

## LA MITOCONDRIA Y LA MUERTE CELULAR POR APOPTOSIS

**Dra. Ileana Lopategui Cabezas<sup>1</sup>, Dra. Aleida Herrera Batista<sup>2</sup>, Dr. Héctor Ruiz Candina<sup>3</sup>. Dra. Giselle Puldón Seguí<sup>4</sup>, Dra. Melvis Taylin Zumeta Dubé<sup>5</sup>**

1- Especialista de I Grado en Medicina General Integral, Especialista de Segundo Grado en Bioquímica Clínica. Profesora Auxiliar. ICBP: "Victoria de Girón". Ciudad de La Habana, Cuba.

2- Dra. en Ciencias Médicas. Especialista de Segundo Grado. Profesora Titular y Consultante de Histología. ICBP: "Victoria de Girón". Teléfono 72716492. Correo [aleidajosefa@infomed.sld.cu](mailto:aleidajosefa@infomed.sld.cu)

3- Especialista de Segundo Grado y Profesor Auxiliar de Estomatología General Integral. ICBP: "Victoria de Girón". Teléfono 72716492. Correo [Candina@infomed.sld.cu](mailto:Candina@infomed.sld.cu)

4- Máster en Ciencias. Especialista de Segundo Grado en Histología. Profesora Auxiliar. ICBP Victoria de Girón. Teléfono 72038312

5- Máster en Ciencias. Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral, Especialista de Segundo Grado en Histología; Profesora Auxiliar. ICBP Victoria de Girón.

### Resumen

**Introducción:** La apoptosis se ha relacionado con importantes procesos, como el desarrollo embrionario, la eliminación del exceso de células, de aquellas envejecidas, dañadas o de aquellas que pueden ser un peligro potencial. **Desarrollo:** Se realizó una revisión bibliográfica sobre el papel central que juega la mitocondria en la ejecución, amplificación y regulación de la apoptosis, las principales moléculas implicadas, las alteraciones morfológicas y bioquímicas que experimenta este orgánulo durante este proceso, entre ellas la liberación de proteínas desde el espacio ínter membranoso; cada una con funciones pro apoptóticas claves y destinos diferentes, la apertura del poro de

transición de permeabilidad, las alteraciones en la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  y la formación del apoptosoma en el citosol. **Conclusiones:** El conocimiento de todos los actores del proceso apoptótico y la profundización del papel exacto que ellos juegan, nos acerca al entendimiento de procesos fisiológicos y patológicos que cursan con incremento o inhibición de la apoptosis.

**Palabras clave:** Apoptosis, mitocondria, poro mitocondrial. Apoptosoma.

## **Introducción**

La apoptosis ha sido descrita como un mecanismo esencial en la órgano- génesis normal y en el desarrollo tisular, así como en funciones celulares propias de sistemas de renovación celular en organismos adultos. Este proceso preserva la homeostasis y resulta la contrapartida de la proliferación celular.<sup>1</sup>

Se considera un fenómeno biológico generalizado, que ocurre tanto en organismos multicelulares como en unicelulares. Los mecanismos de inducción de este tipo de muerte celular, los patrones morfológicos y los sistemas reguladores son básicamente los mismos en estos organismos.<sup>2</sup> Es interesante el hecho de que las moléculas implicadas en este tipo de muerte y sus mecanismos de regulación se hayan conservado durante el proceso evolutivo.

La mayoría de las células animales tienen la capacidad de autodestruirse mediante la activación de un programa suicida, cuando no son necesarias o experimentan un daño irreversible en el genoma. Este fenómeno ocurre de forma natural en diferentes tejidos a lo largo de la vida, con lo cual se garantiza la homeostasia. En el hombre, la apoptosis está relacionada con procesos que abarcan desde el desarrollo de tejidos y órganos durante la embriogénesis hasta: la regulación del recambio celular en el individuo adulto, el desarrollo y la funcionalidad del sistema nervioso, así como el control de la respuesta inmune<sup>3, 4</sup>.

También constituye un mecanismo de defensa para eliminar células potencialmente peligrosas, como aquellas que han sido infectadas por virus o células que presentan alteraciones genéticas, incluyendo las células tumorales.<sup>5</sup>

## Desarrollo

### *La mitocondria y la apoptosis*

La Mitocondria juega un papel central en diversas funciones celulares, como son: la producción de energía, la modulación del estado redox, el balance osmótico, la regulación y homeostasis de  $\text{Ca}^{2+}$  y la comunicación entre los organelos. Además, interviene en la respuesta celular ante múltiples y variadas situaciones de estrés fisiológico y genético, así como en complejos procesos, como la proliferación celular y la senescencia<sup>6, 7</sup>.

Existen dos vías de señalización reconocidas que conducen a la muerte de la célula por apoptosis: la vía extrínseca a partir de señales provenientes de la superficie de celular, donde se localizan los receptores de muerte, y la vía intrínseca generada en el interior de la célula por estímulos intracelulares estresantes. En ambos casos la mitocondria juega un papel central en la ejecución, amplificación y regulación de este proceso. Este organelo también está implicado en otras formas de muerte celular.<sup>5, 7</sup> Cuando un estímulo celular estresante rompe el equilibrio muerte/supervivencia a favor de la primera, son muchos los cambios fisiológicos y estructurales que experimenta la mitocondria en dependencia de la intensidad y persistencia del estímulo. Estas alteraciones pueden llevar a la célula a un punto llamado de "no retorno" en su camino a la muerte y se produce, desde el espacio intermembranoso hacia el citosol, la liberación de proteínas con funciones proapoptóticas claves como: citocromo c (cit c)<sup>8, 9</sup> factor inductor de apoptosis (AIF),<sup>8</sup> endonucleasa G (Endo G),<sup>11</sup> HtrA2/Omi, del inglés *High temperature requirement A2*<sup>12</sup> y SMAC/Diablo, del inglés *Second Mitochondriaderived Activator of Caspase/Direct IAP binding protein with low pI*.<sup>13</sup> AIF y Endo G, una vez liberadas al citosol, se trasladan al núcleo celular y favorecen la expresión de moléculas proapoptóticas.<sup>14</sup> Omi y SMAC/Diablo se unen en el citosol con proteínas inhibidoras de apoptosis (IAP),<sup>15</sup> lo que provoca que estas últimas no ejerzan su acción inhibidora<sup>16</sup> y favorecen, por tanto, la apoptosis celular. AIF también induce directamente la activación de caspasas.<sup>8</sup> Cit c, una vez en el citosol, dispara la formación del apoptosoma al unirse con el factor activador de proteínas apoptóticas (APAF 1), ATP y procaspasa 9. APAF 1 y procaspasa 9 interaccionan por sus dominios CARDS, lo que lleva al procesamiento de esta última y dan lugar a su forma activa: la

caspasa 9. Una vez que ha adquirido su forma activa provoca la proteólisis a nivel de los grupos aspartatos de las caspasas efectoras 3, 6 y 7.<sup>14</sup>

Las caspasas efectoras activadas son capaces de hidrolizar proteínas estructurales del citoesqueleto y del núcleo celular como actina, láminas A y B, gelsolina, entre otras, y proteínas relacionadas con la reparación, replicación y transