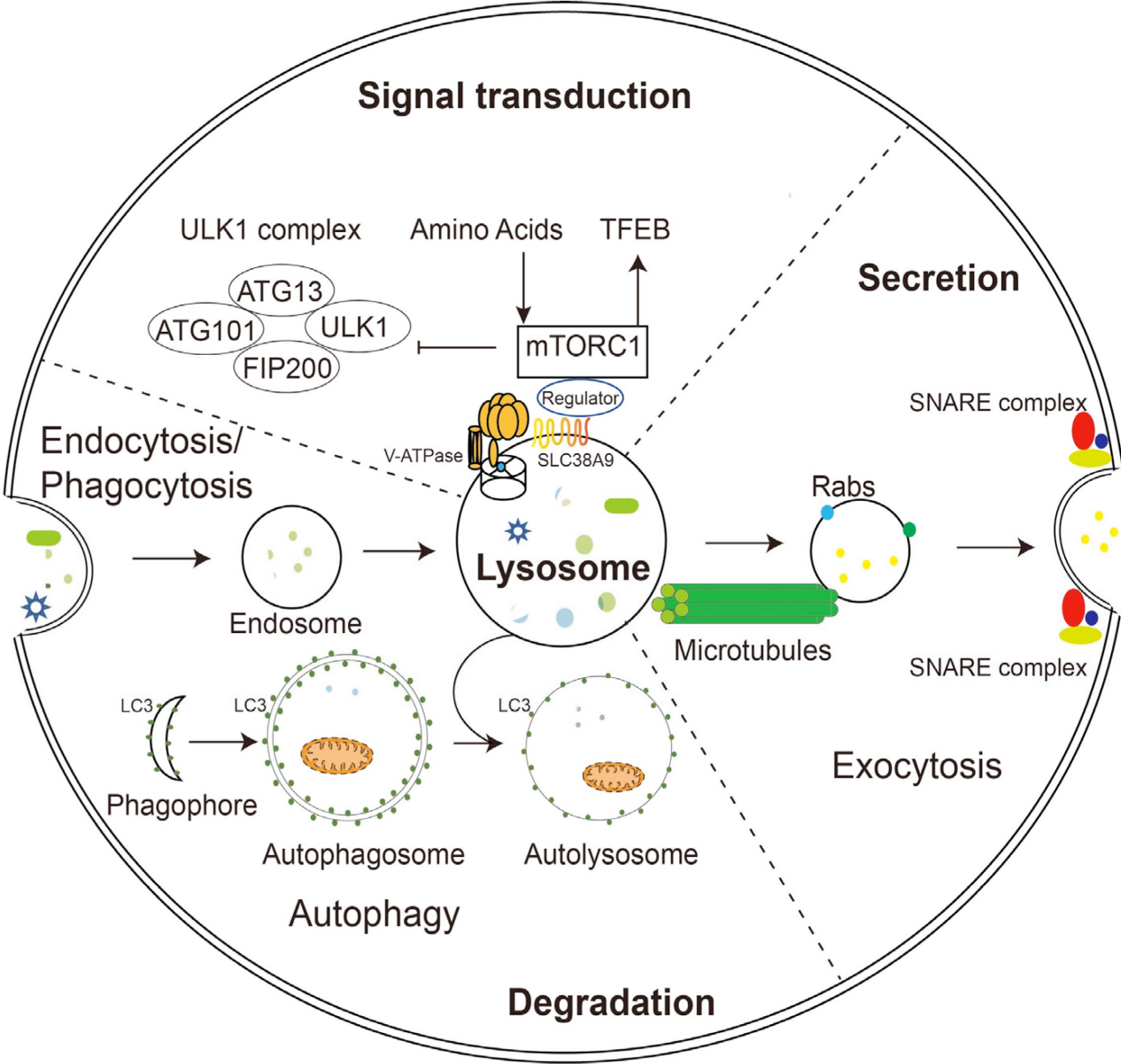
Lisosomas primarios y secundarios



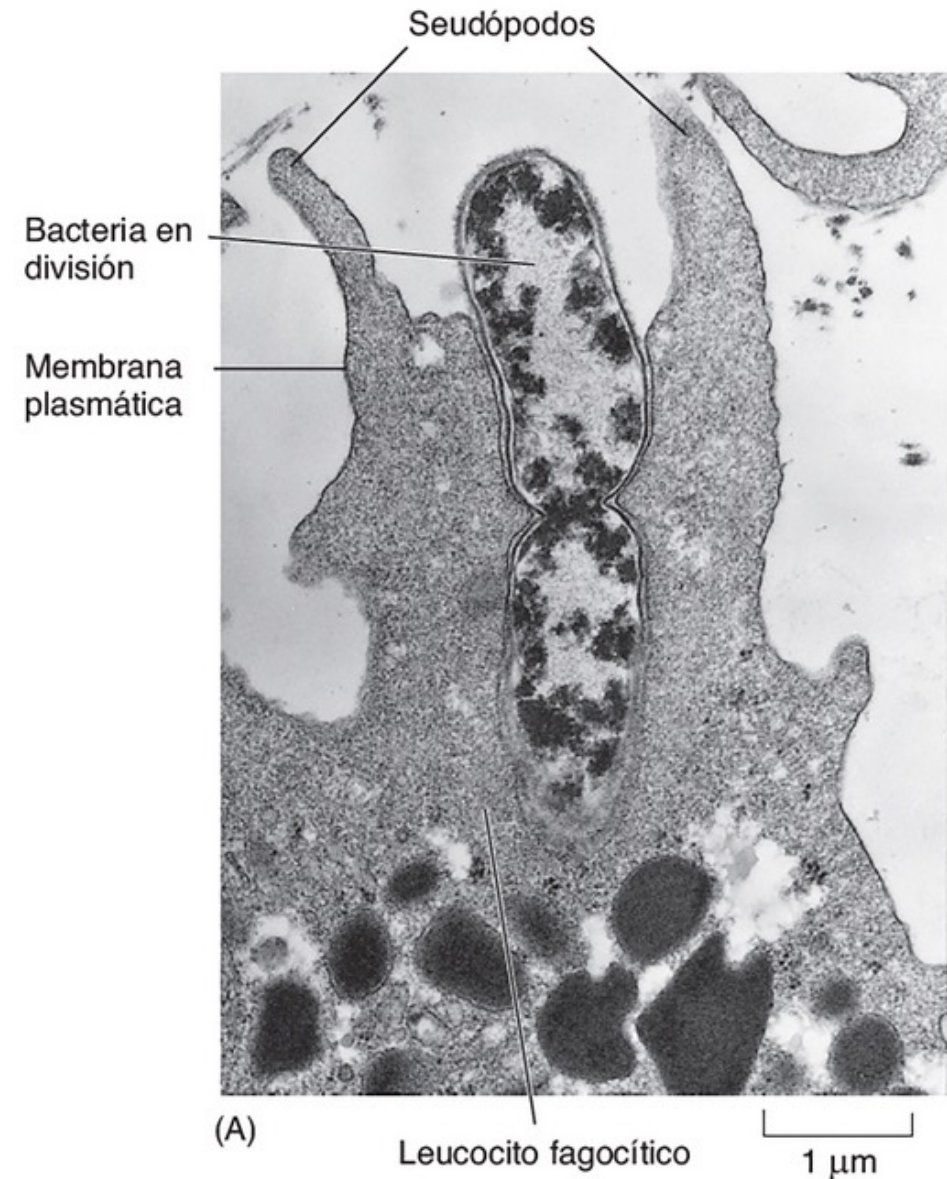
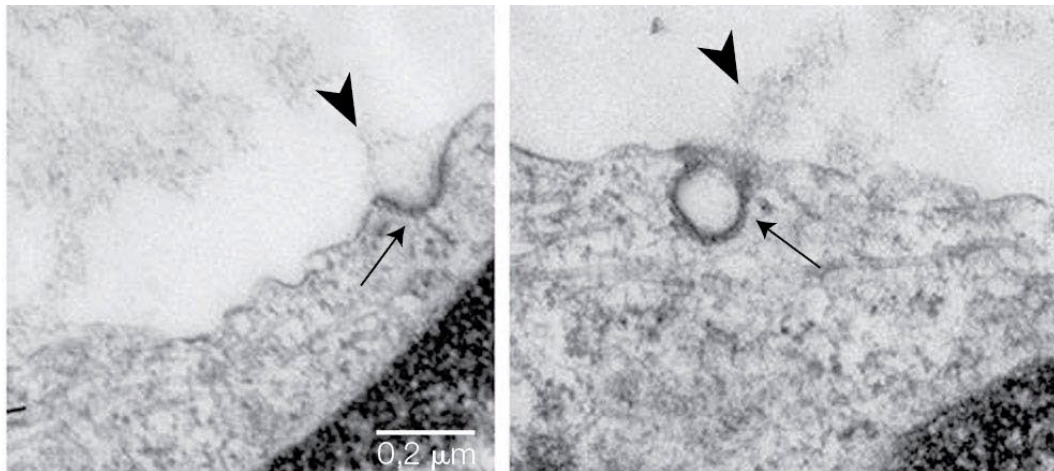
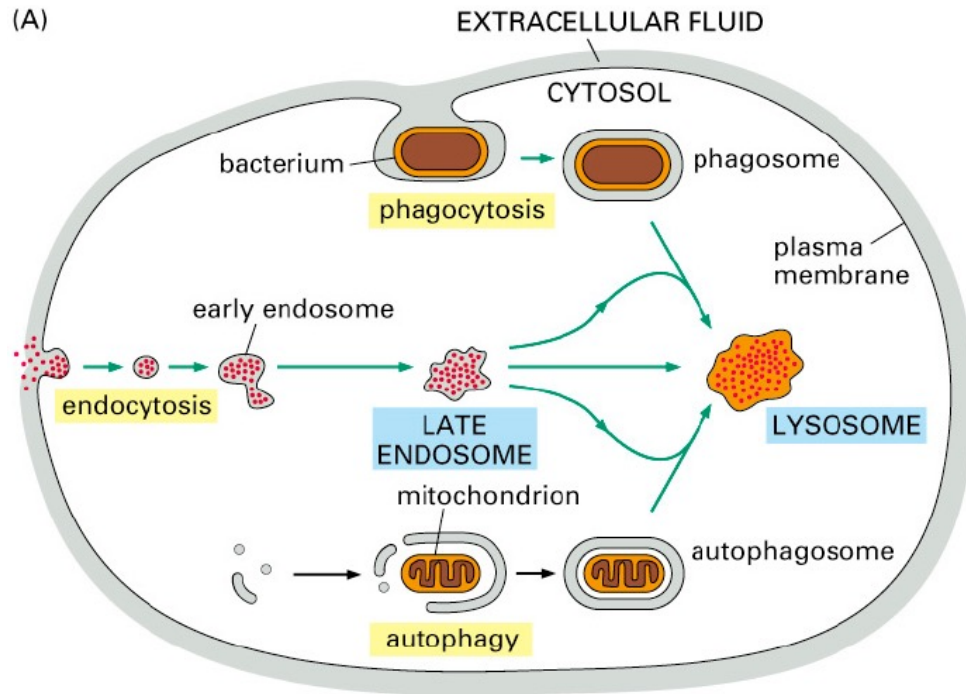
Movilidad de los lisosomas



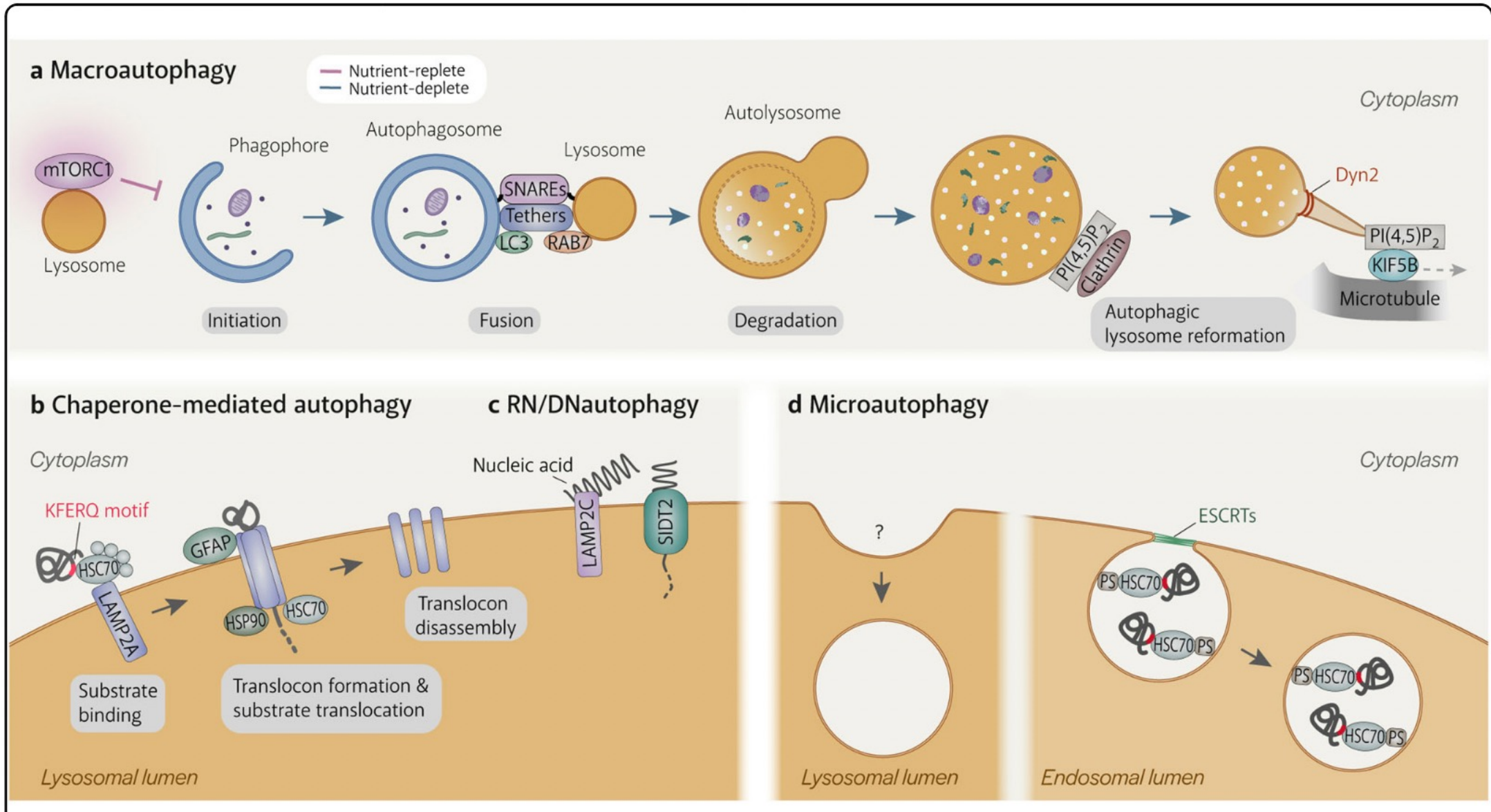
Funciones de los lisosomas



Funciones: degradación de productos de diferentes orígenes

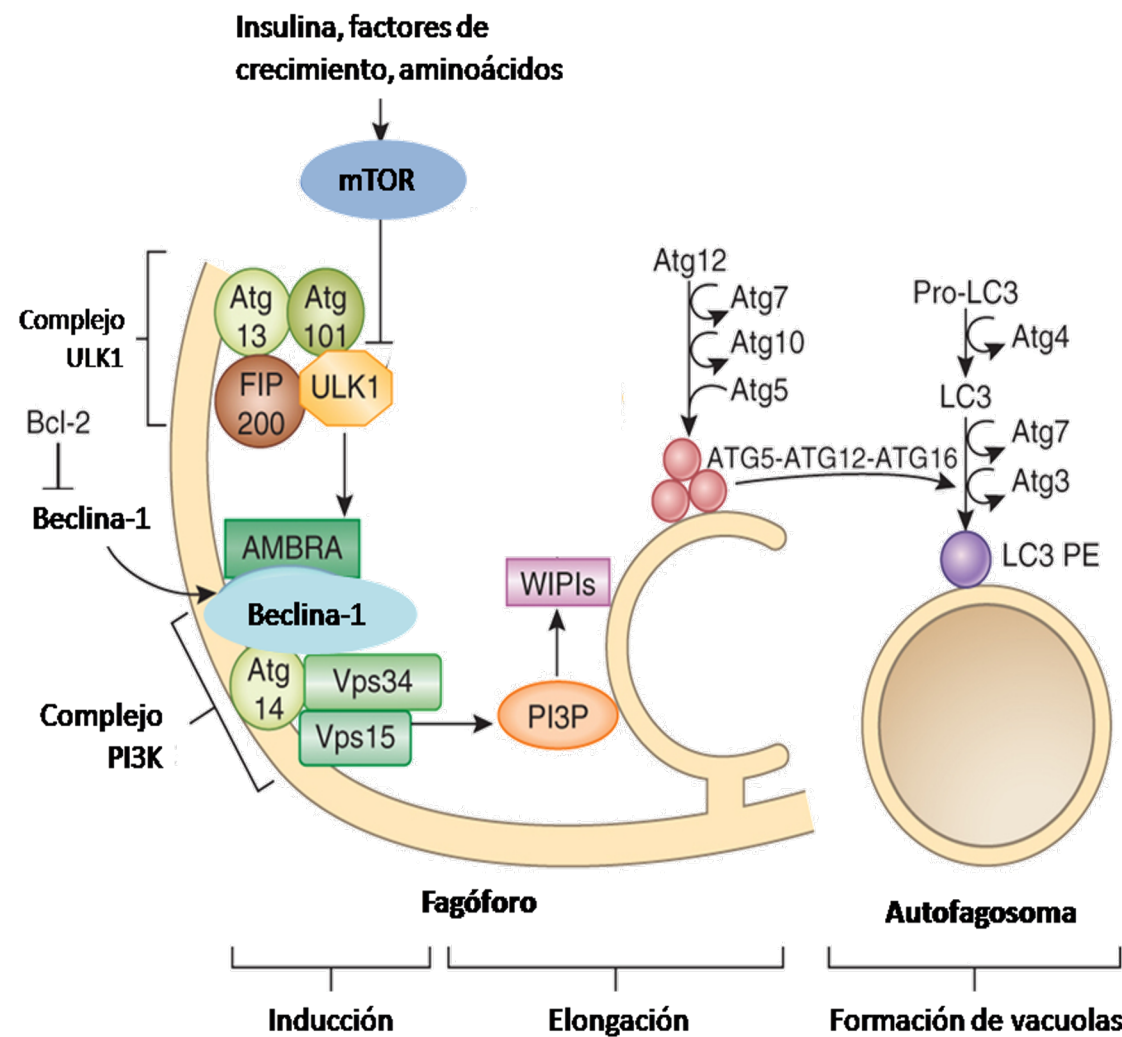


Funciones: autofagia

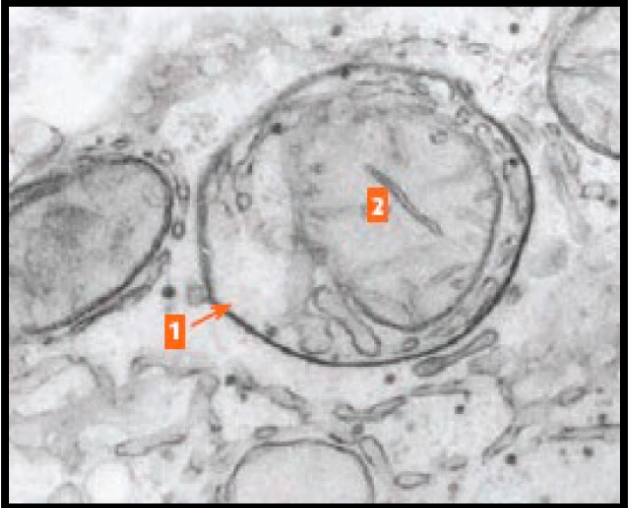


Funciones: autofagia

mTOR: **m**ammalian **t**arget **o**f **r**apamycin



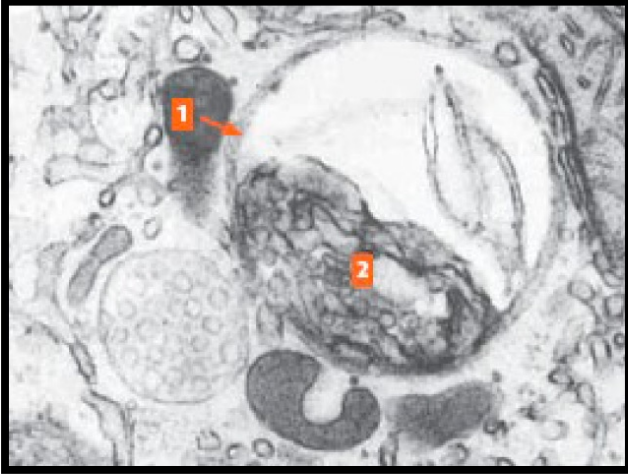
Membranas (1; **fagóforo**) empiezan a rodear citoplasma con una mitocondria



Autofagosoma con su membrana (1) y una porción del citoplasma con orgánulos (2). MET

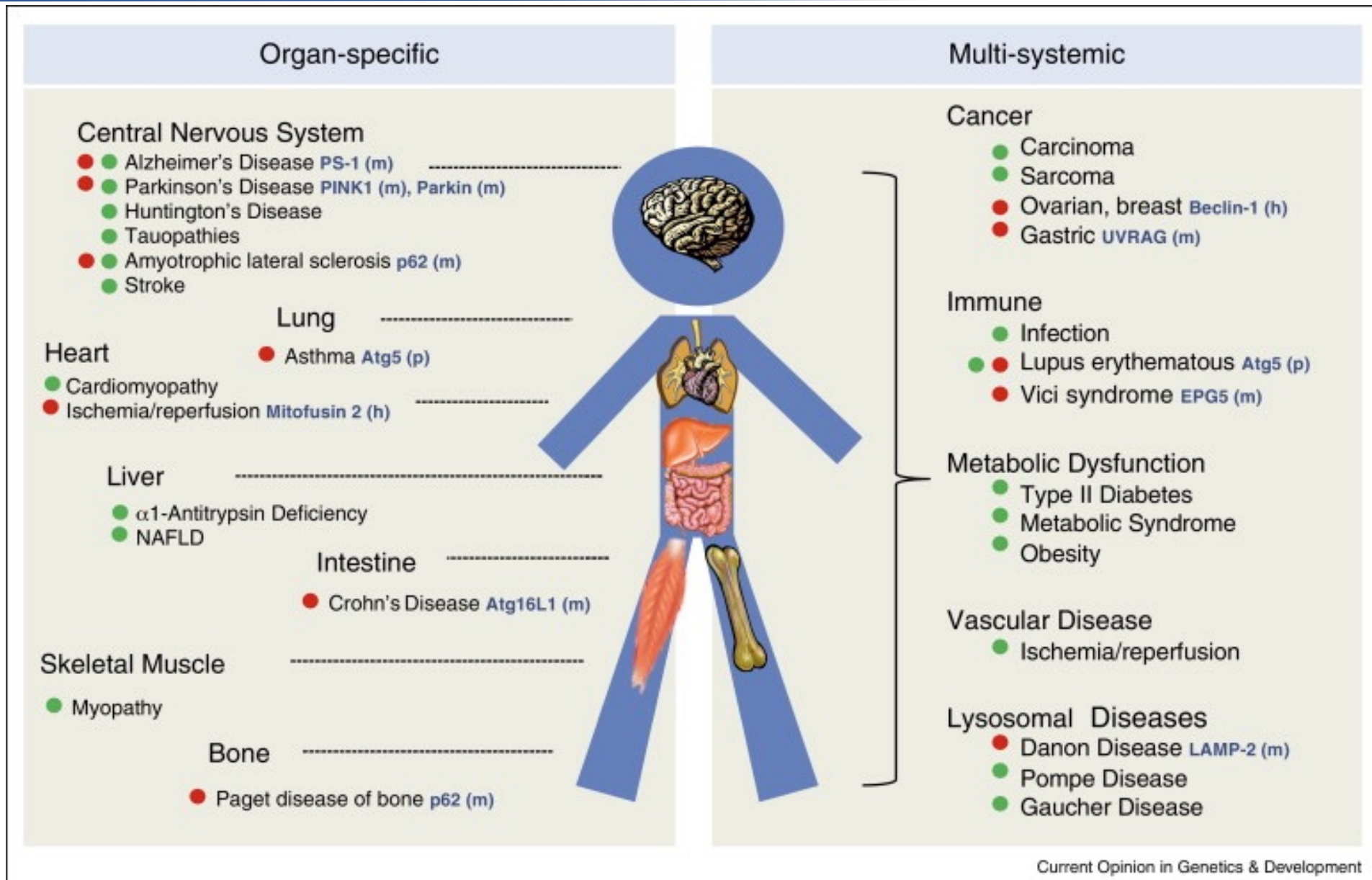


Autofagosoma. Membrana (1) y material en digestión (2). MET

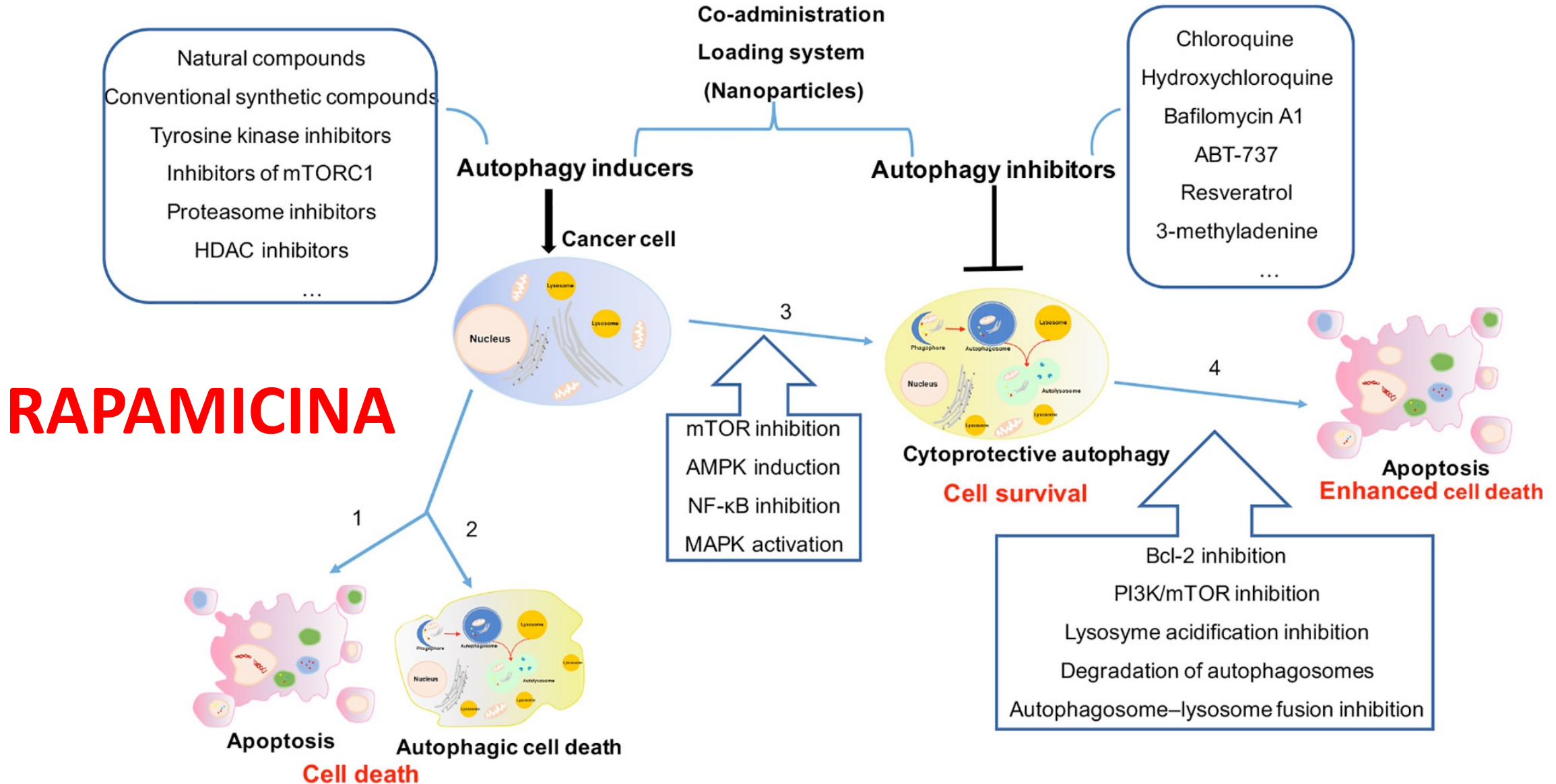


Autofagosoma. Membrana (1) y material en digestión (2). MET.

Funciones: autofagia

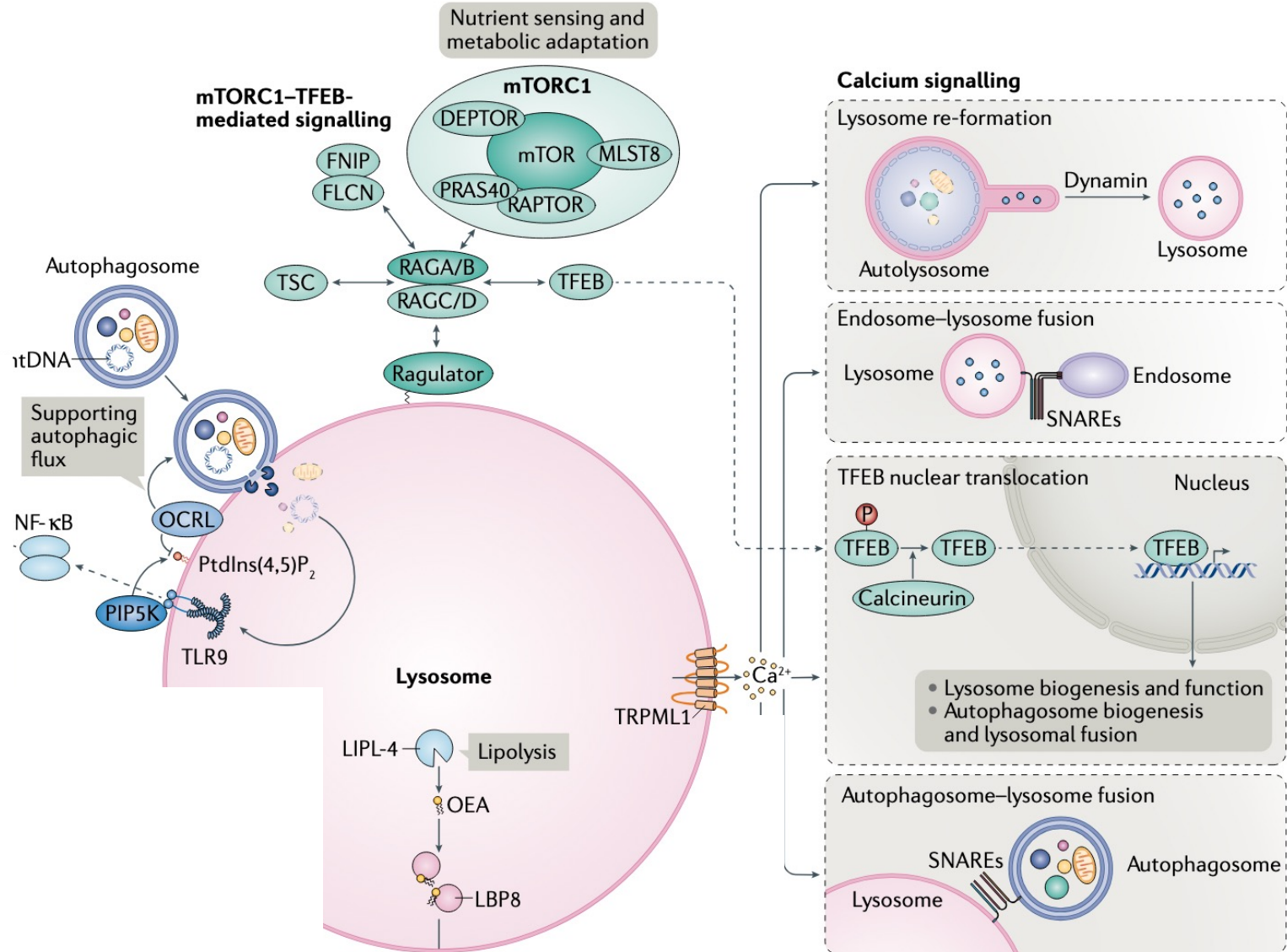


Funciones: autofagia

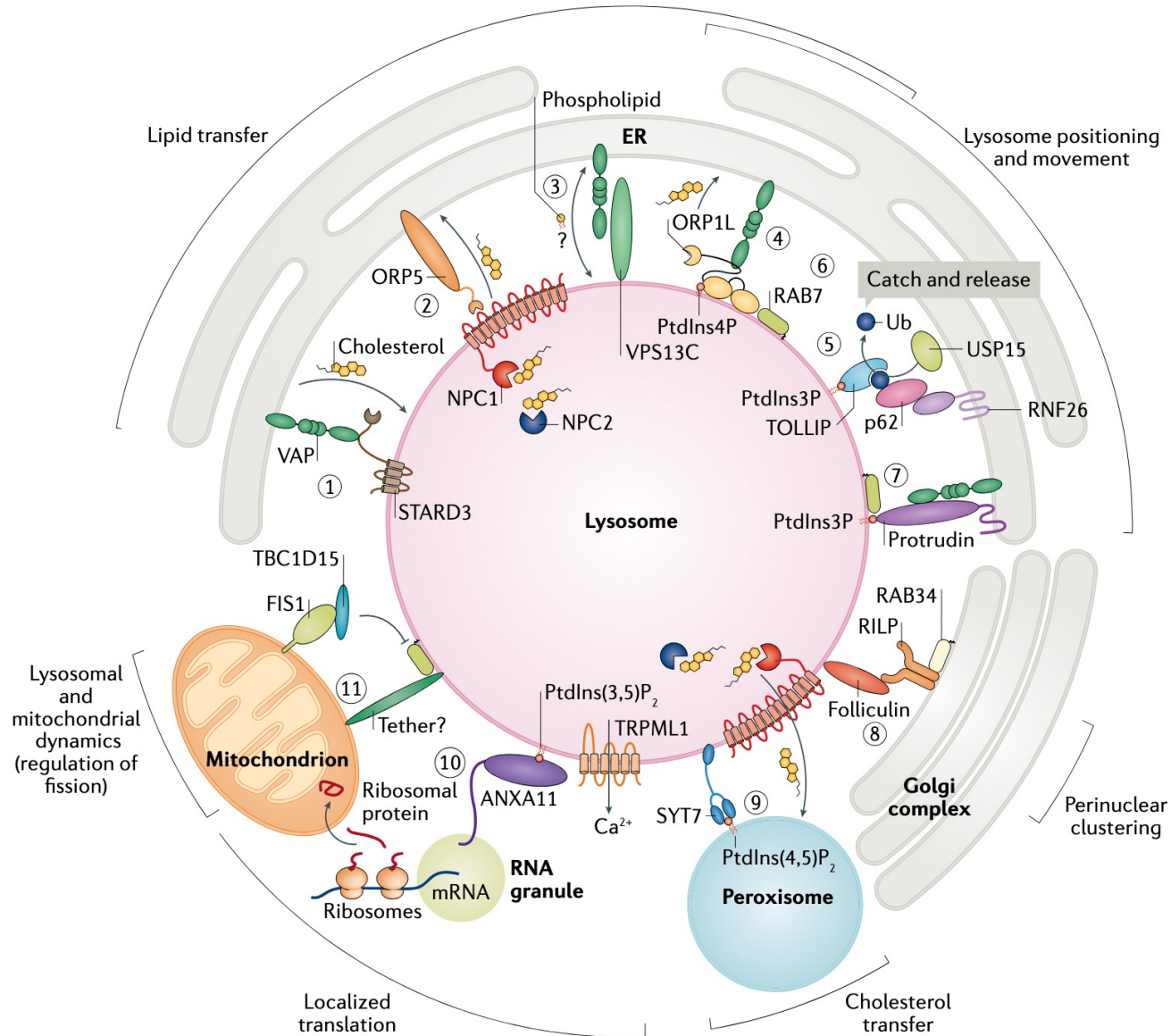


Funciones: sensor metabólico

Hay dos poblaciones de lisosomas: perinucleares y periféricos



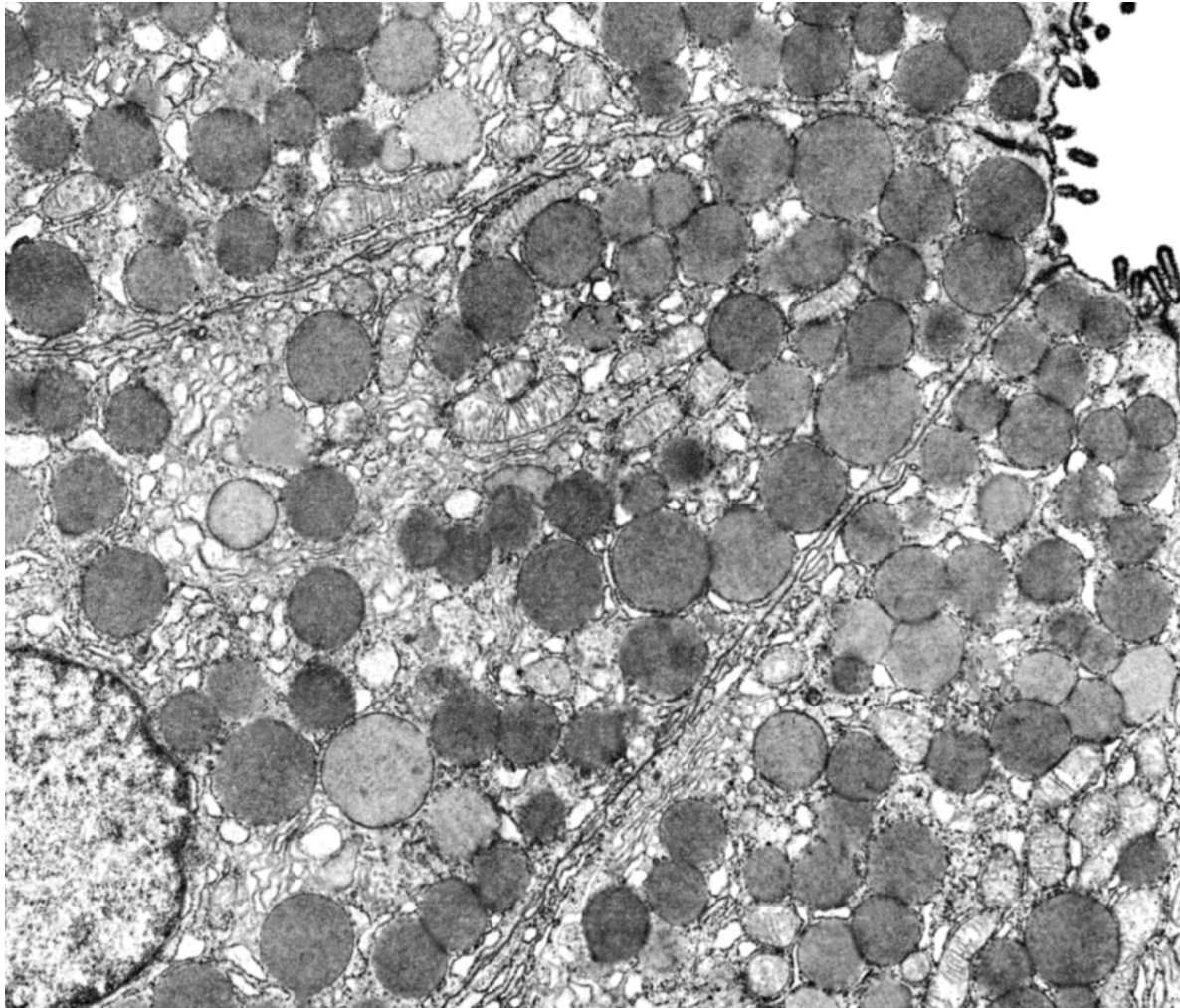
Funciones: sensor metabólico



- **Interacción con orgánulos**
- **Agrupación perinuclear**
- **Transporte de gránulos de RNA**

Funciones: exocitosis

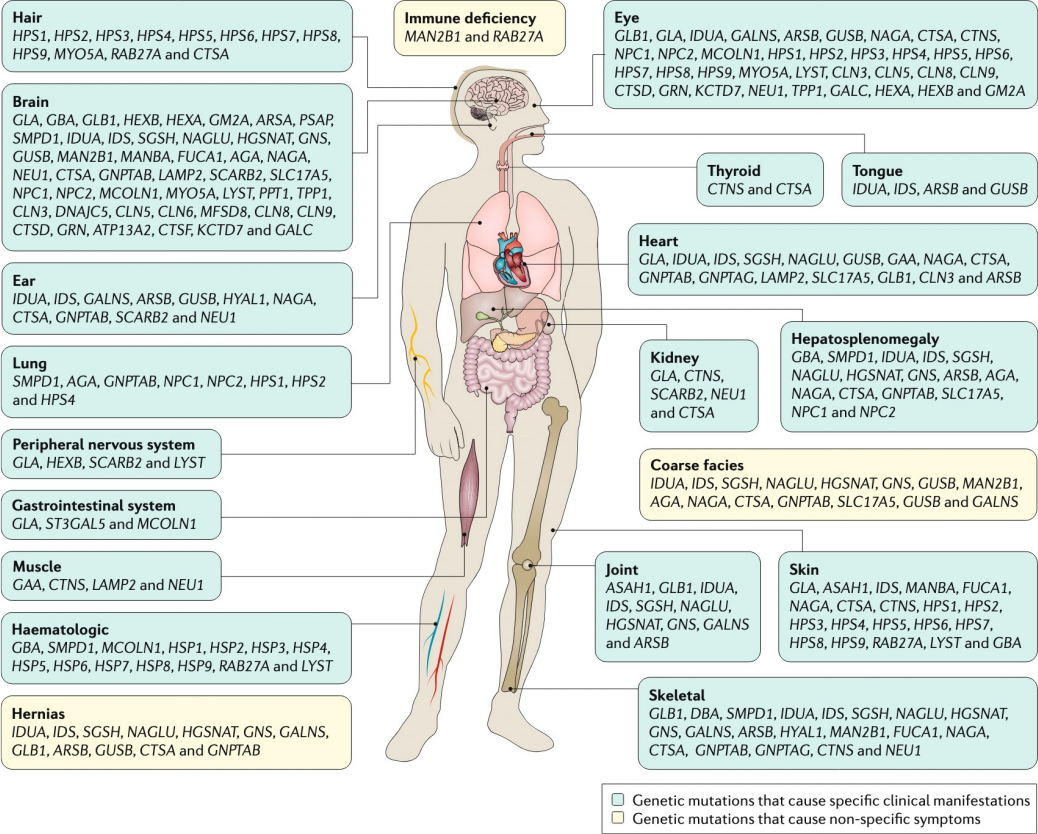
Participación en la **EXOCITOSIS REGULADA** de determinados tipos celulares



- Secreción de enzimas a la bilis
- Osteoclastos
- Enzimas hidrolíticas del espermatozoide
- Melanocitos

Enfermedades lisosomales

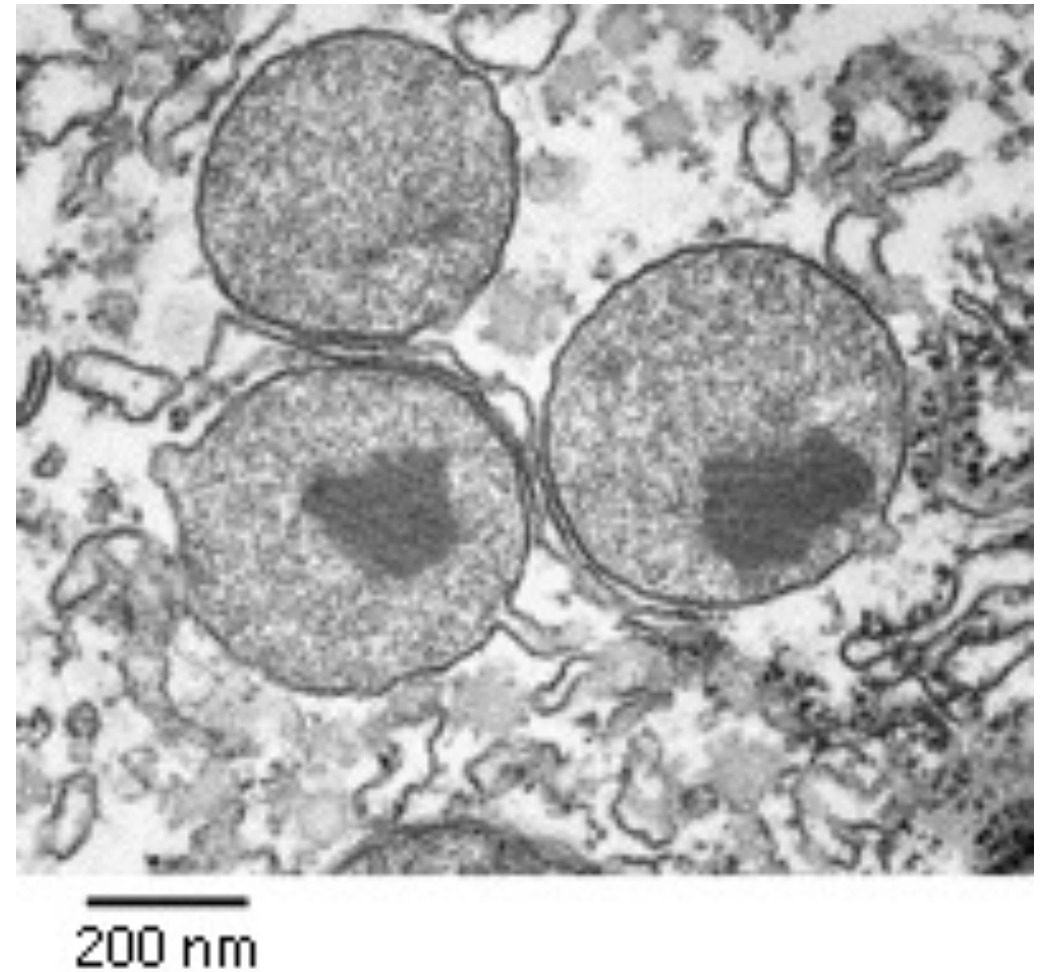
Enfermedad	Déficit Enzimático	Producto Almacenado	Consecuencias
Gangliosidosis G _{MI}	Galactosidasa G _{MI}	Gangliósido G _{MI}	Retraso mental, hepatomegalia, muerte en la infancia
Enfermedad de Tay-Sachs	Hexosaminidasa A	Gangliósido G _{M2}	Retraso mental, ceguera, muerte en la infancia
Enfermedad de Gaucher	Glucocerebrosidasa	Glucocerebrósido	Hepatomegalia, esplenomegalia
Enfermedad de Niemann-Pick	Esfingomielinasa	Esfingomielina	Hepatomegalia, esplenomegalia, retraso mental
Enfermedad de Krabbe	Galactocerebrosidasa	Galactocerebrósido	Pérdida de mielina, retraso mental, muerte en la infancia
Lipogranulomatosis de Farber	Ceramidasa	Ceramida	Deformación dolorosa de articulaciones, muerte temprana



Peroxisomas

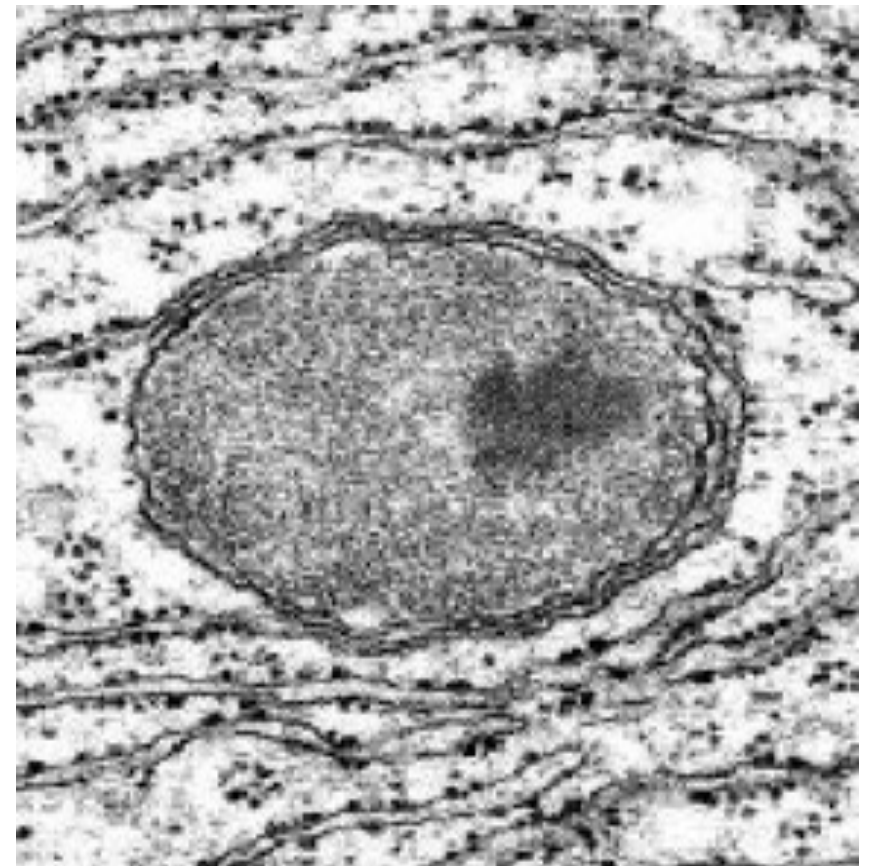
Orgánulos esféricos de pequeño tamaño (0,2-1µm) **rodeados de membrana** y con numerosos **enzimas oxidativos**

- **Detoxificación** de compuestos cuya acumulación es lesiva
- *B*-oxidación de ácidos grasos y derivados lipídicos que **no pueden ser procesados en la mitocondria**
- **Eliminación del H_2O_2**



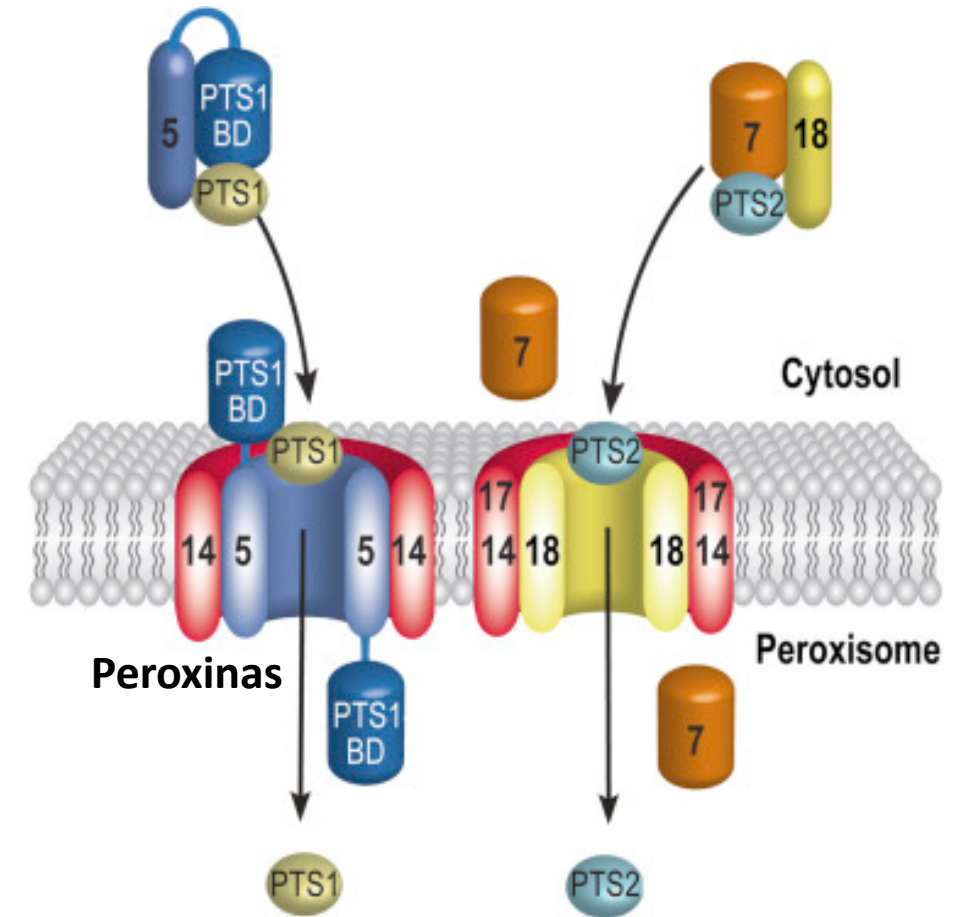
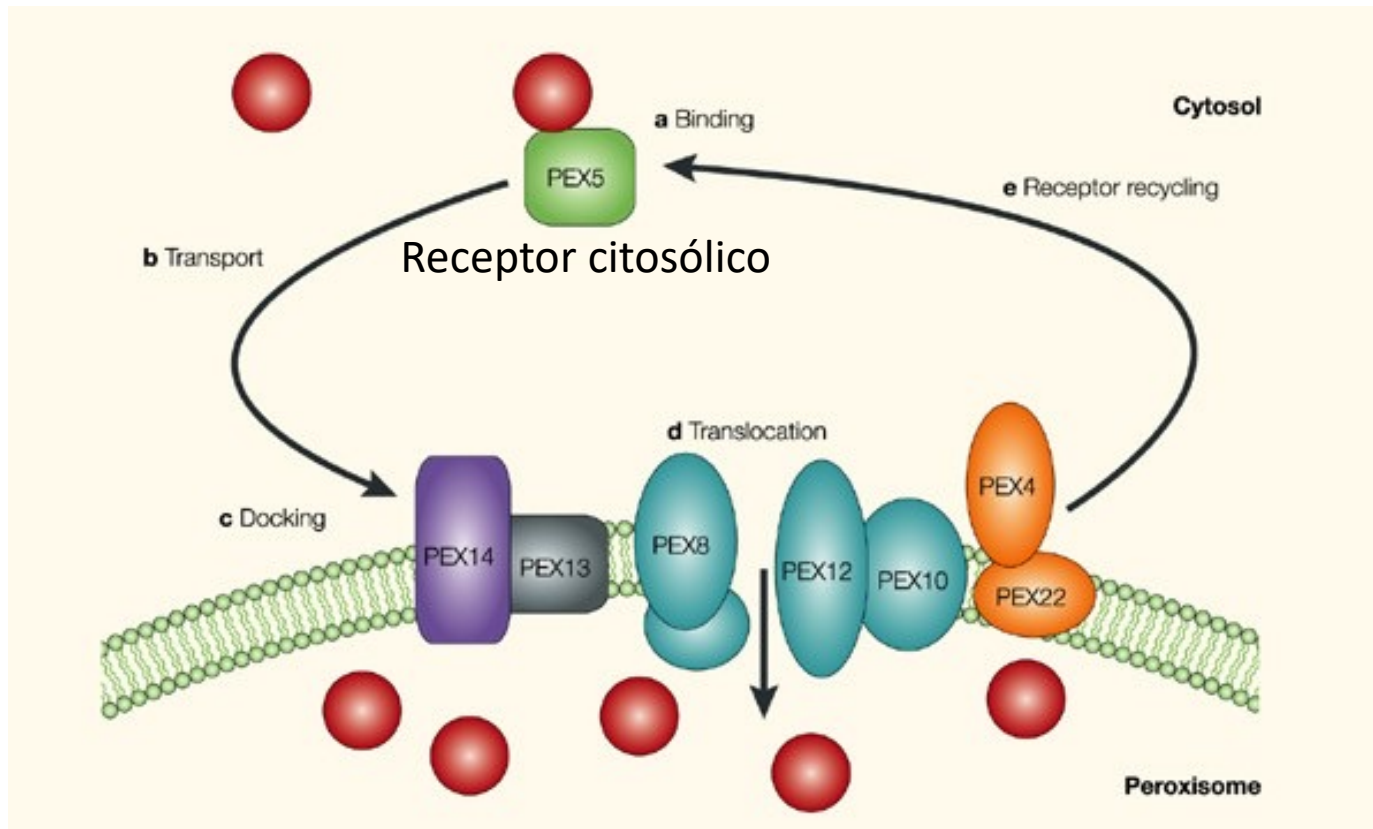
Peroxisomas

Contenido granular fino y pueden observarse **inclusiones cristalinas** de proteínas (generalmente oxidasas)



Peroxisomas

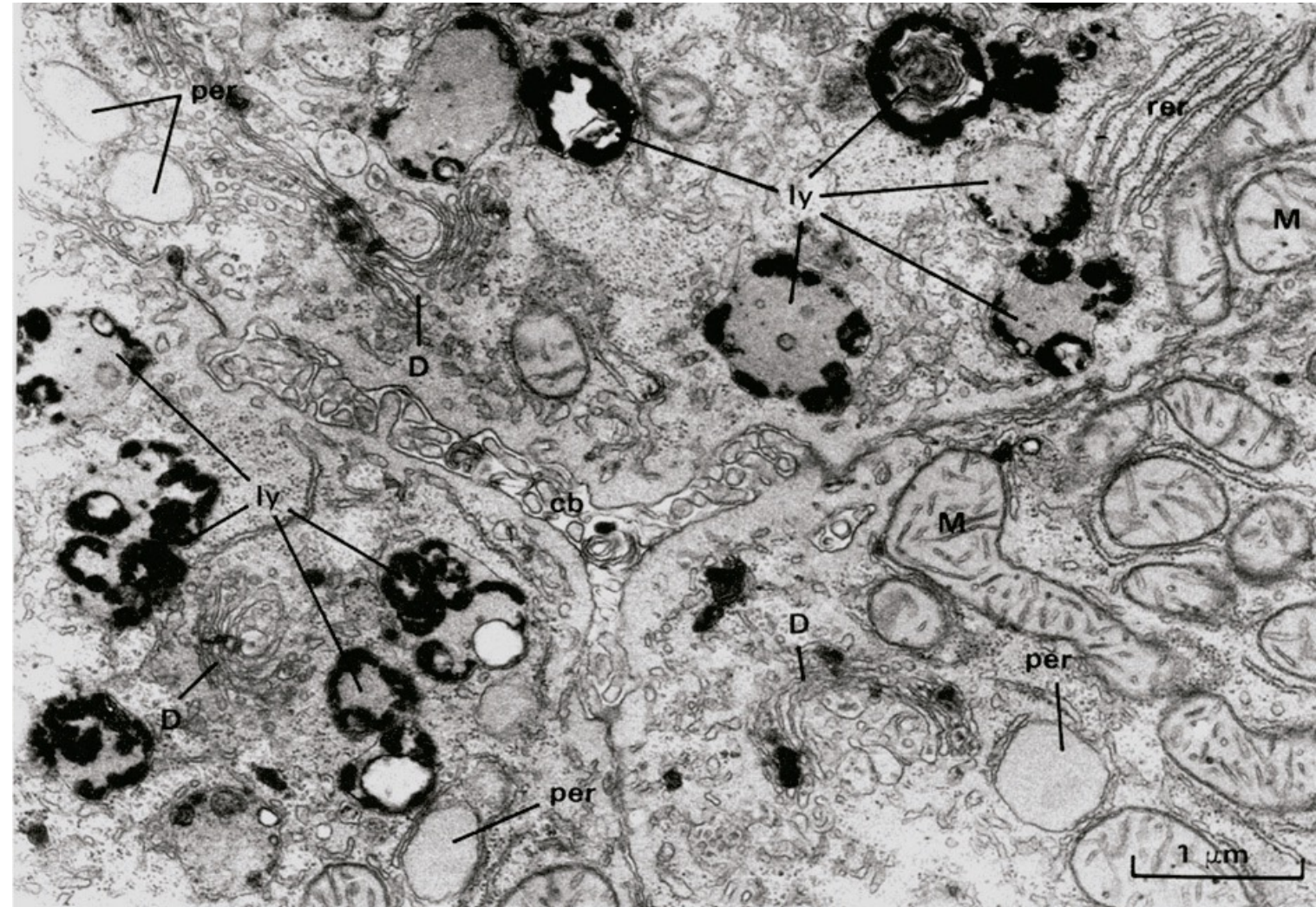
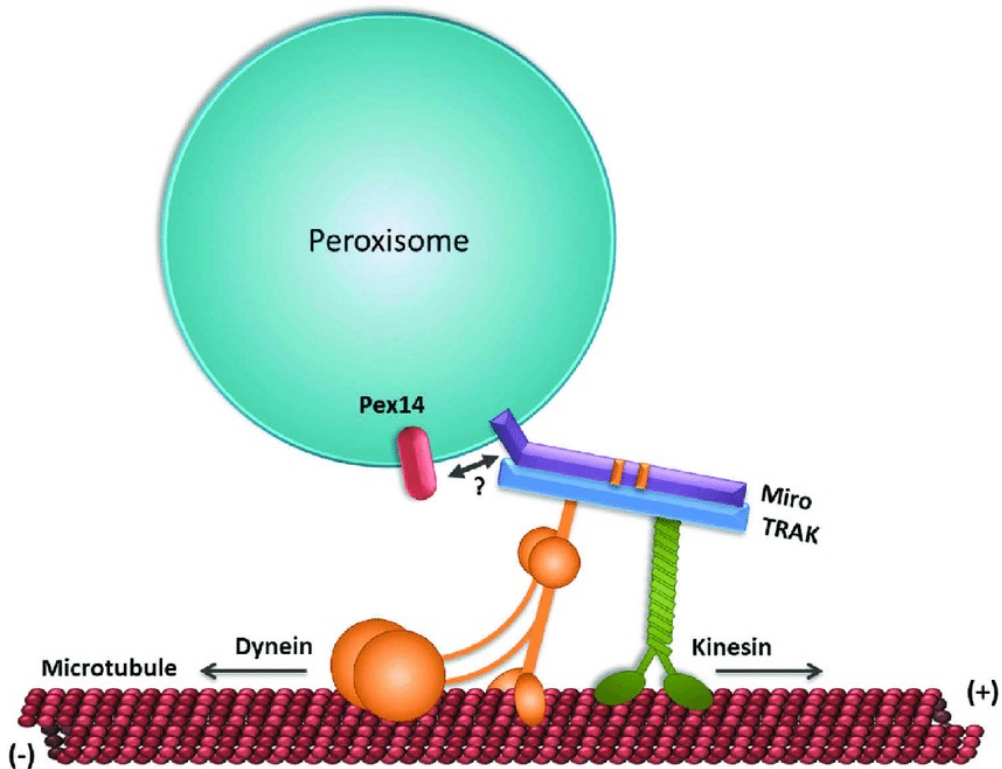
Las proteínas ingresan en los peroxisomas tanto **desde el citosol** como **desde el el retículo endoplásmico**



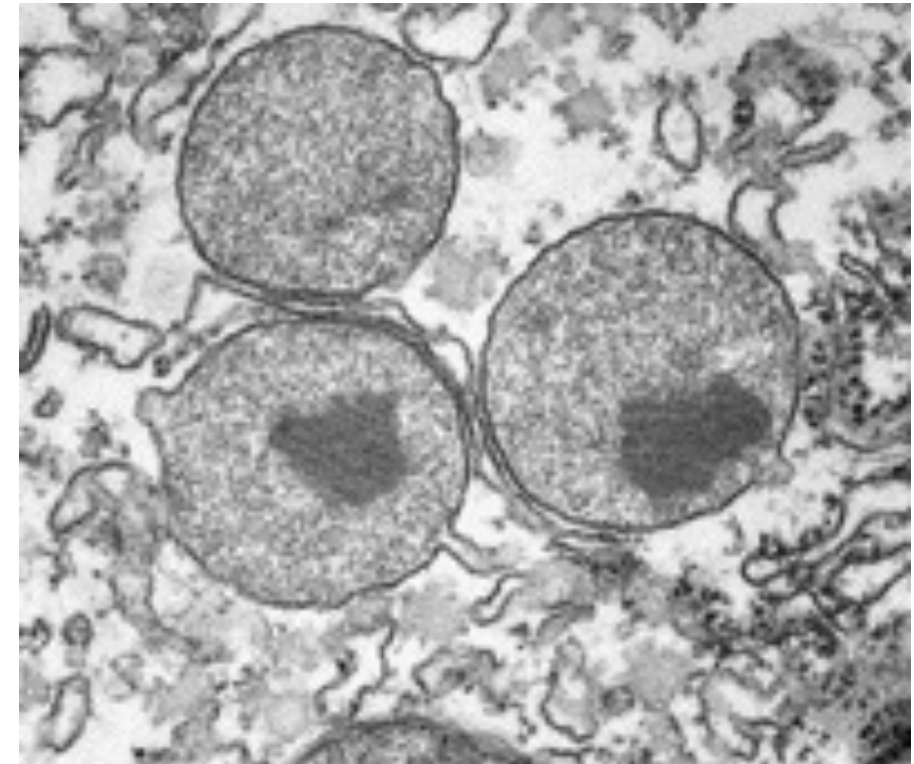
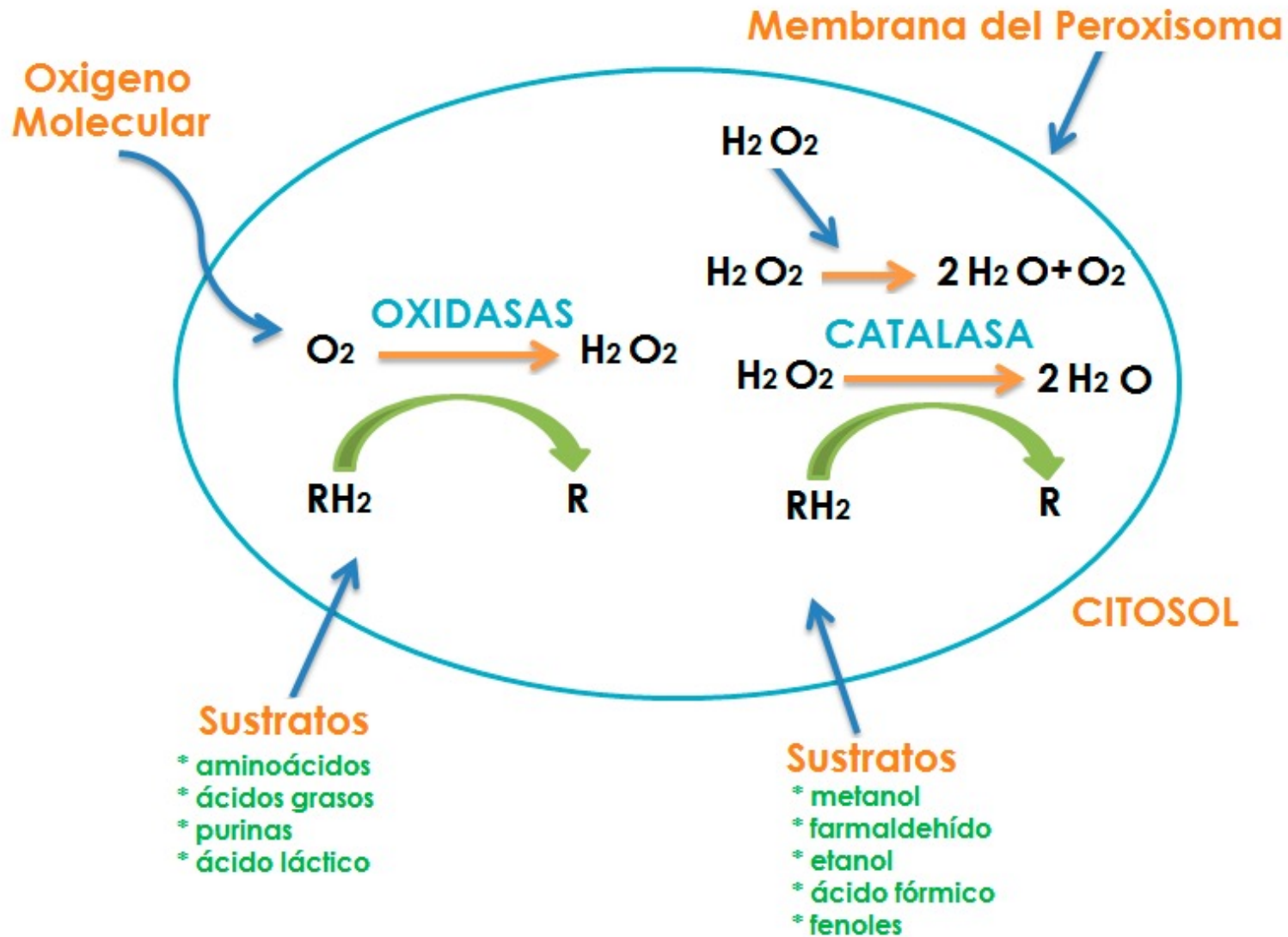
Receptores proteicos del citosol reconocen la secuencia de reconocimiento
Participación de translocadores (**la proteína no se despliega**)

Peroxisome **T**argeting **S**equence

Los peroxisomas se distribuyen por todo el citoplasma

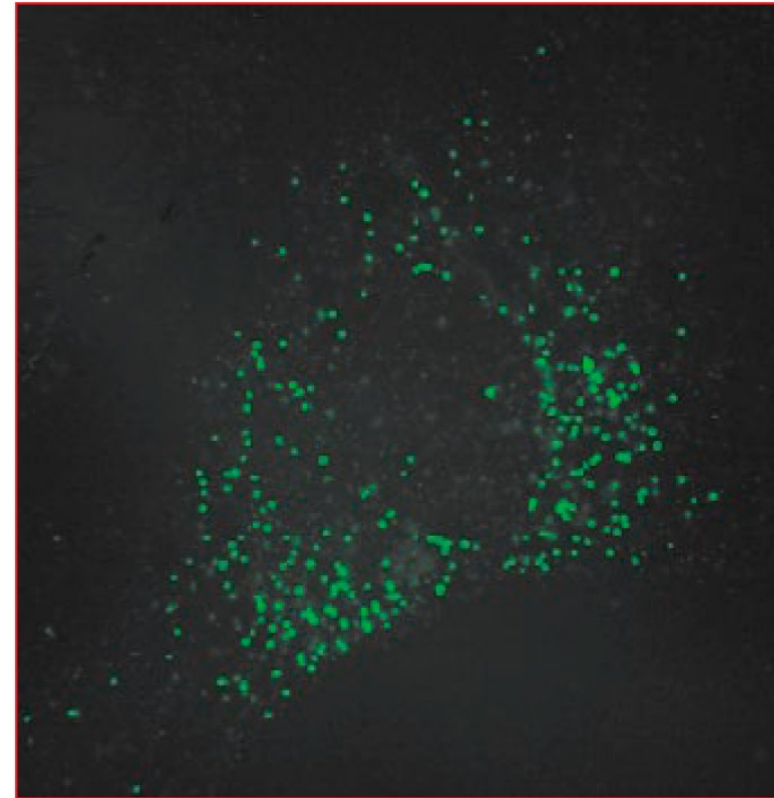
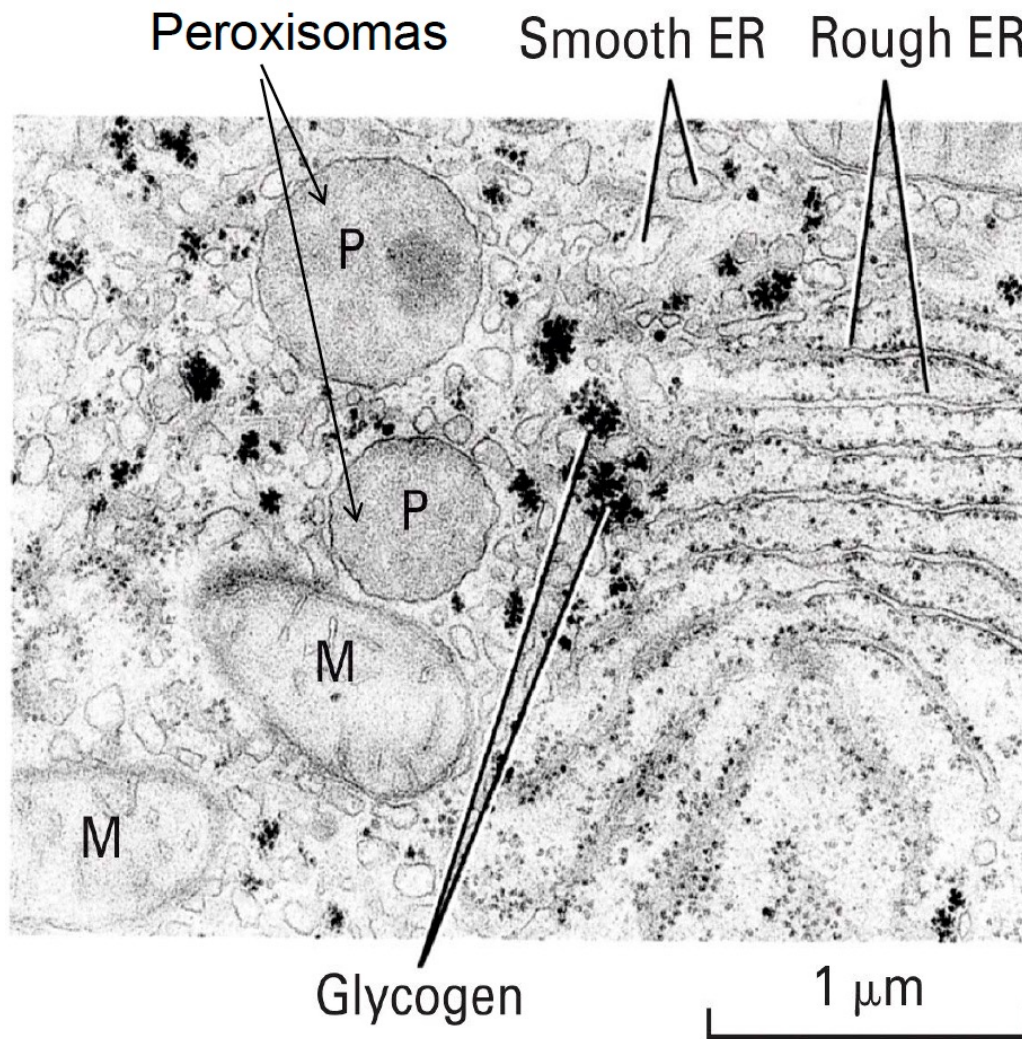


Función: actividad enzimática (oxidación y peroxidación)



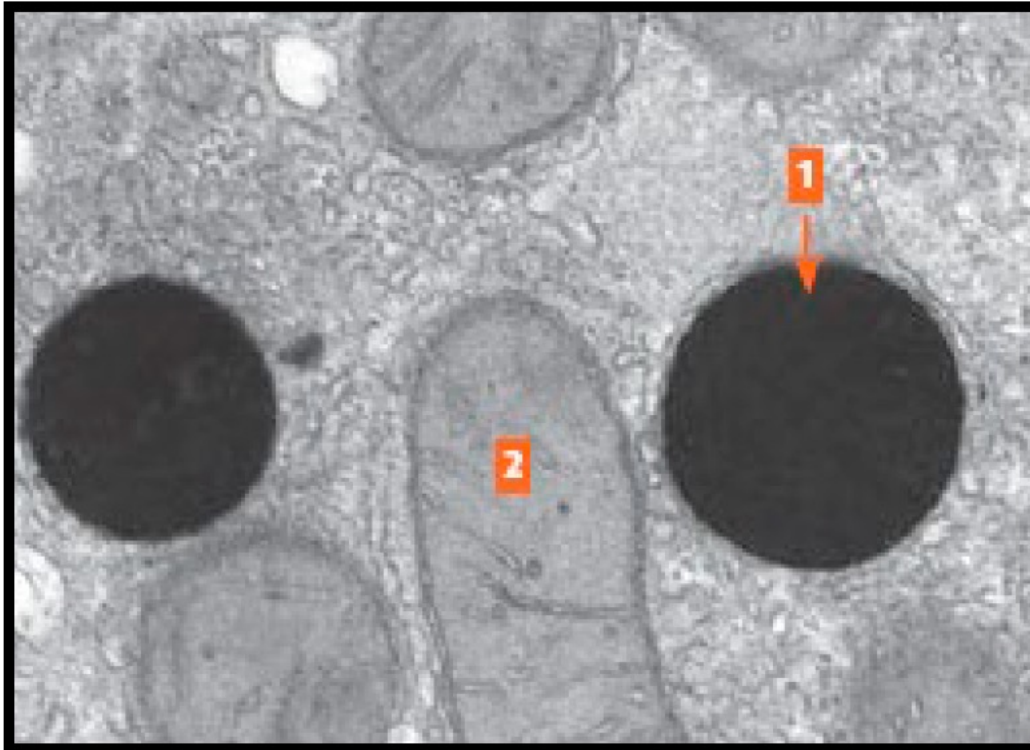
200 nm

Función: actividad enzimática (oxidación y peroxidación)

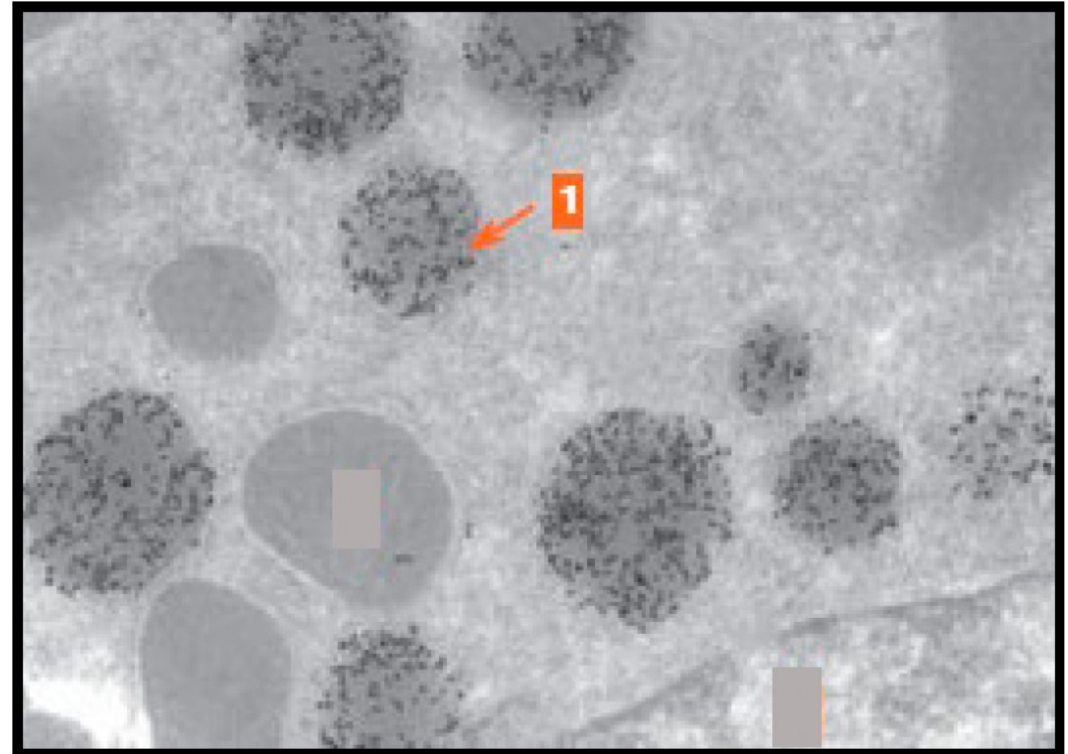


Célula en cultivo que muestra positividad para proteína de membrana peroxisoma. Inmunocitoquímica

Función: actividad enzimática (oxidación y peroxidación)

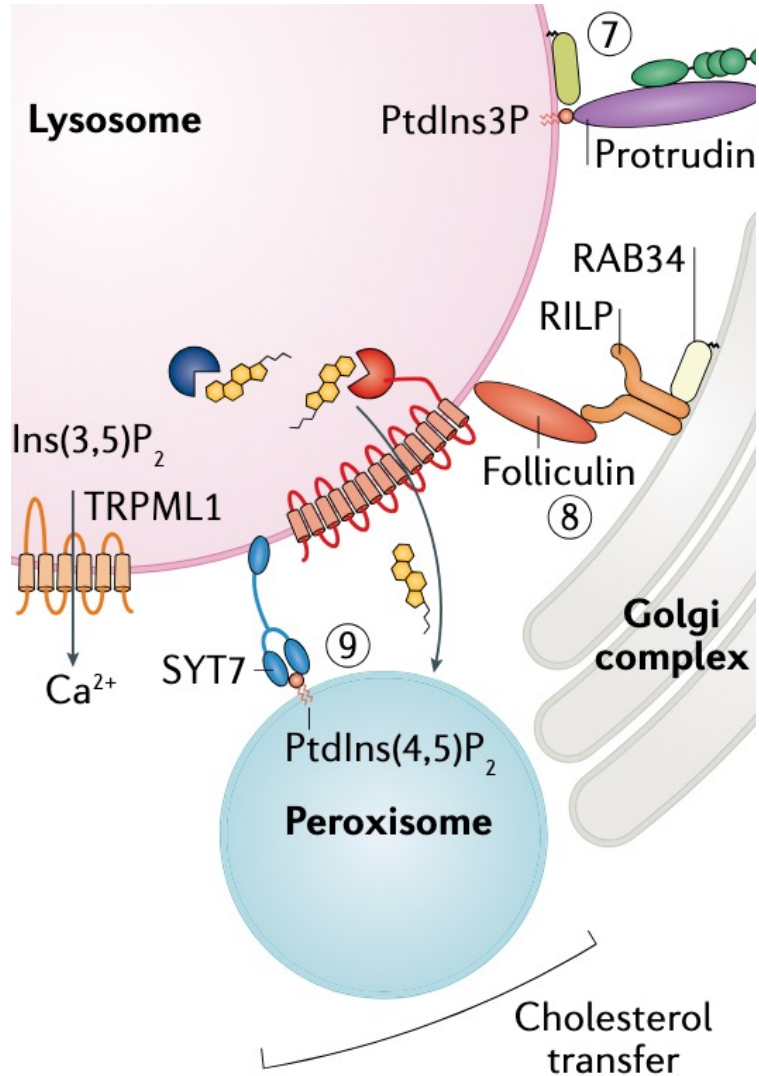


Peroxisomas positivos para la reacción citoquímica para la catalasa (1) MET.



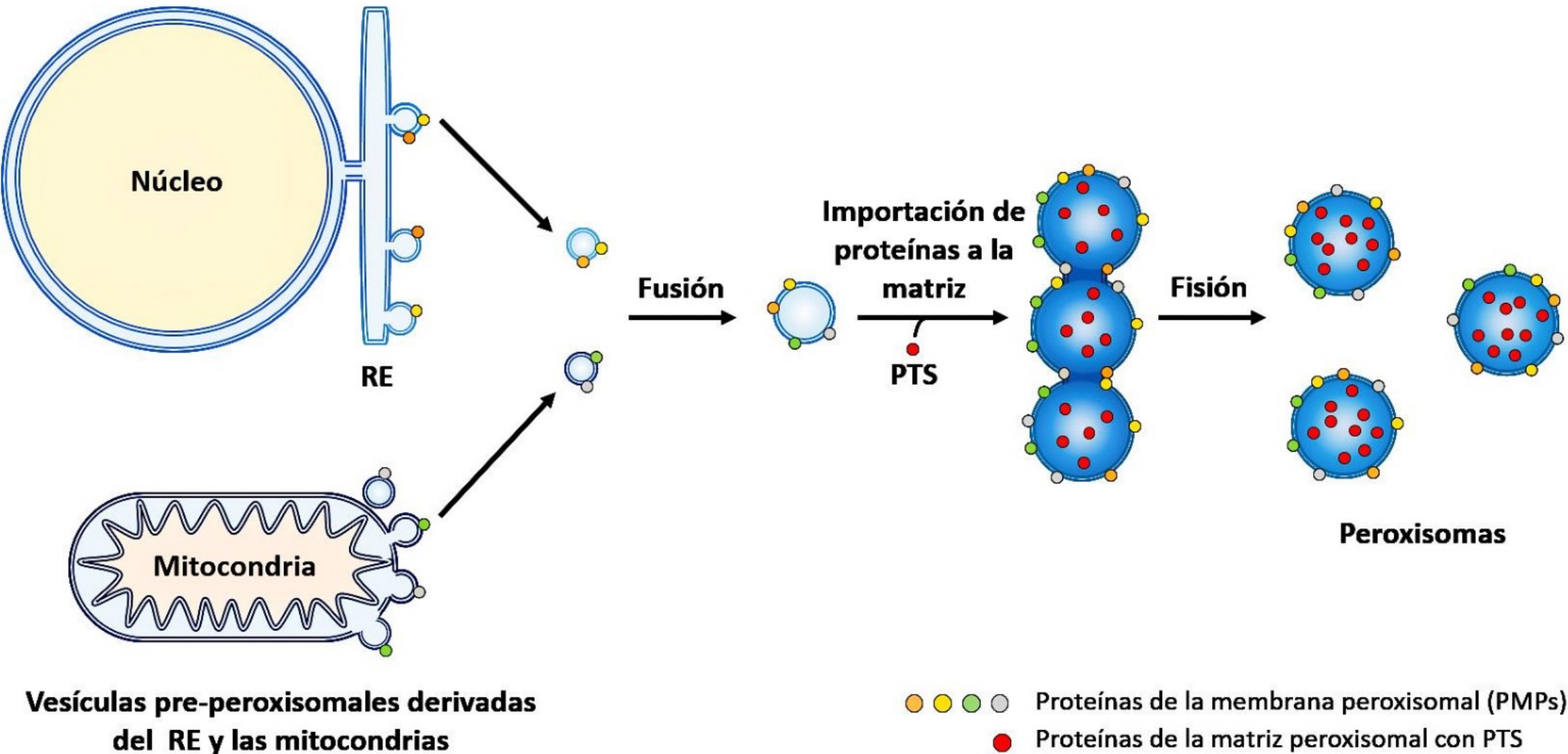
Peroxisomas con positividad para la identificación de catalasa con inmunomarcaje con oro coloidal (1) Inmunocitoquímica y MET

Funciones



- **Catabolismo de purinas (A,G)**
- **Metabolismo de lípidos: β -oxidación**
- **Detoxificación**
- **Síntesis de sales biliares**
- **Metabolismo del colesterol**

Biogénesis de los peroxisomas



Afectación de los peroxisomas

- **Enfermedad de Zellweger.** Defecto genético en el que los peroxisomas no contienen enzimas (no pueden entrar en el orgánulo). Alteraciones neurológicas, visuales y hepáticas y muerte en el 1º año.
- **Adrenoleucodistrofia.** No hay entrada de ácidos grasos en el peroxisoma para ser catabolizados y se acumulan en citoplasma. Asociada a desmielinización. Ligada a X.
- **Enfermedad de Refsum.** Déficit enzimático (dihidroxiacetona fosfato aciltransferasa). Cursa con alteraciones neurológicas.
- **Hiperoxaluria.** Déficit enzimático (alanina glicato aminotransferasa).



Universidad de Valladolid

Lisosomas y peroxisomas

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es



Universidad de Valladolid

Mitocondrias

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es

Composición y estructura

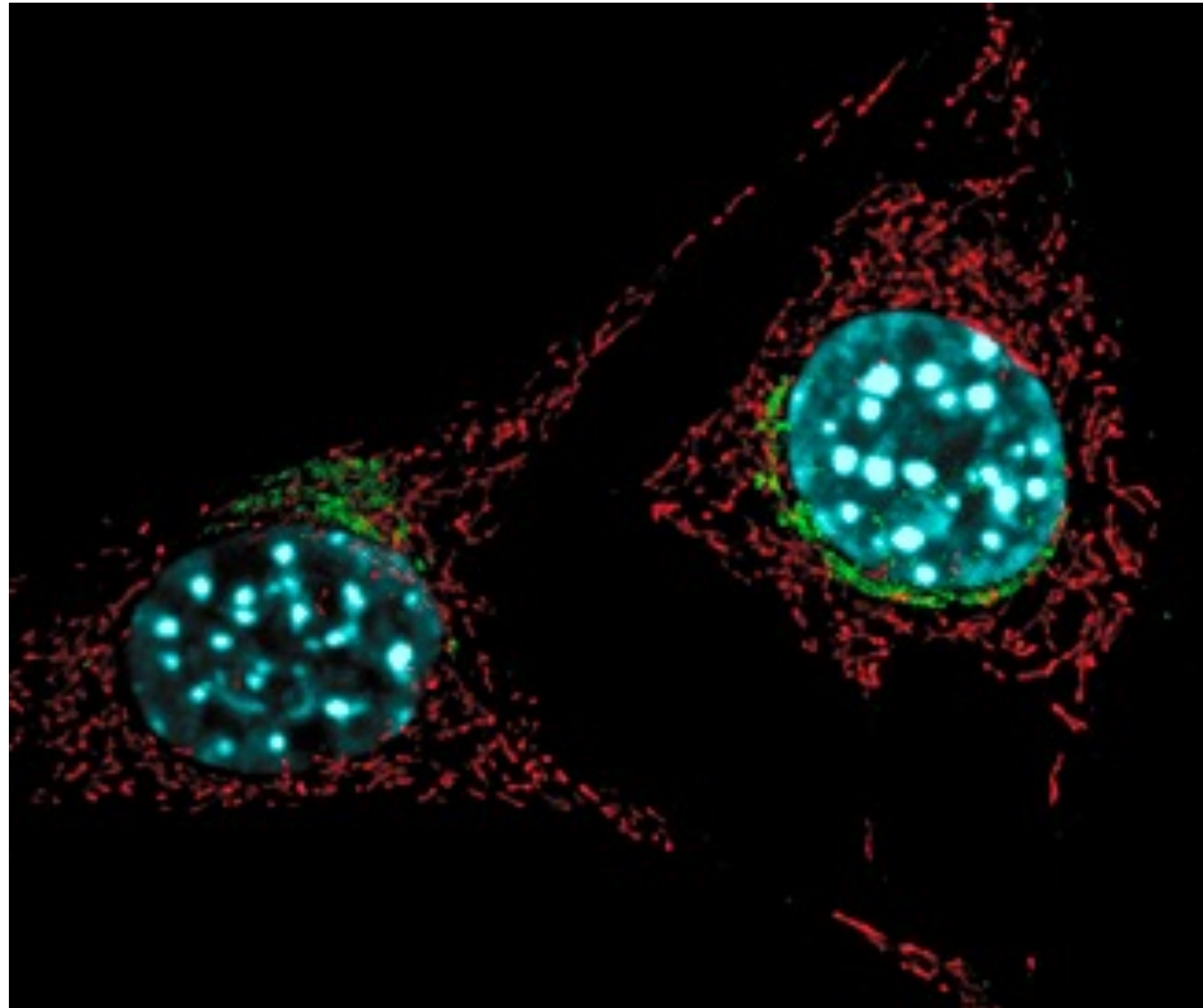
- Presentes en casi todas las células eucariontes
- Producción de ATP: fosforilación oxidativa
- 15-20% del volumen celular
- Diámetro $\approx 0,5-1\mu$ y longitud $\approx 1-7\mu$



MO: gránulos.

Tinciones: fucsina férrica –rojo, hematoxilina férrica –violeta

MF-Inmunocitoquímica: rodamina

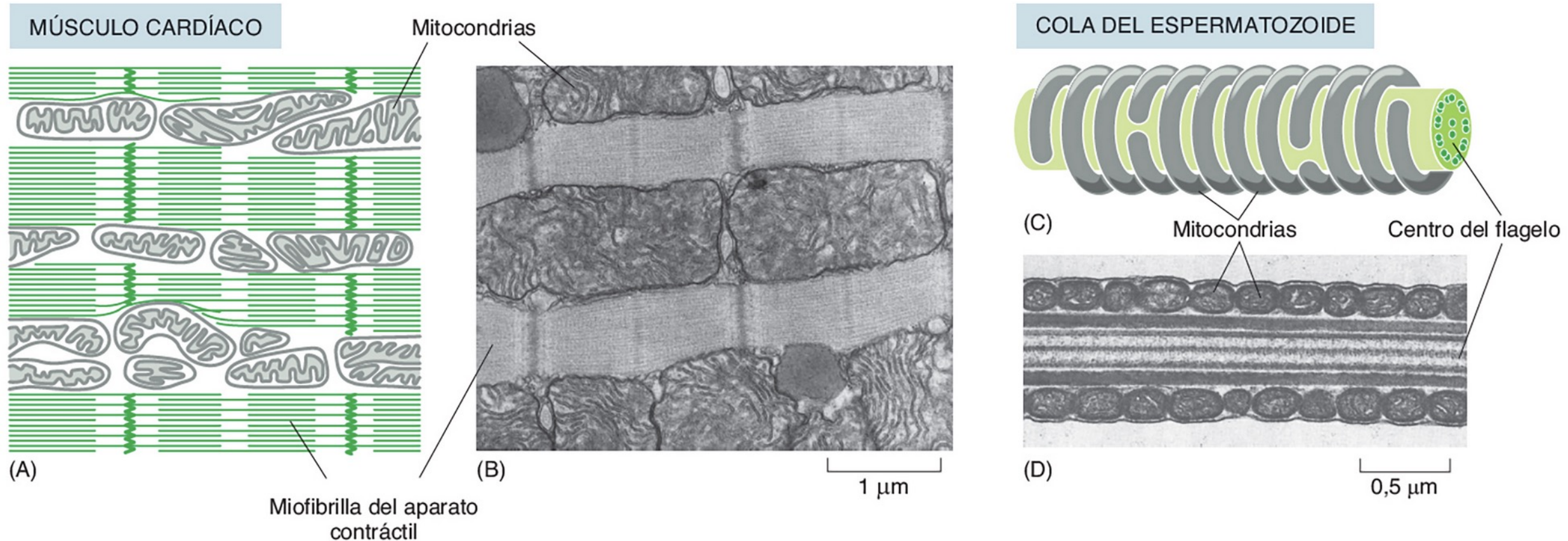


Composición y estructura



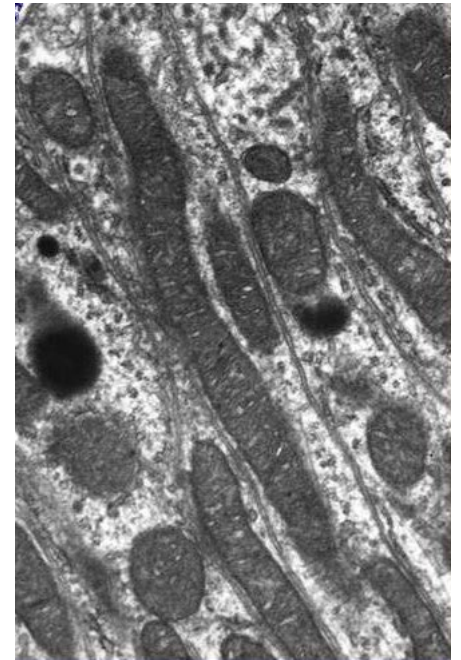
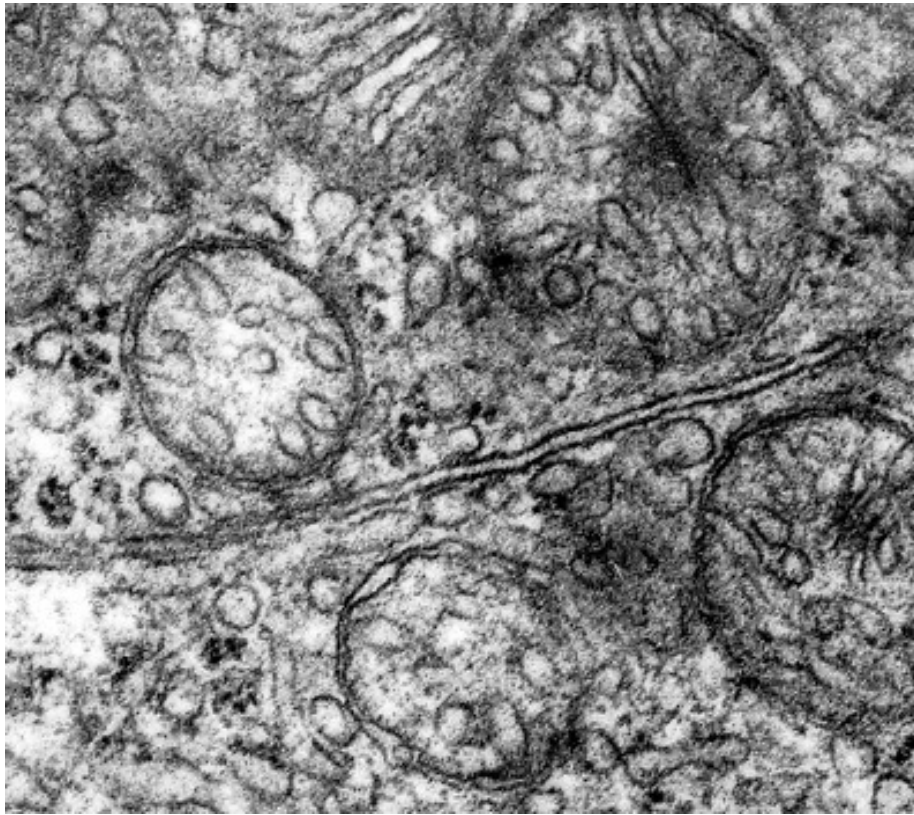
Se localizan donde mayor aporte de energía se necesita

Las mitocondrias se adaptan en su **localización, forma y número** para ajustarse a las necesidades celulares

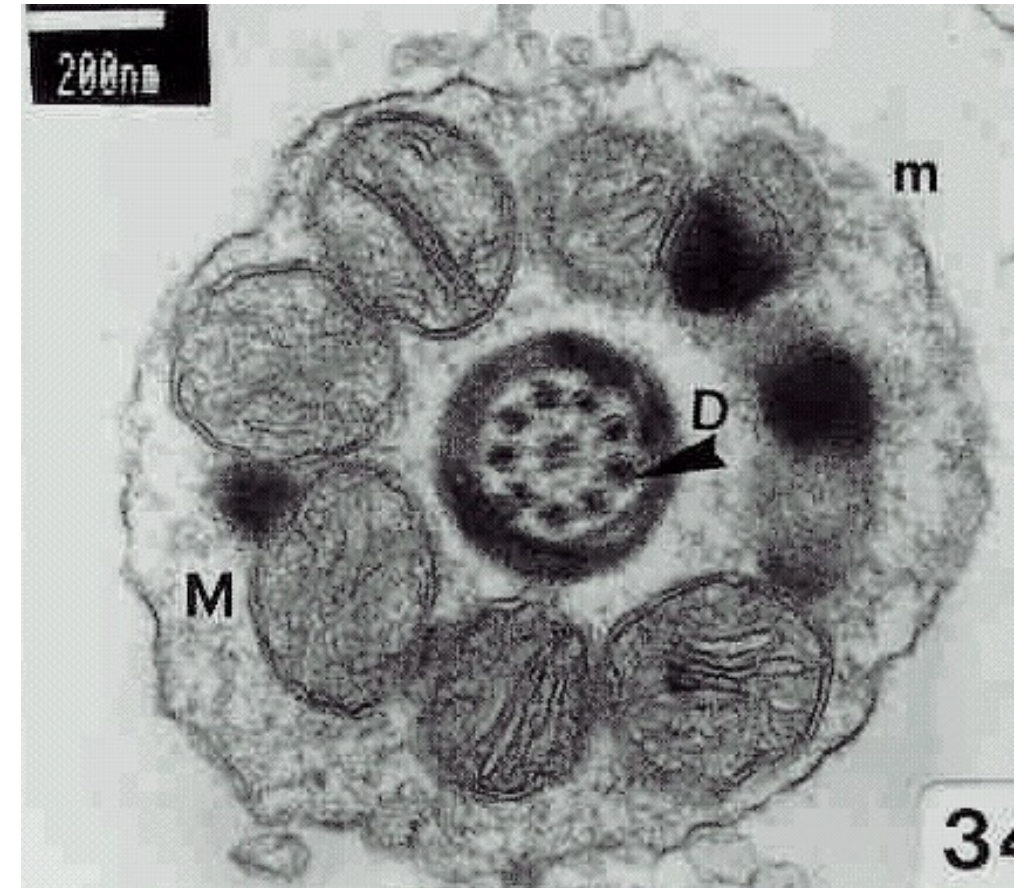
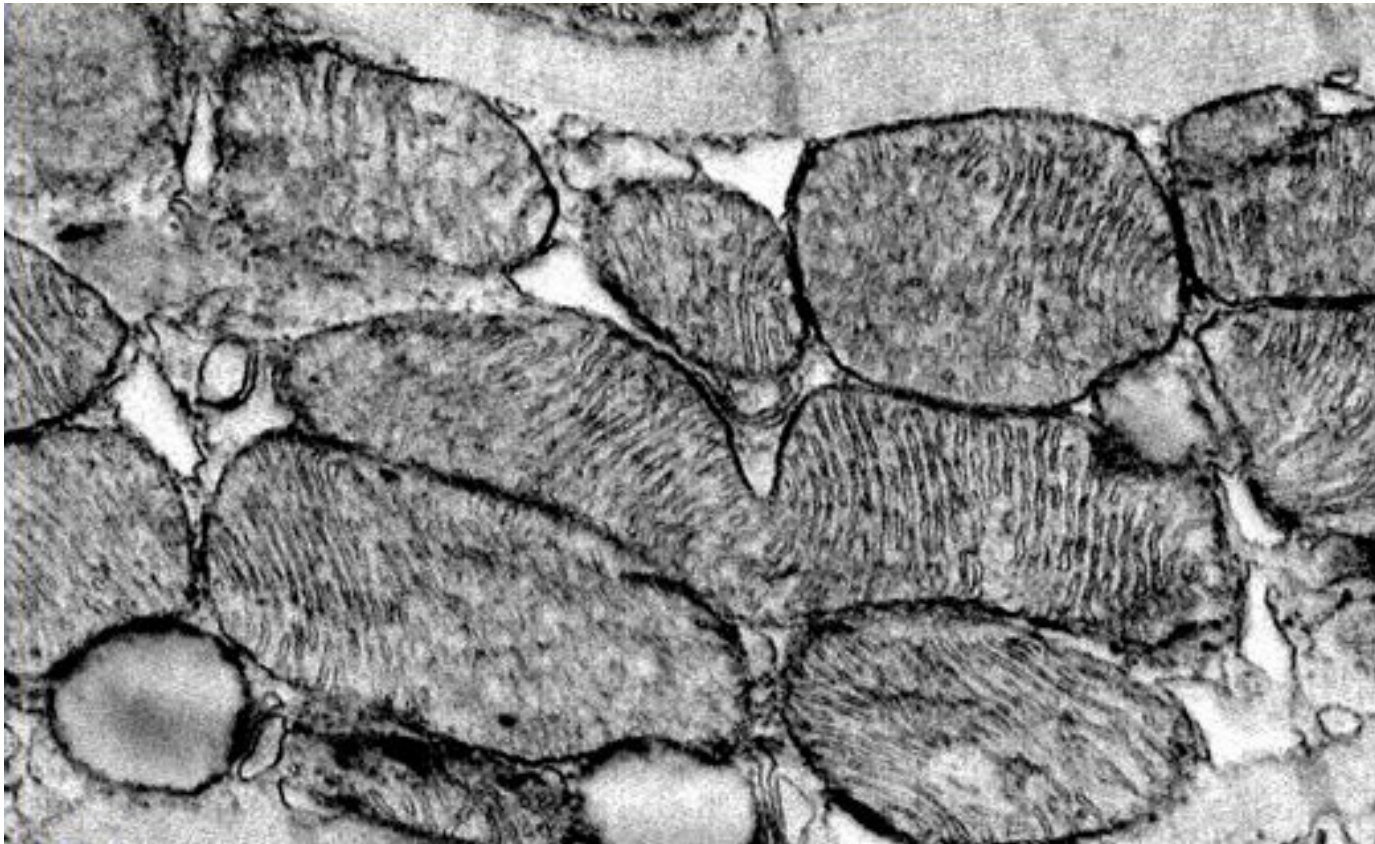


Las mitocondrias se suelen localizar cerca de los sitios donde se utiliza abundante ATP

Se localizan donde mayor aporte de energía se necesita

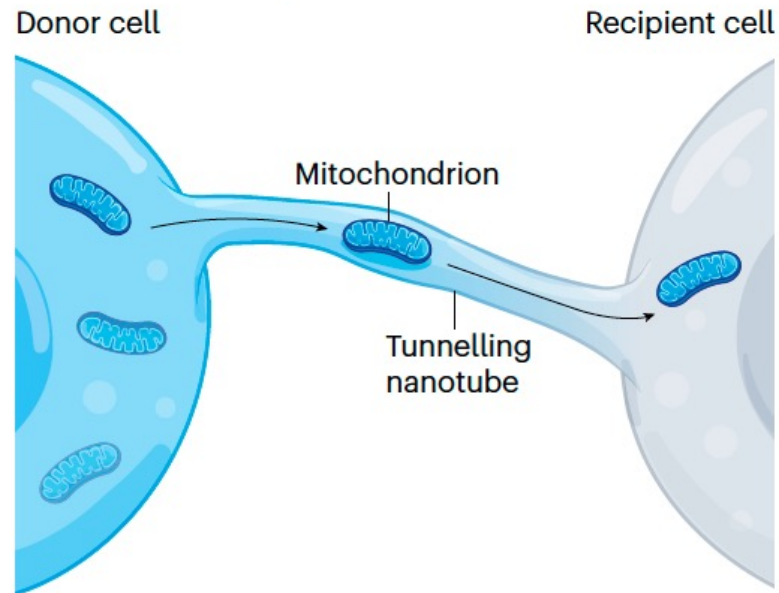


Se localizan donde mayor aporte de energía se necesita

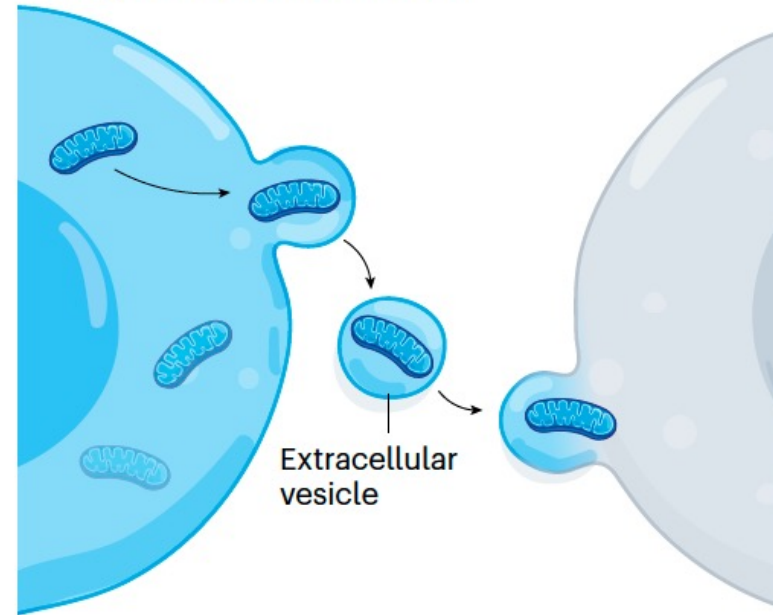


Se pueden mover de célula en célula

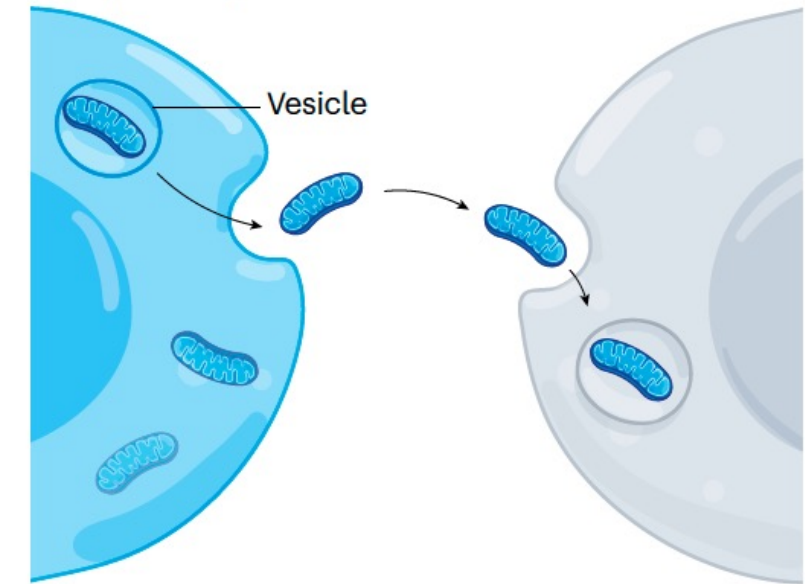
Through tunnelling nanotubes



Through extracellular vesicles

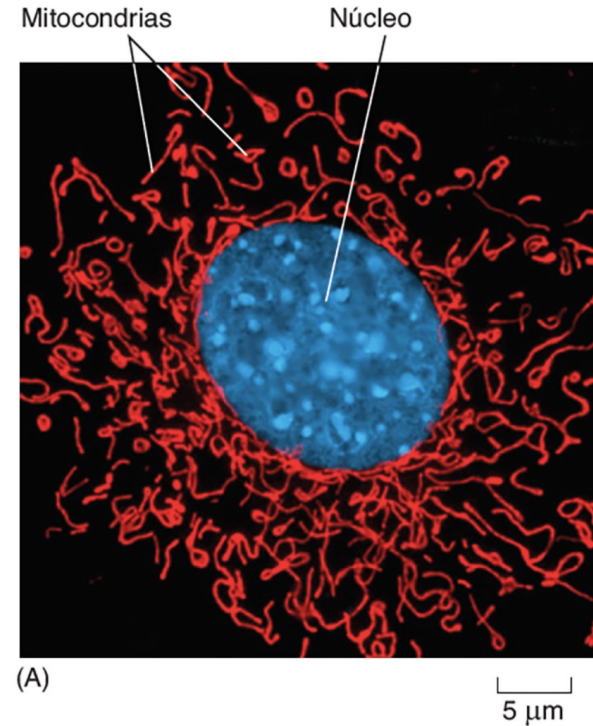
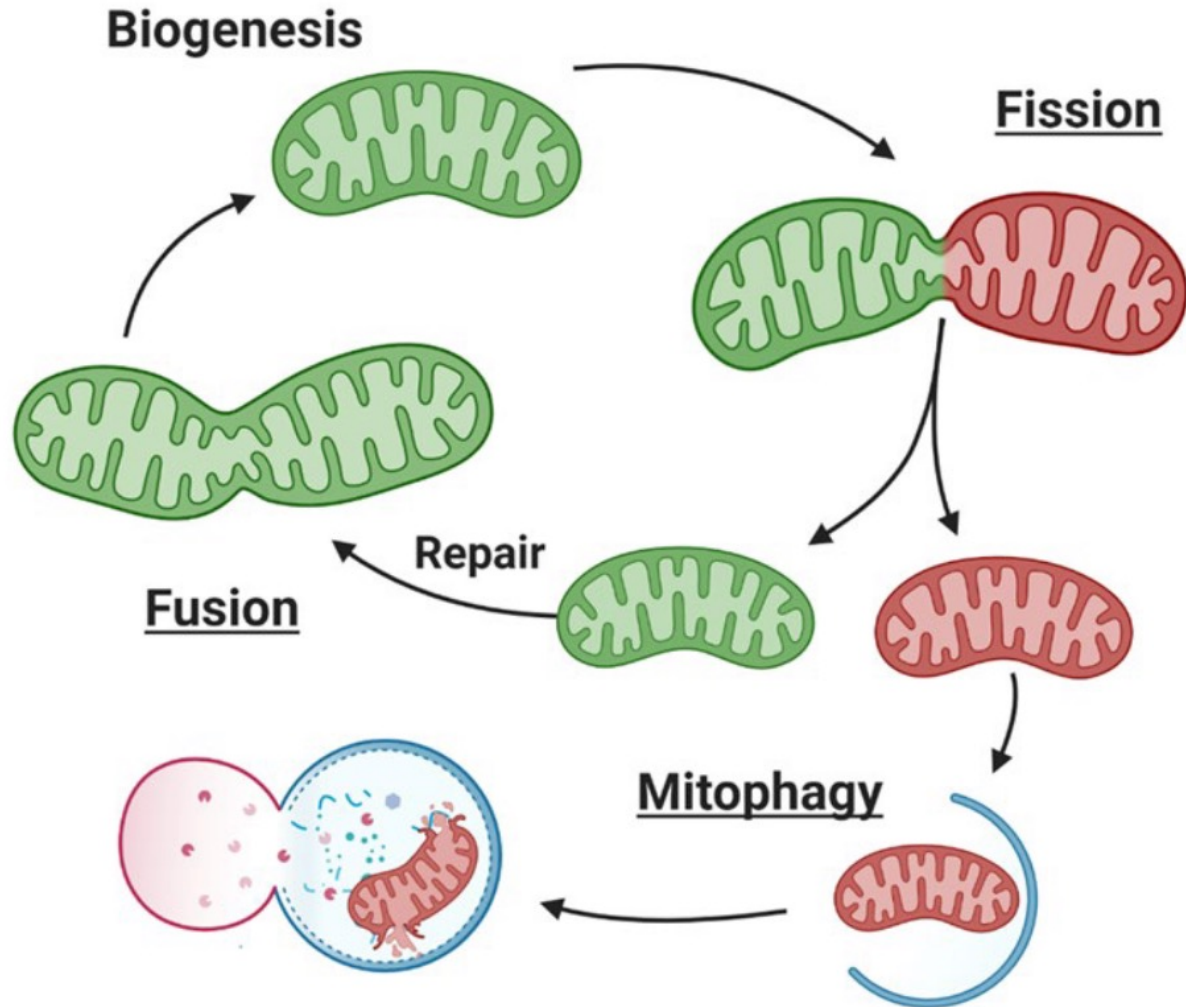


Freely floating



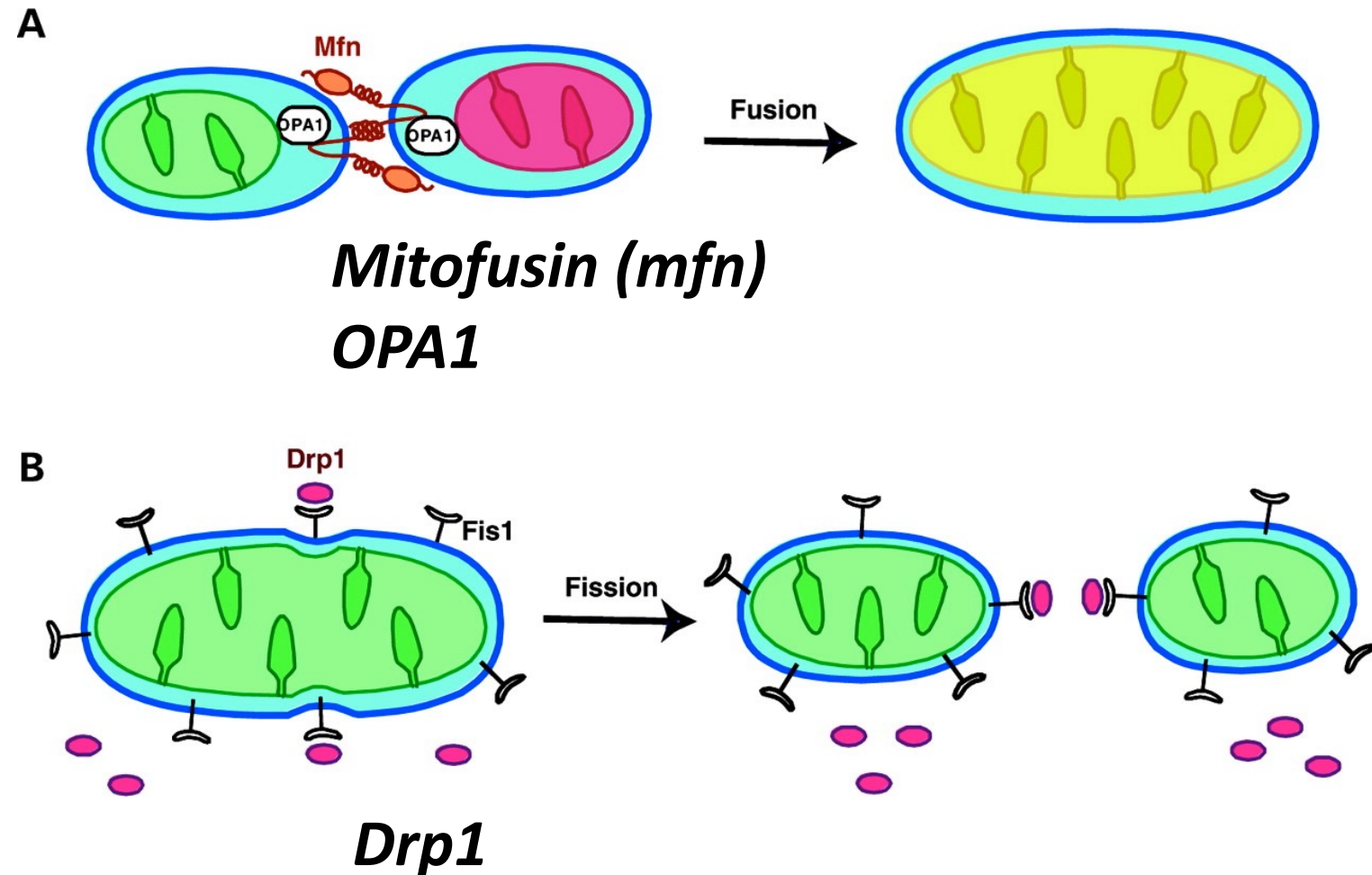
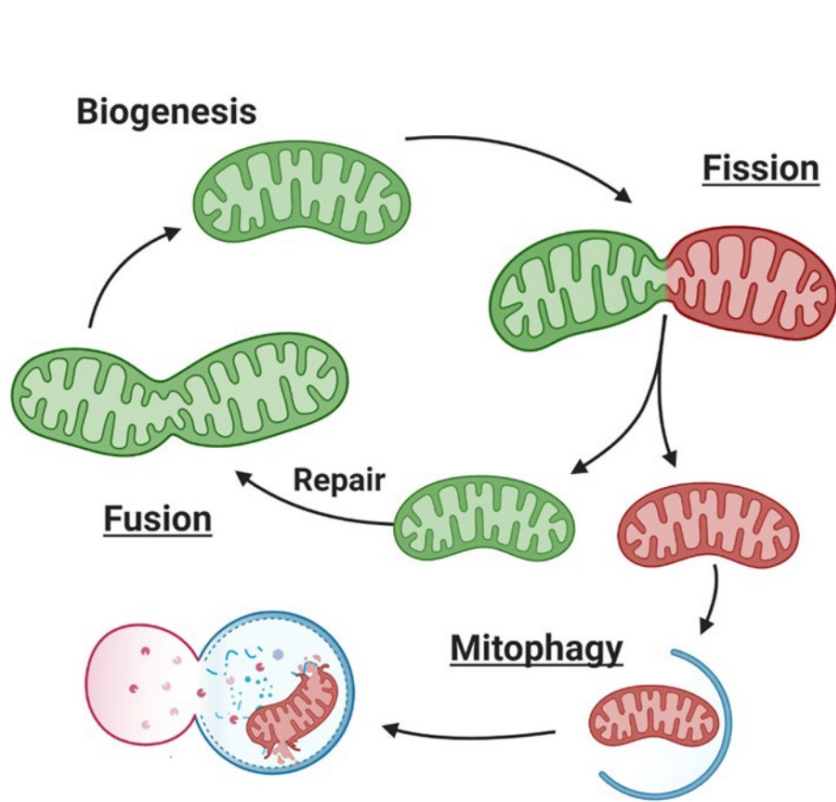
Son dinámicas en estructura, localización y número

Las mitocondrias se pueden fusionar para formar **redes tubulares alargadas**, que se distribuyen por todo el citoplasma



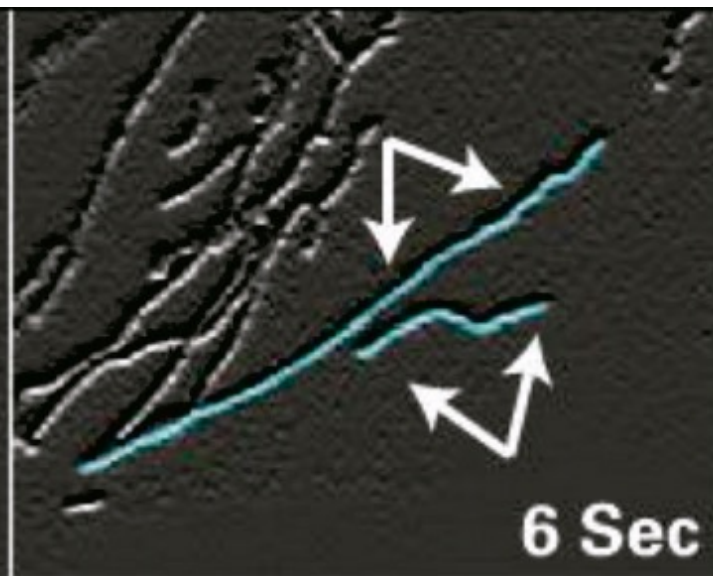
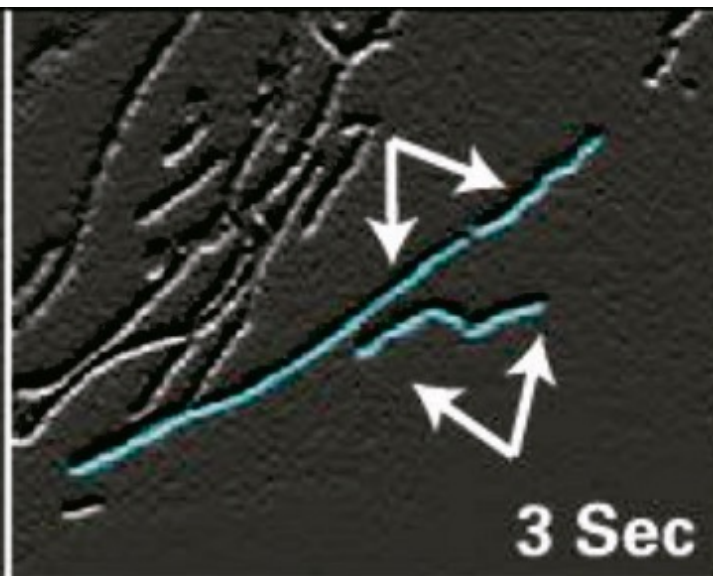
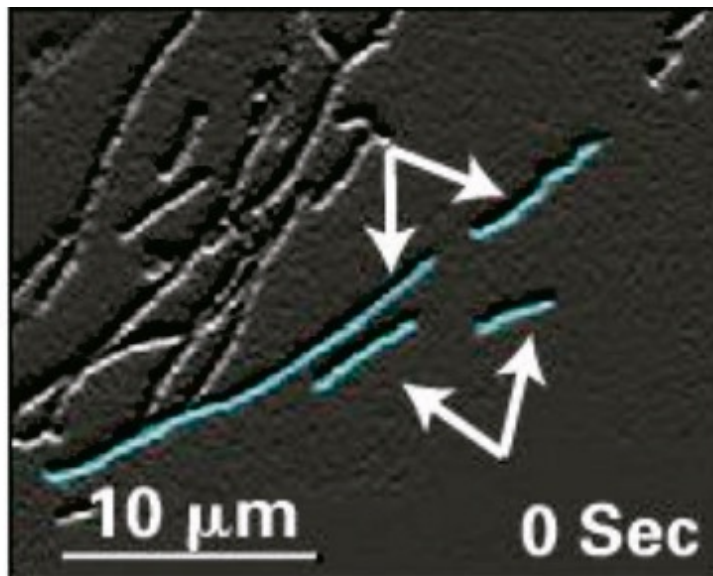
Son dinámicas en estructura, localización y número

Las mitocondrias se pueden fusionar para formar **redes tubulares alargadas**, que se distribuyen por todo el citoplasma

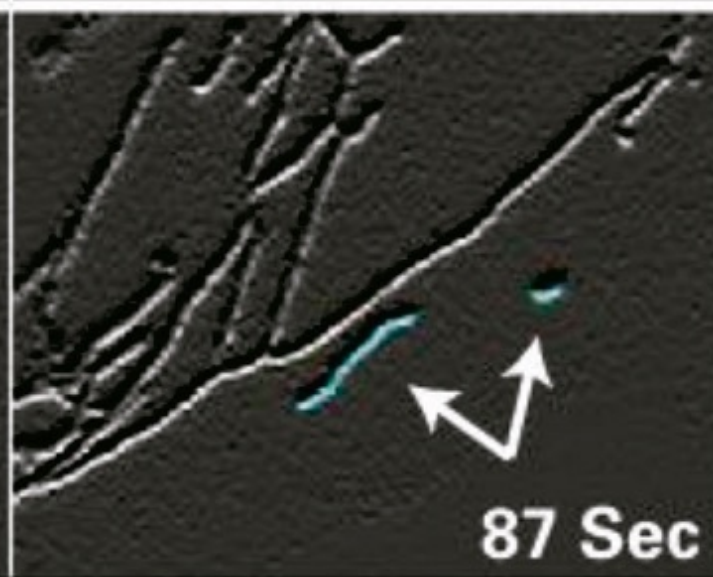
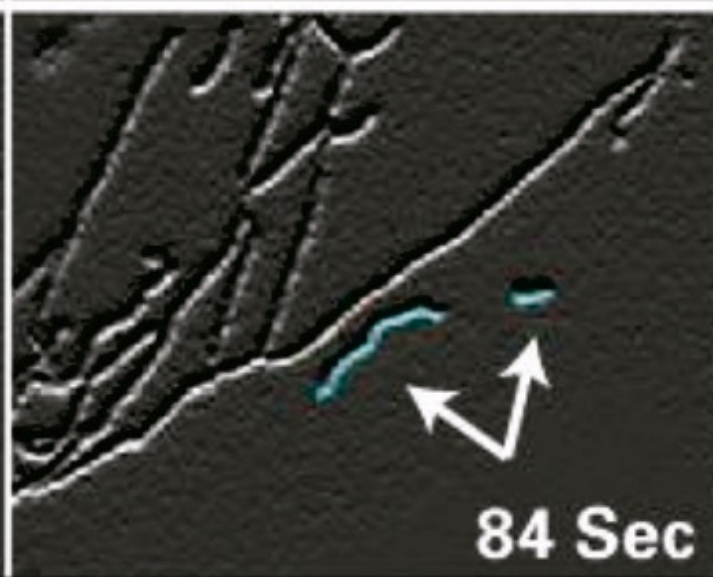
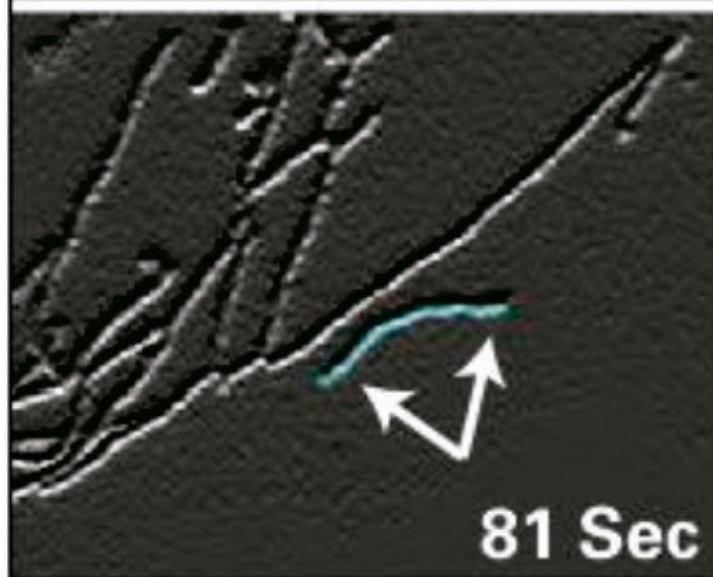


Son dinámicas en estructura, localización y número

Fusión

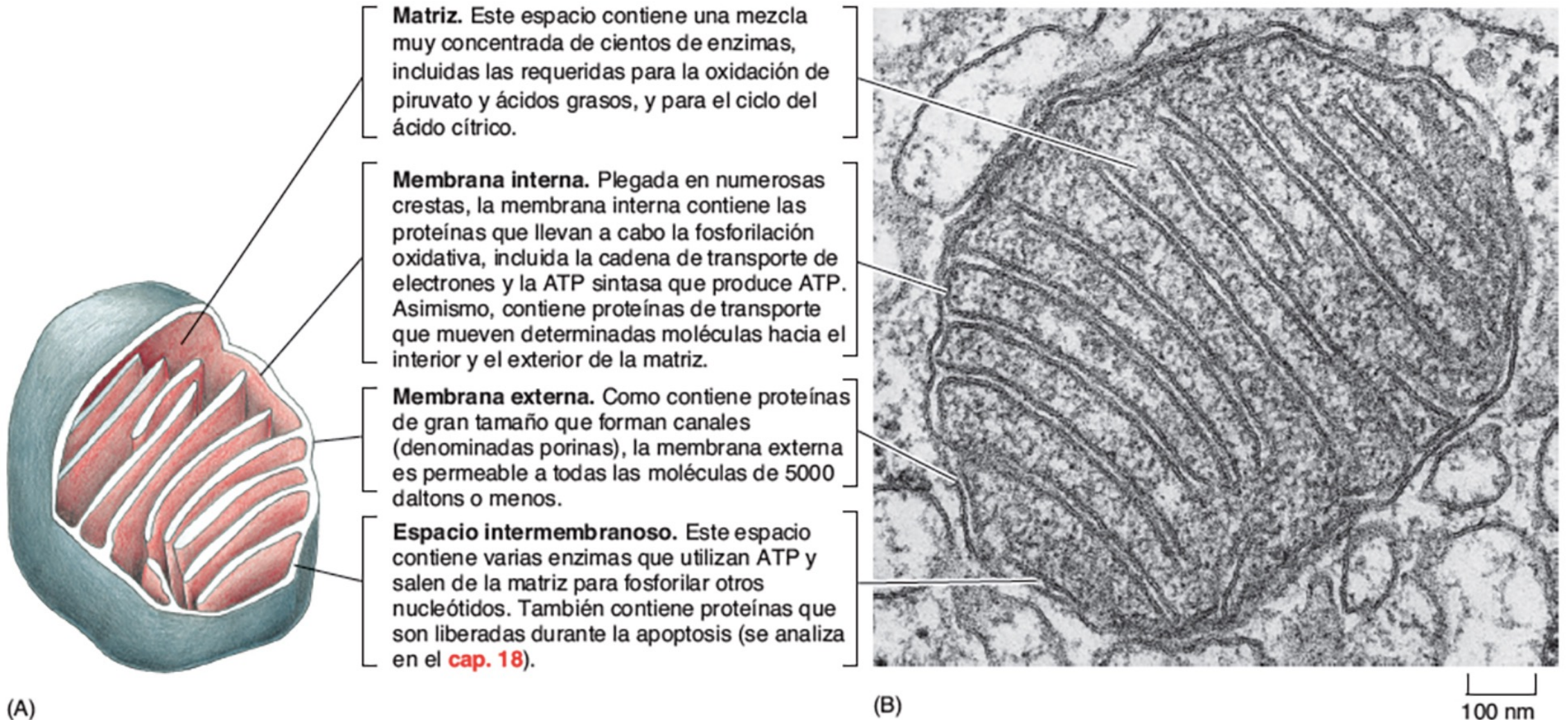


Fisión



Composición y estructura

Una mitocondria contiene una membrana externa, una membrana interna y dos compartimentos internos



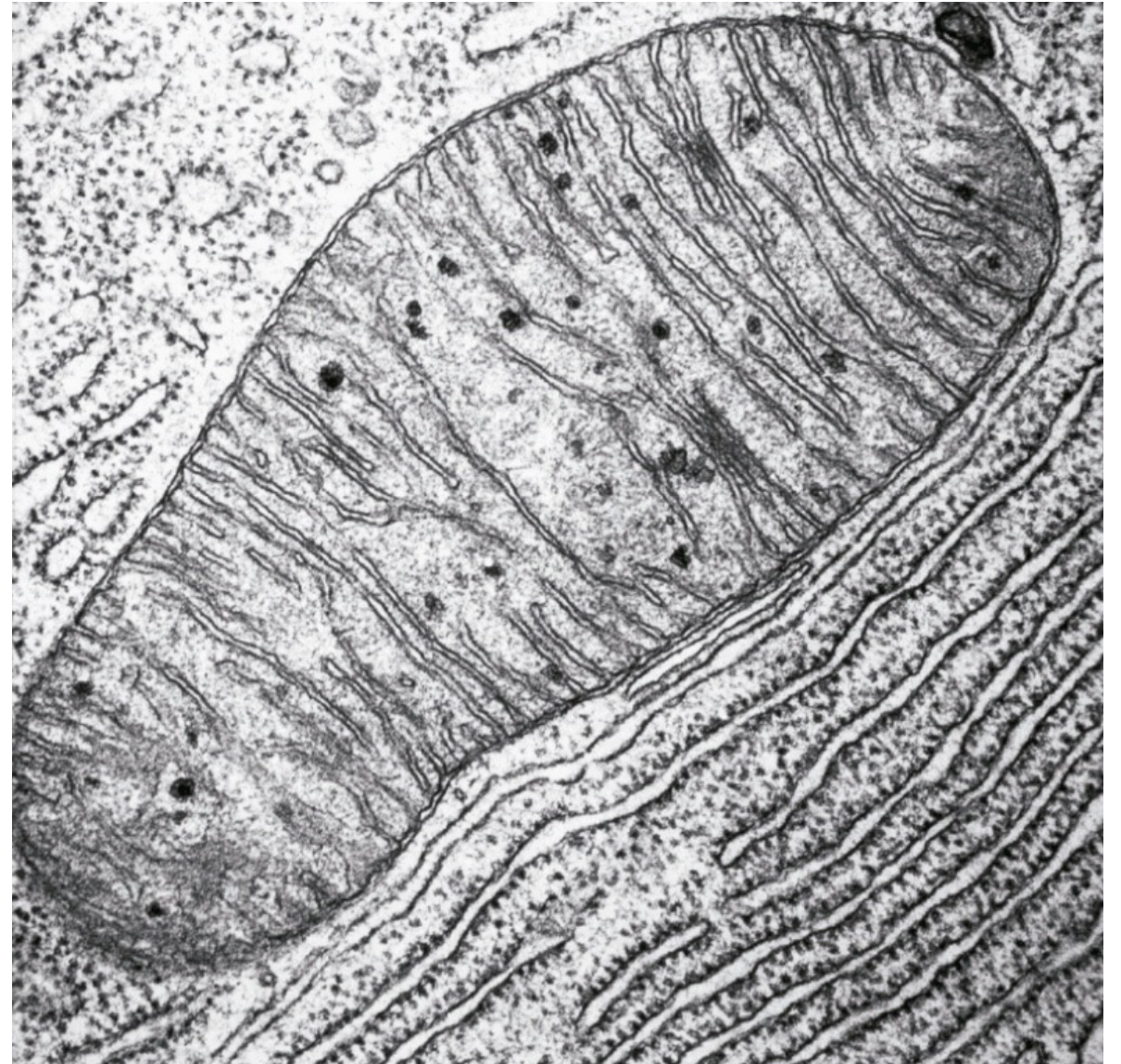
Composición y estructura

Membrana mitocondrial externa

- Continua
- Similar a la del RE (60% proteínas, 40% lípidos)
- Permeable. Gran número de **PORINAS** (PP Integrales)
- Proteínas receptoras de importación
- Complejos de importación: **TOM**

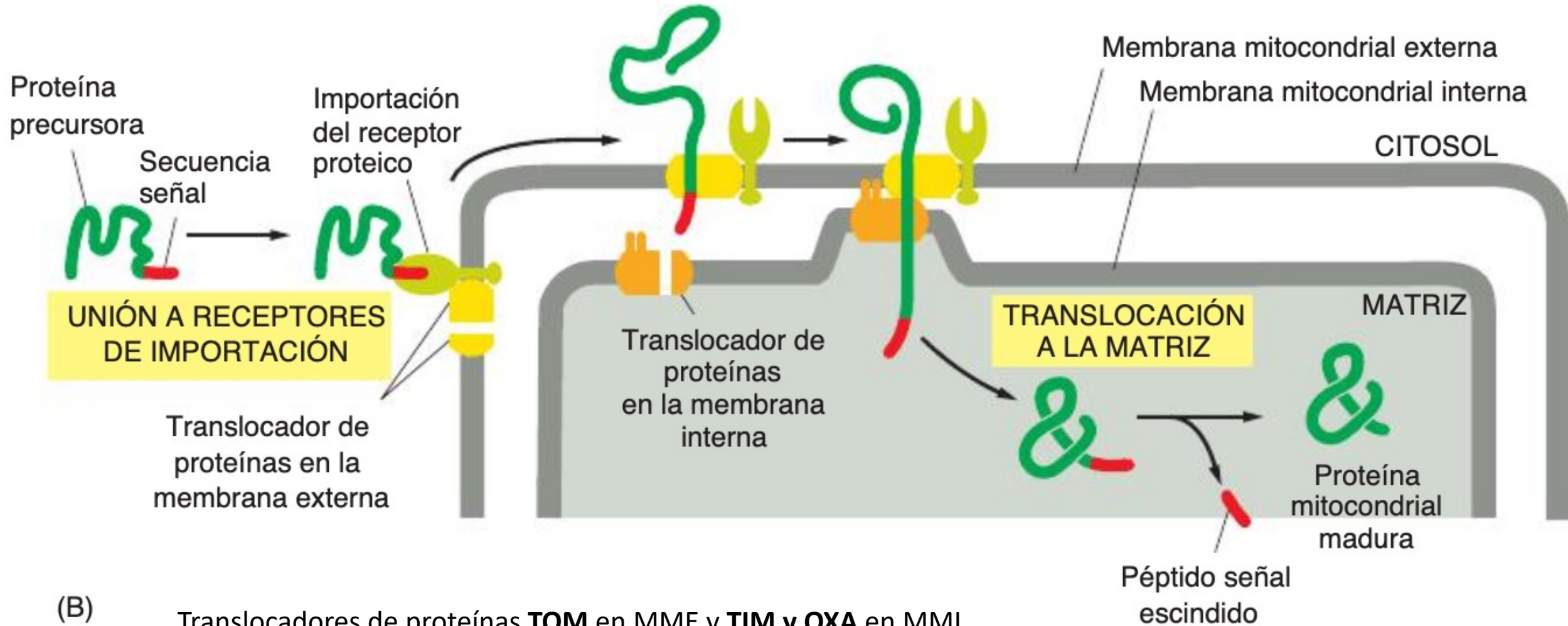
Membrana mitocondrial interna

- **Diferente** al resto de membranas biológicas.
- Forma **crestas** mitocondriales.
- **20 % de lípidos y 80% de proteínas.**
- **Menos colesterol**
- Rica en **cardiolipinas**
- Proteínas transportadoras: **TIM-OXA**
- **ATP sintasa**
- **Cadena transportadora de electrones**



Importación de proteínas en la mitocondria

Las proteínas se desenrollan para ingresar en las mitocondrias



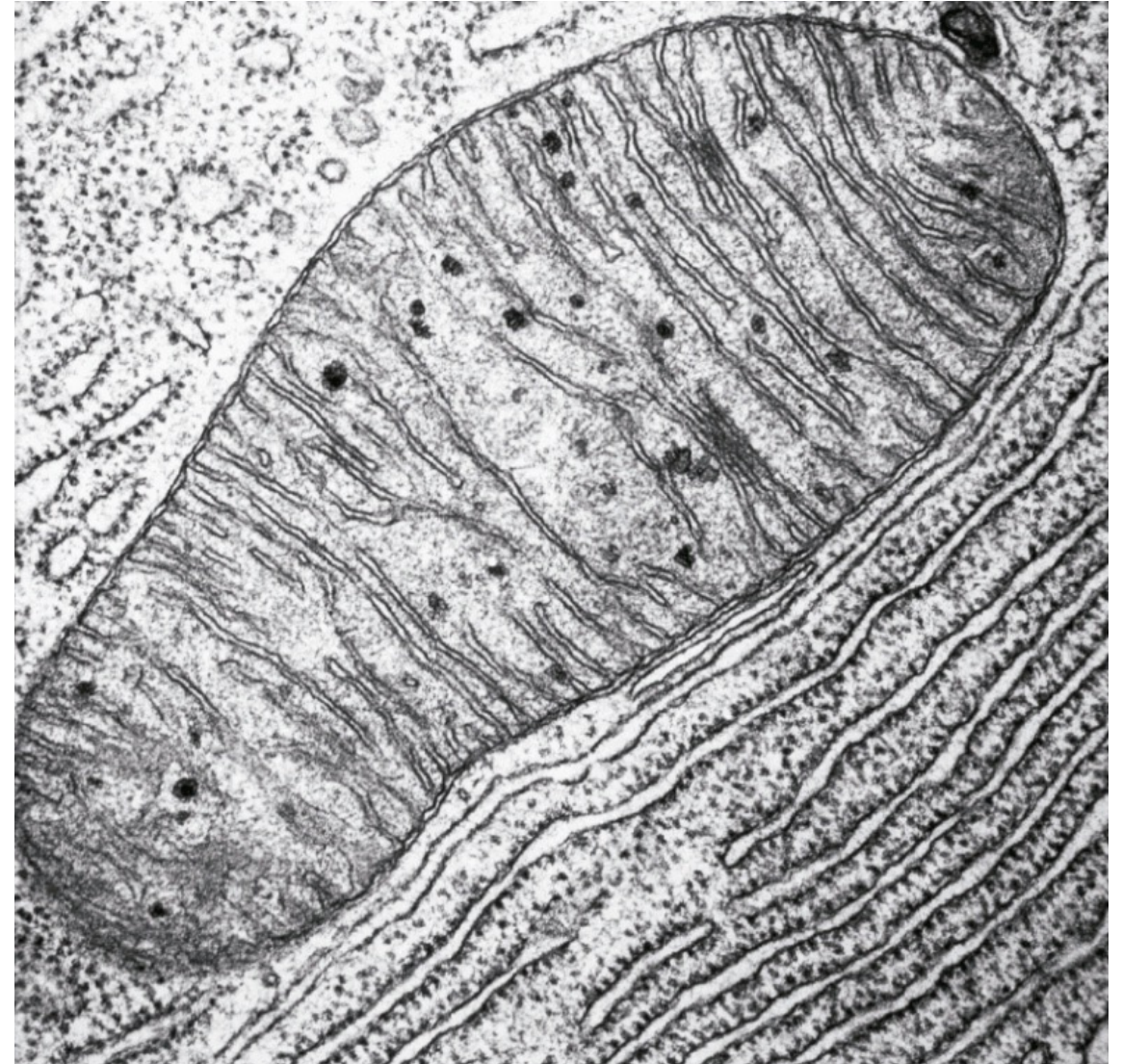
Composición y estructura

Matriz mitocondrial

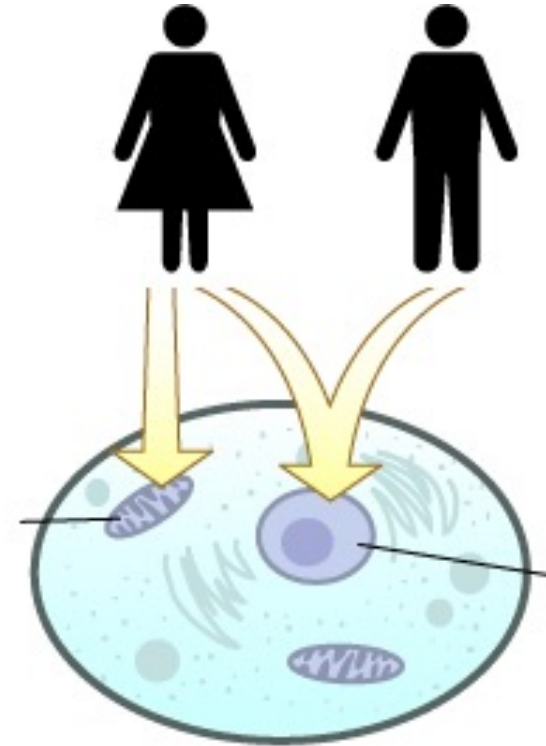
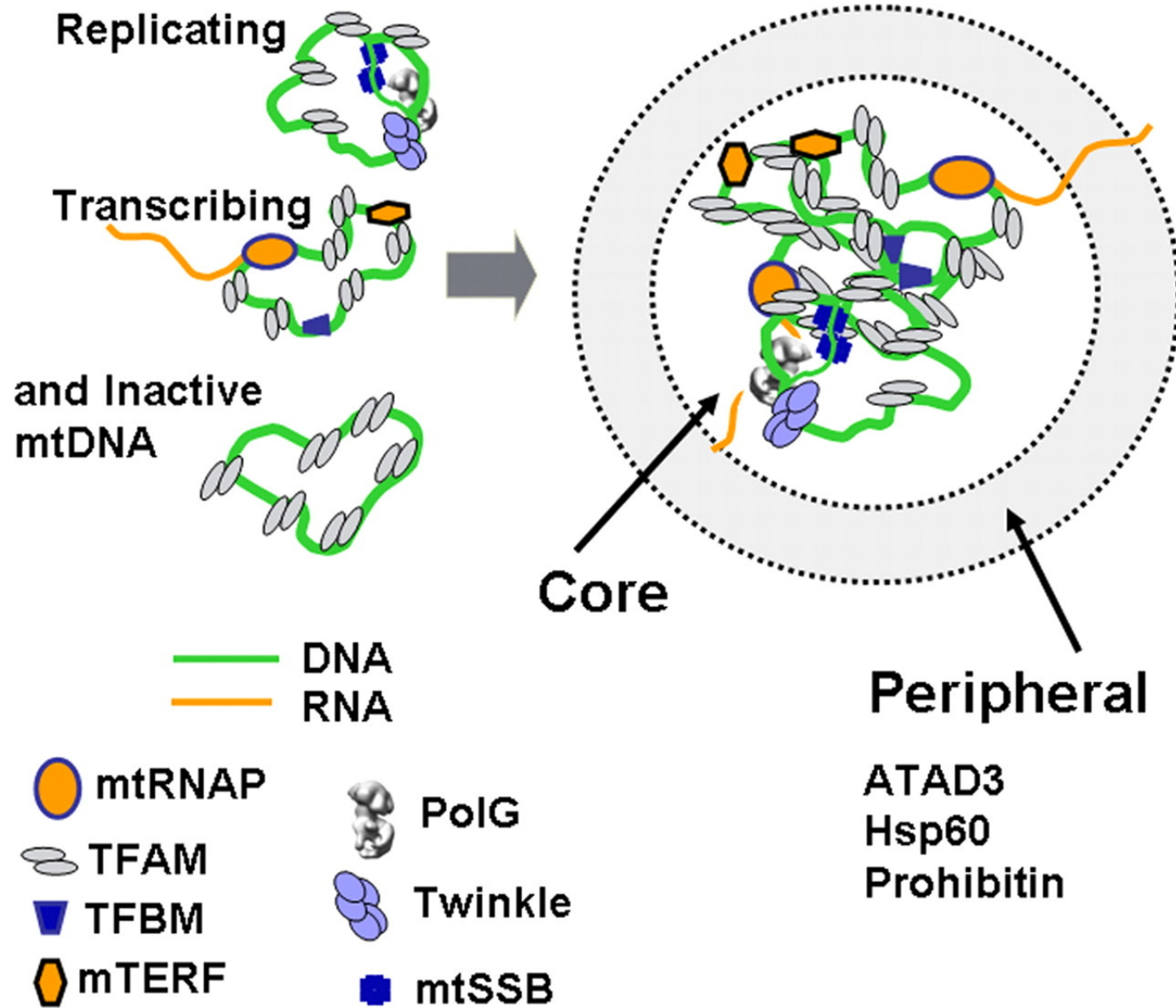
- Gel: agua (50%) y proteínas hidrosolubles (metabolismo).
- Mitorribosomas
 - 55S** (dos subunidades)
 - Síntesis de proteínas integrales
- DNA mit (circular de doble cadena)
- RNA mit (tRNA, mRNA y rRNA)
- Gránulos densos (Ca^{++} , Mg^{++})
- Enzimas
 - Ciclo de Krebs, oxidación de lípidos...

Espacio intermembranoso

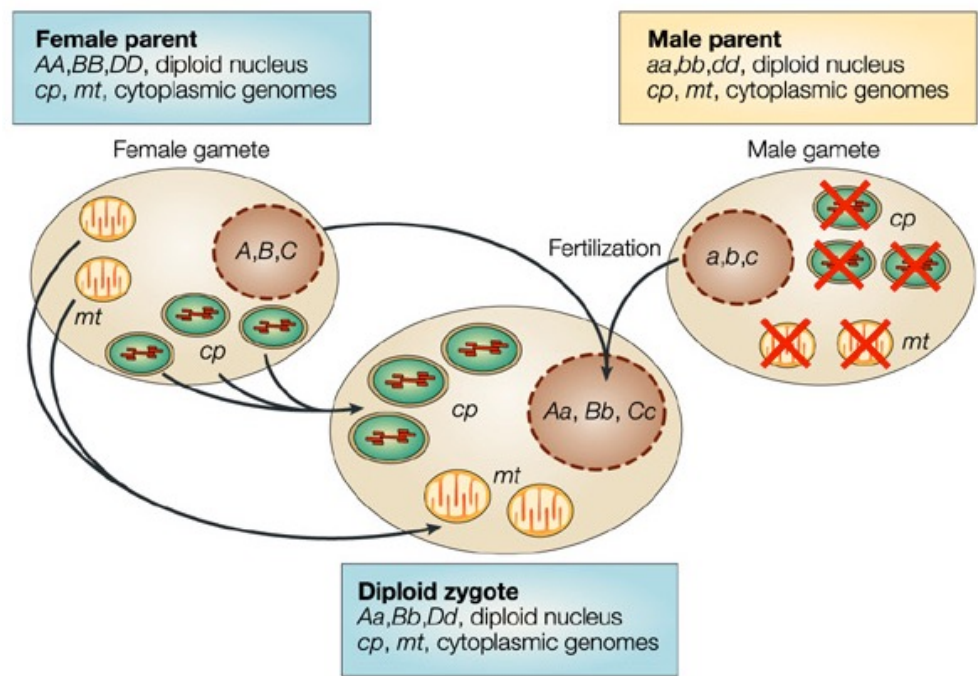
- Similar al citosol
- Rico en H^+** (cadena respiratoria)



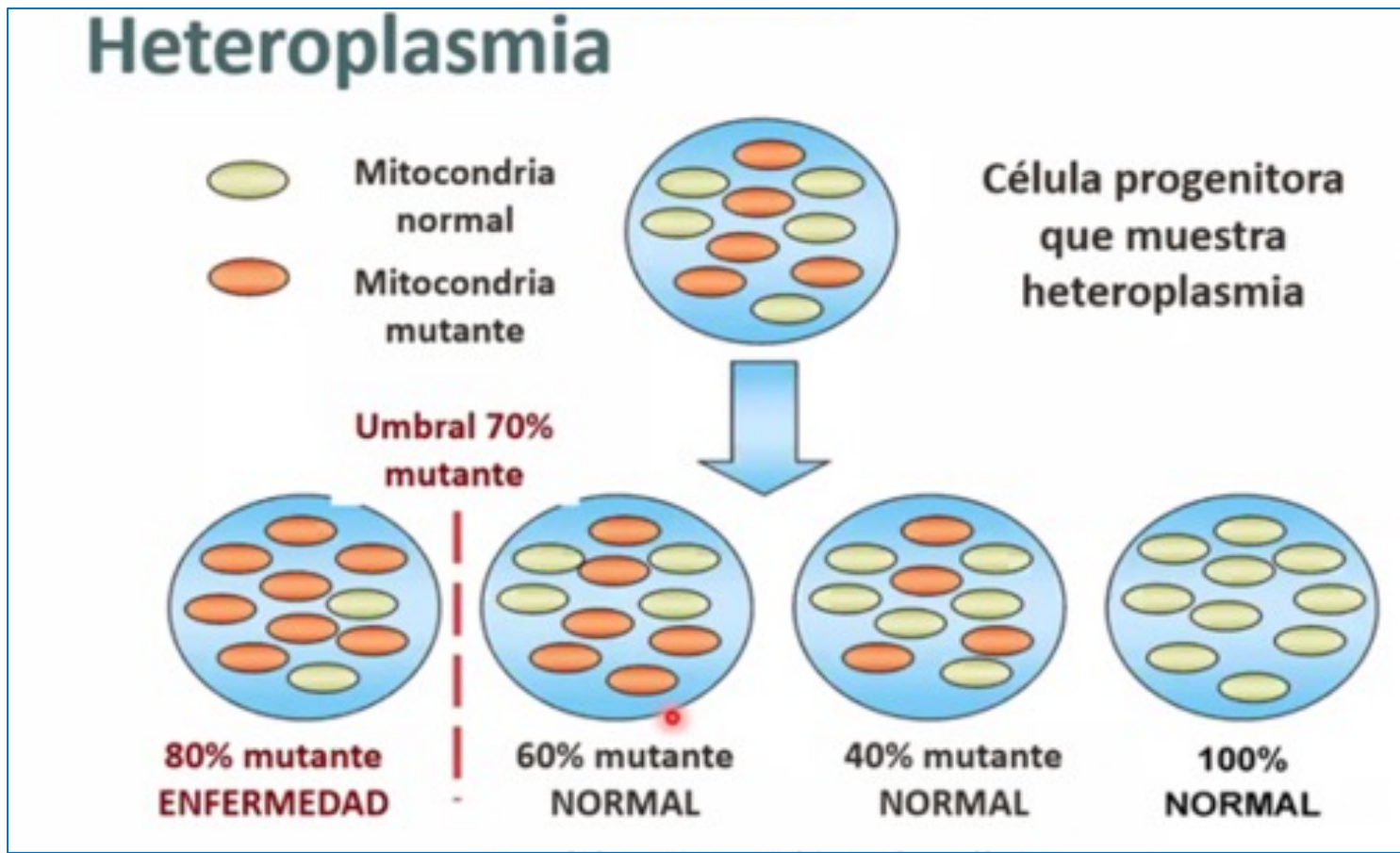
DNA mitochondrial: nucleoides



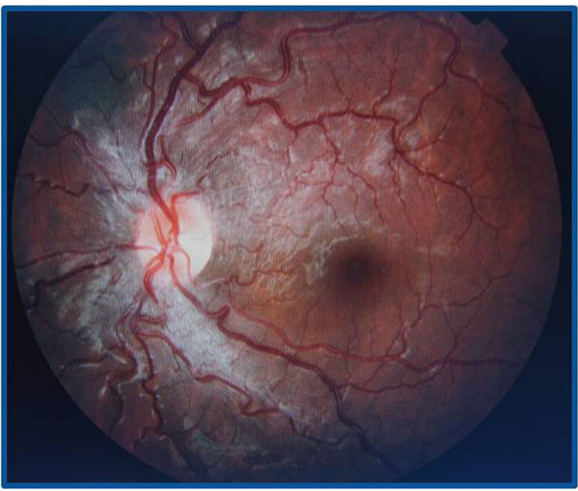
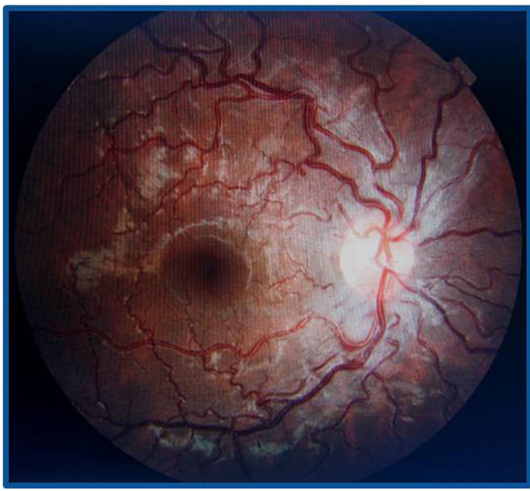
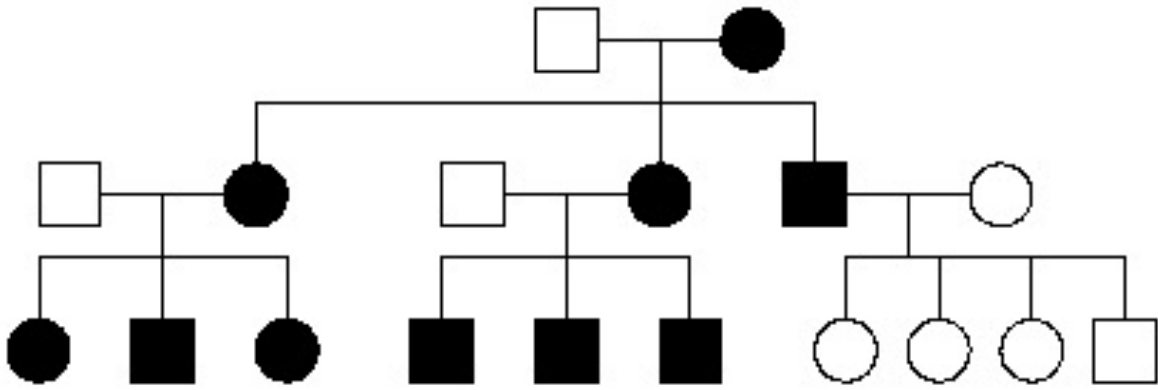
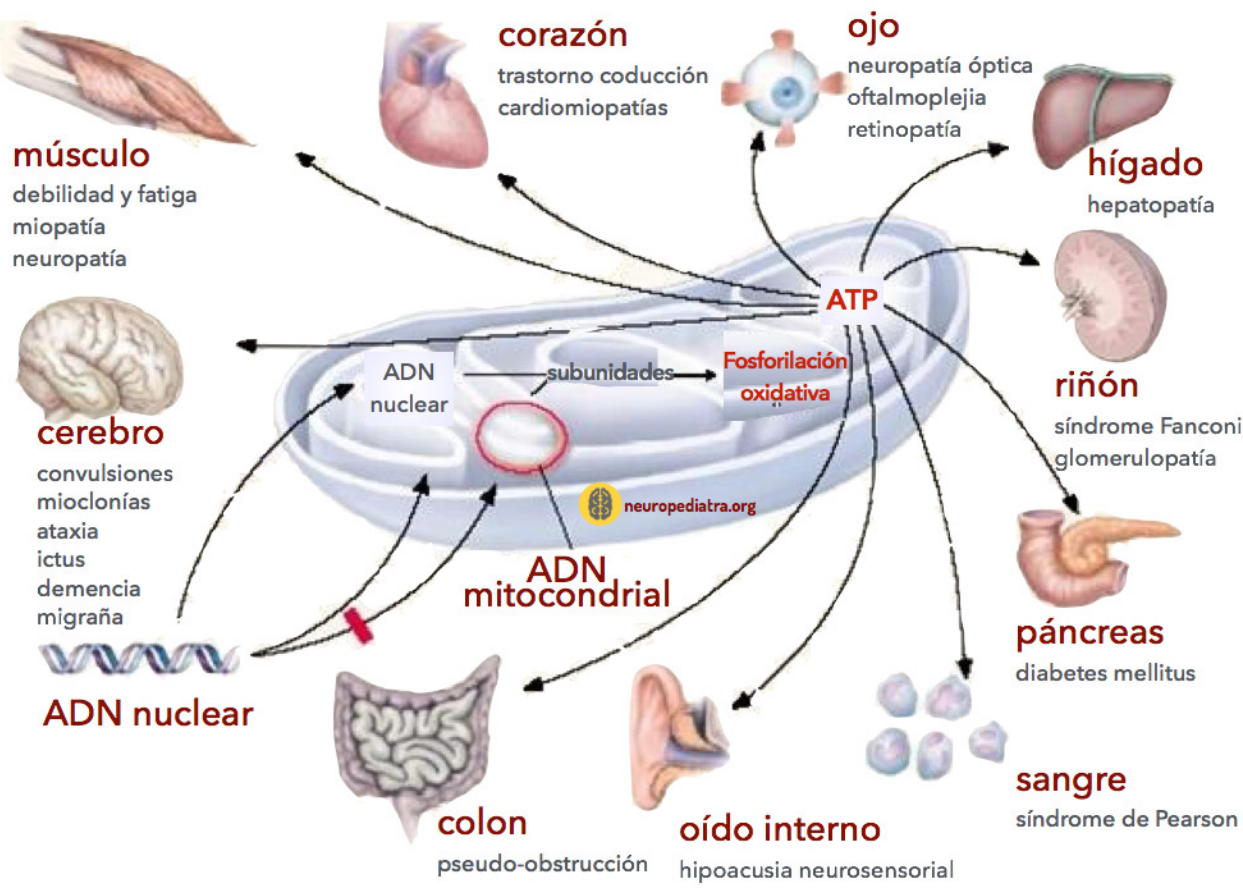
DNA mitocondrial: mutaciones



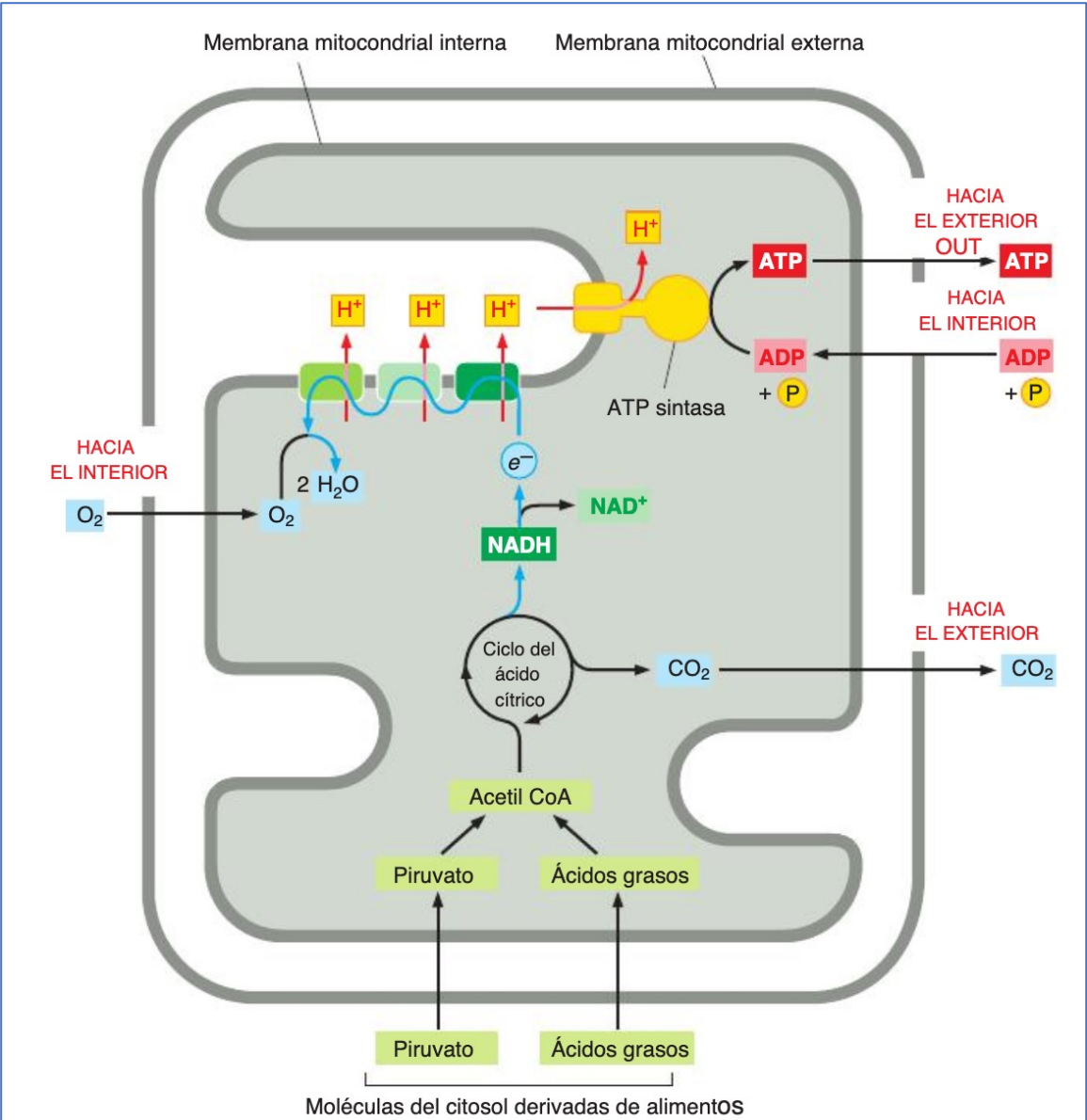
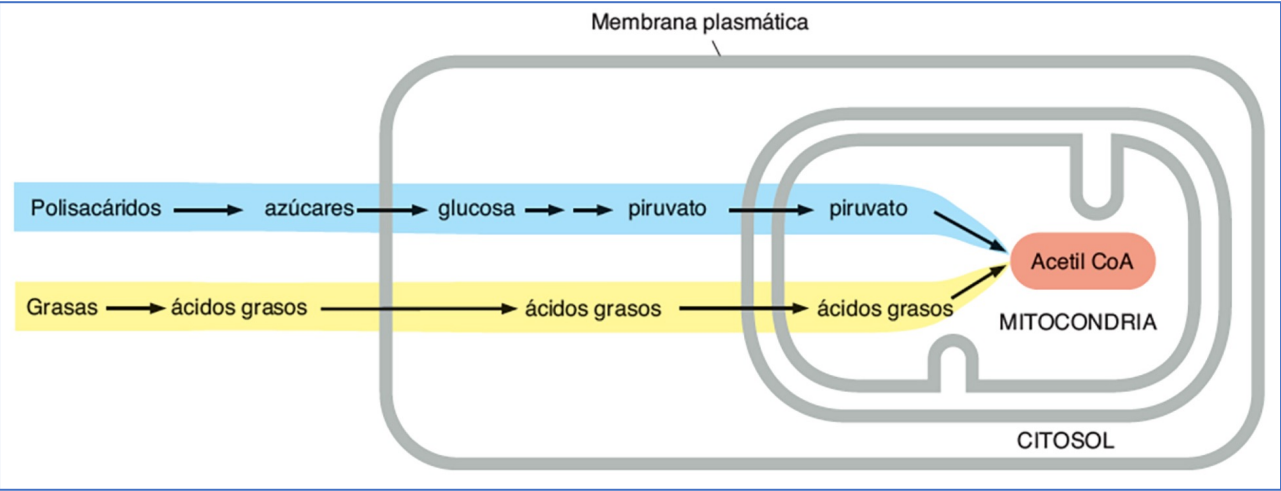
Nature Reviews | Genetics



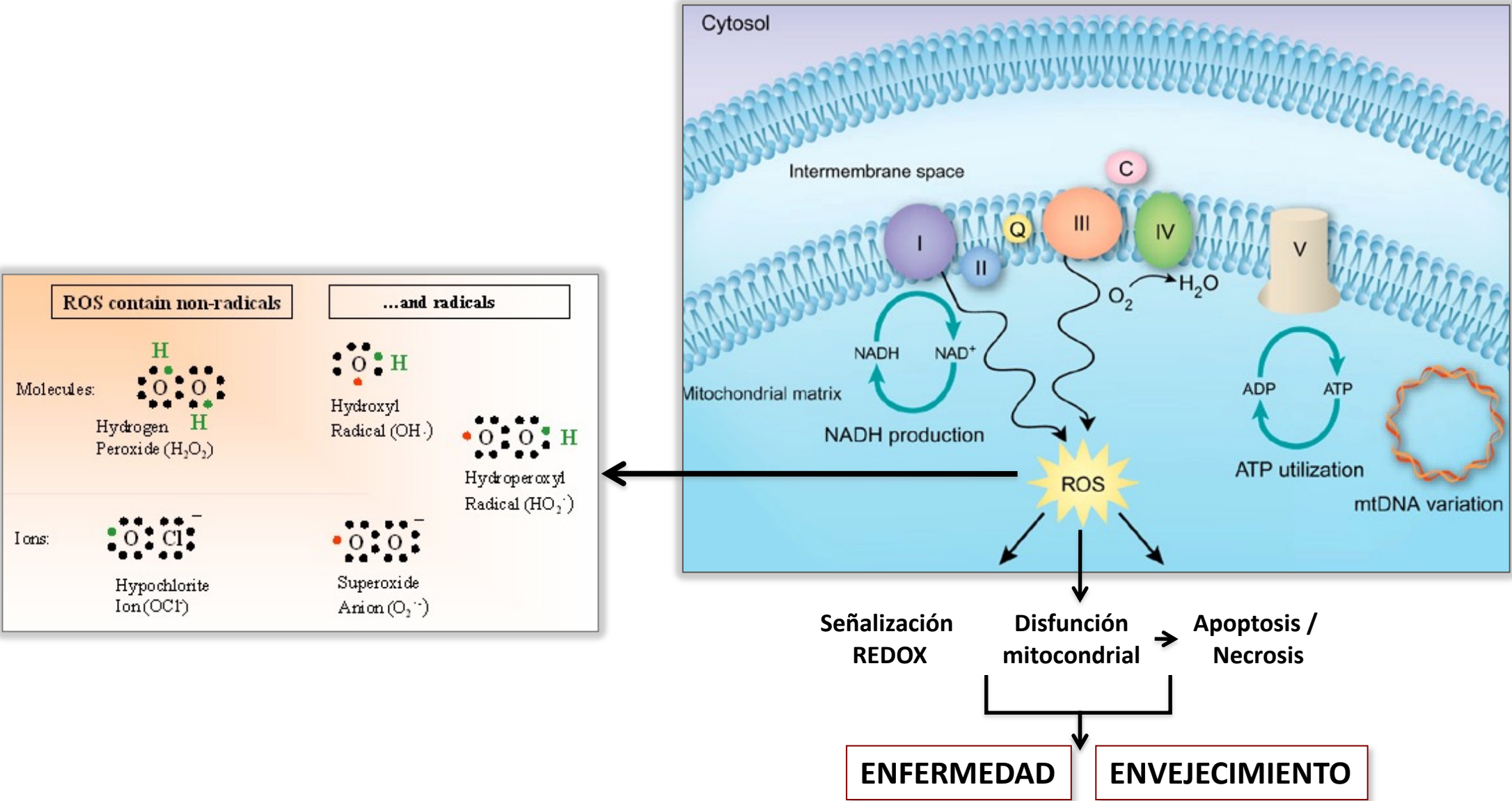
DNA mitocondrial: mutaciones



Funciones: producción de energía



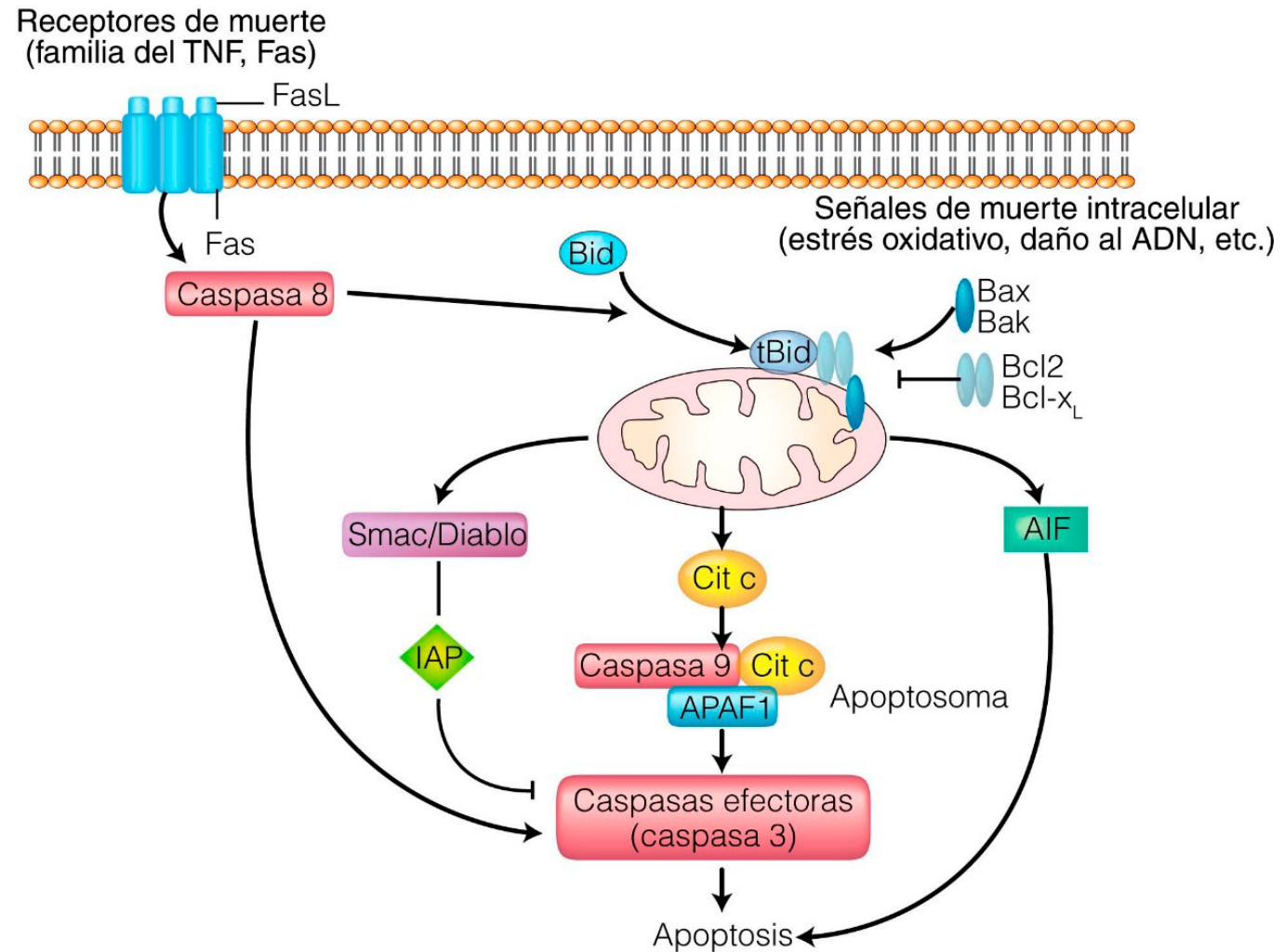
Funciones: producción de energía



Funciones: apoptosis

En la mitocondria se activa **la vía intrínseca** de la apoptosis

- En respuesta a estrés oxidativo, daños en el DNA...
- Formación de **poros en la MME** y liberación de **proteínas pro-apoptóticas**
- Se activan caspasas efectoras
- Fragmentación de numerosos sustratos
- Fragmentación del DNA



Funciones: metabolismo de lípidos y almacén de iones

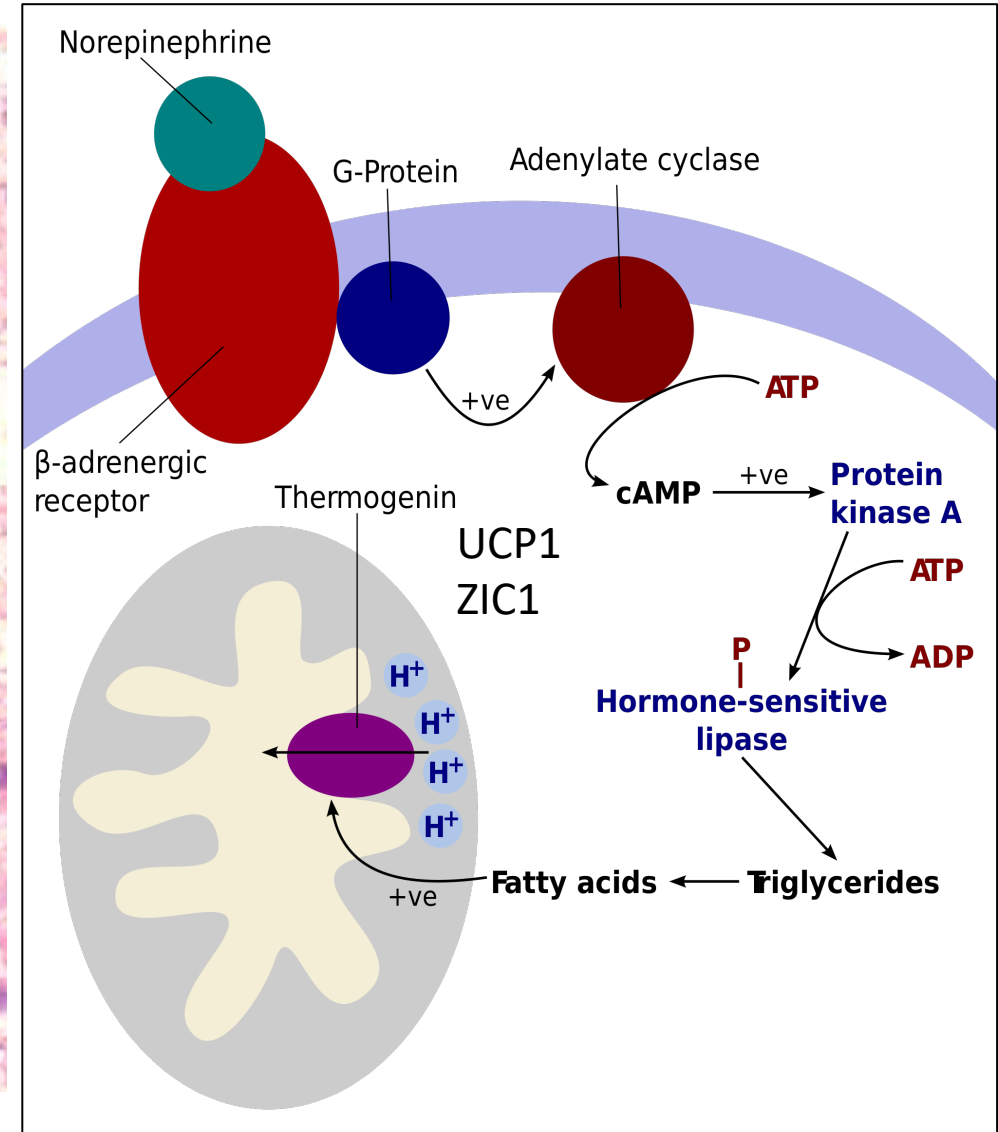
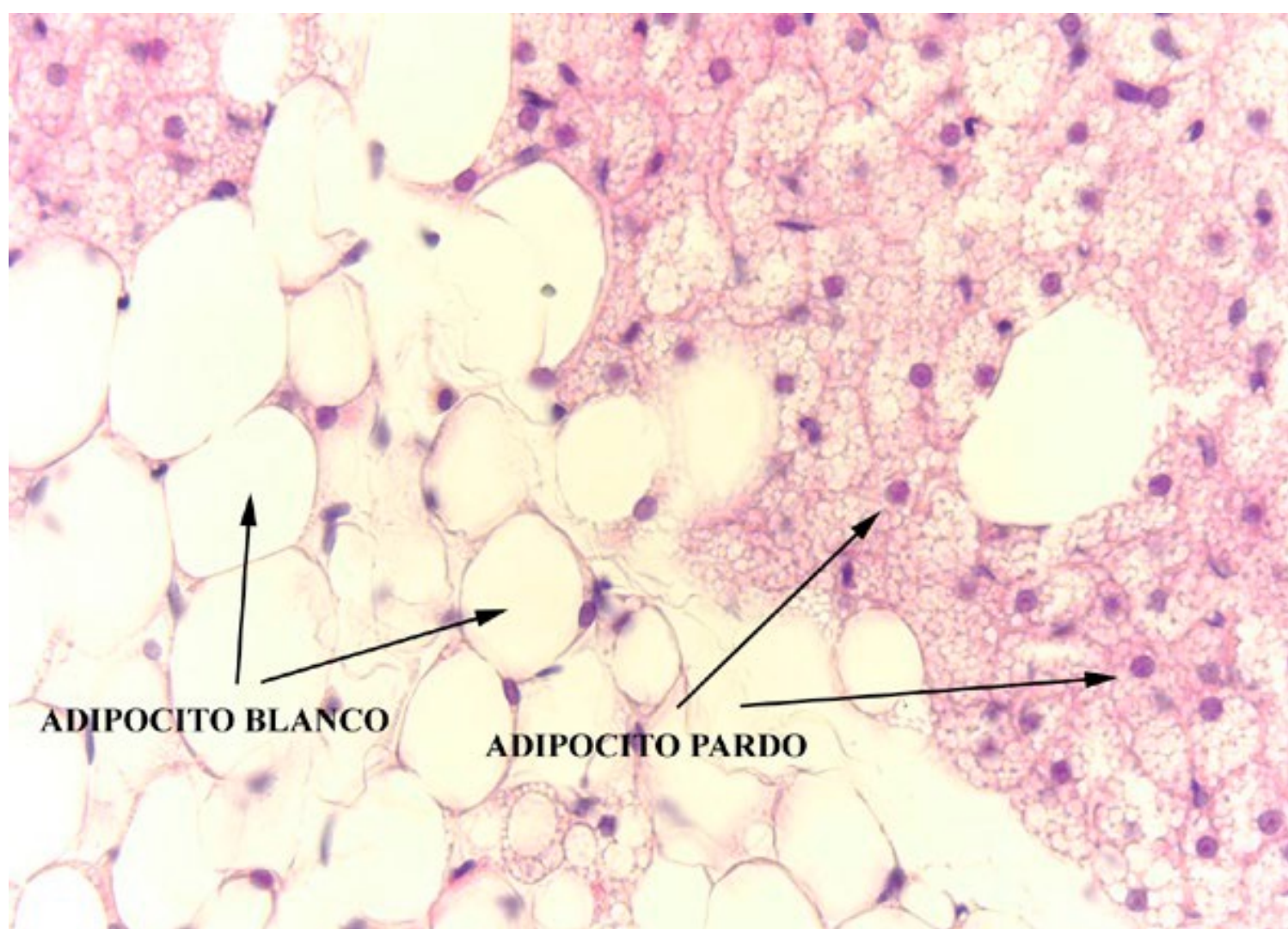
- **METABOLISMO DE LÍPIDOS:**

- β -oxidación de ácidos grasos
- Síntesis de ácido lisofosfatídico, a partir del cual se sintetizan los triacilgliceroles.

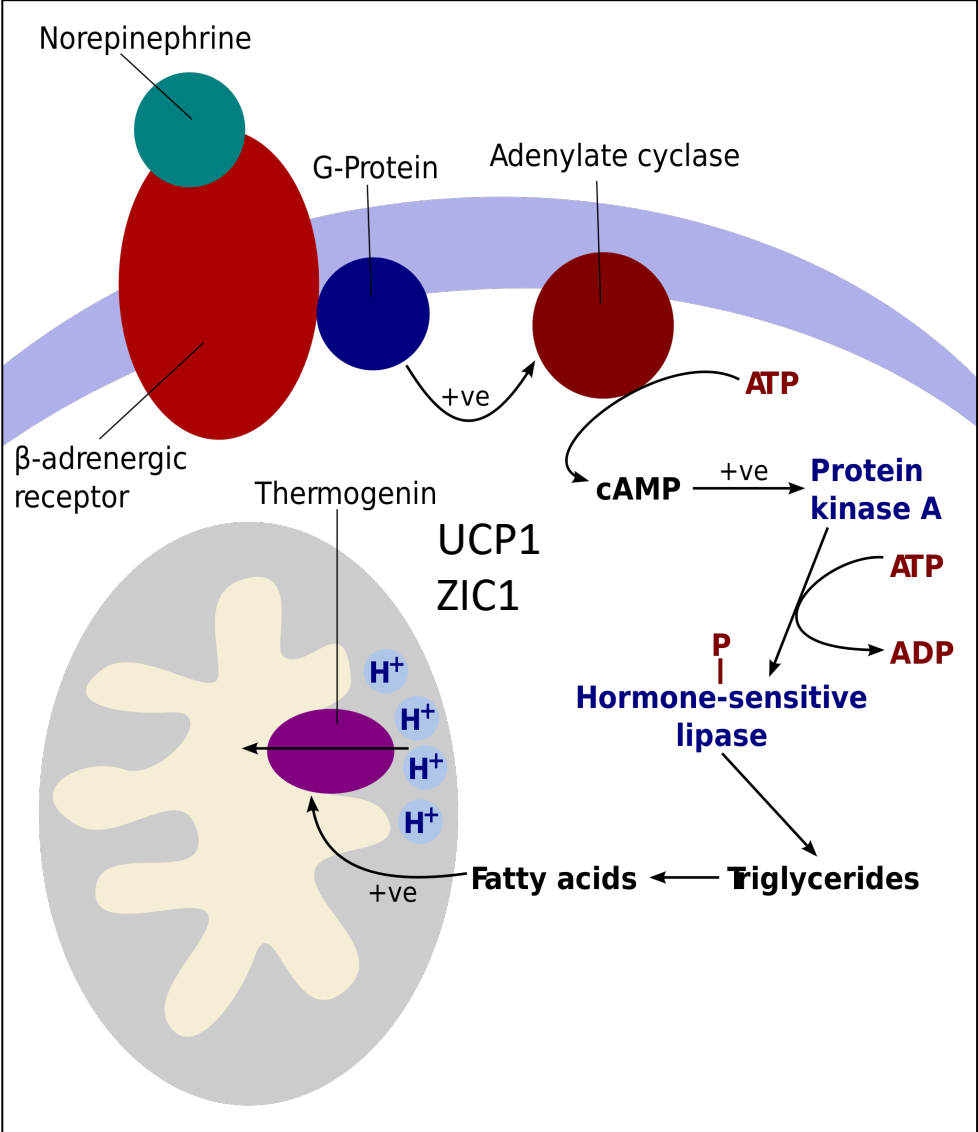
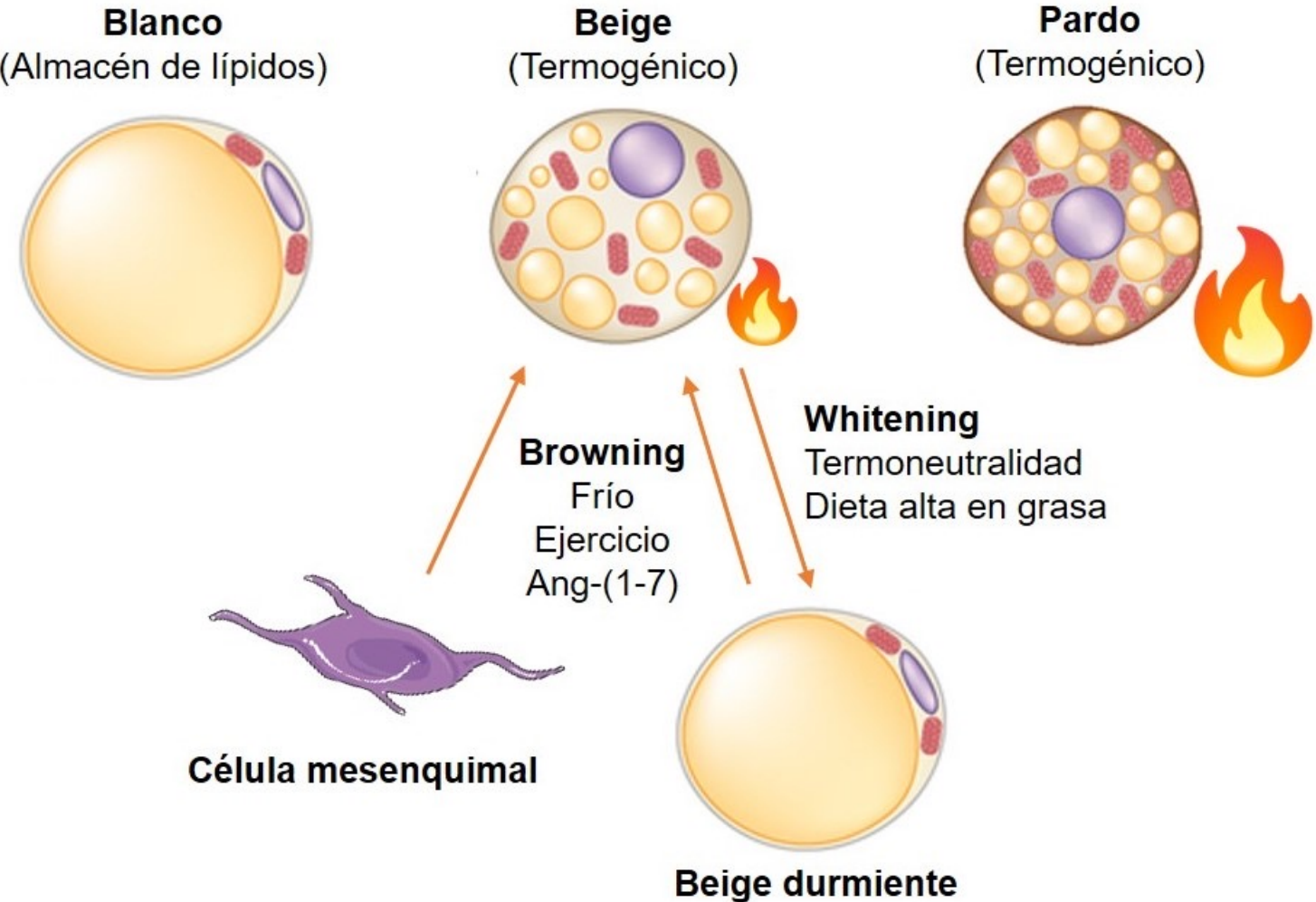
- **INCORPORACIÓN Y ALMACÉN DE IONES:**

- Incorpora y almacena cationes, principalmente Ca^{2+} , desprendiendo H^+ a cambio.
- Si se acumulan muchos iones en la matriz, se inhibe el gradiente electroquímico de entrada de protones y, por tanto, se frena la fosforilación oxidativa (mecanismo de regulación de la respiración celular).

Funciones: generar calor

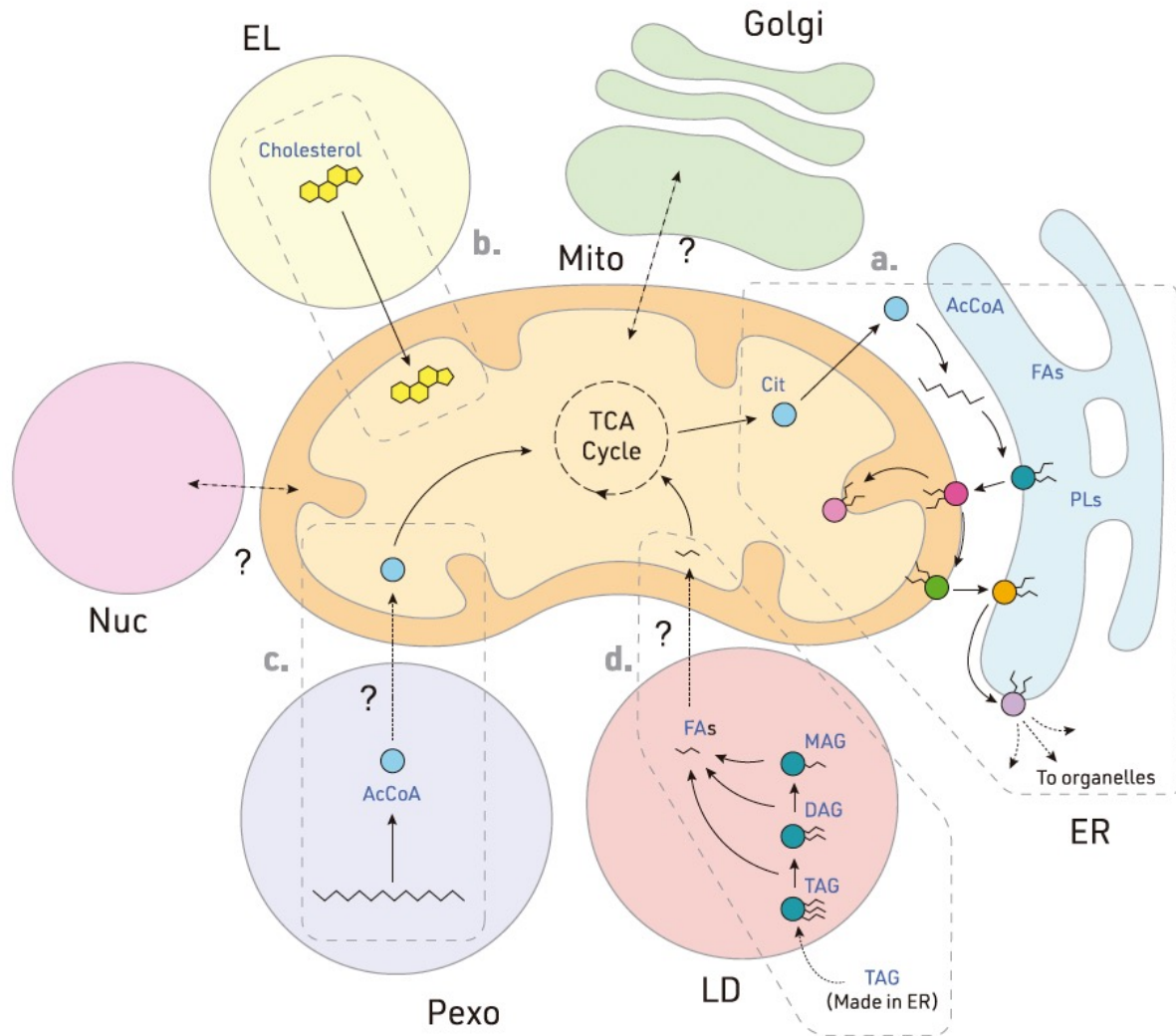


Funciones: generar calor

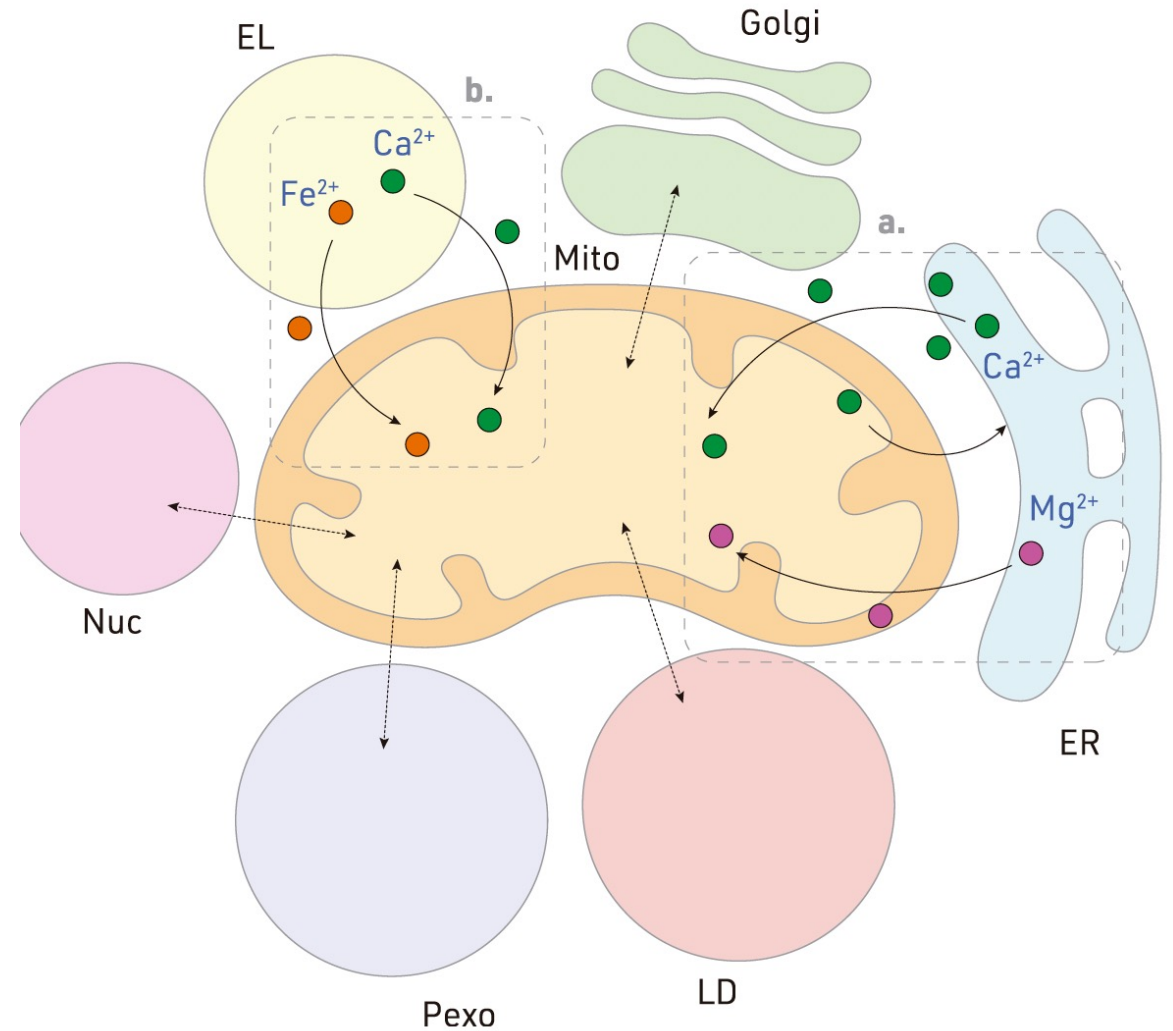


Funciones: detectar, integrar y responder a las demandas metabólicas

Lipid homeostasis



Metal and ion homeostasis





Universidad de Valladolid

Mitocondrias

Prof. Ricardo Usategui Martín

Dpto. Biología Celular, Genética, Histología y Farmacología
Facultad de Medicina
Universidad de Valladolid

ricardo.usategui@uva.es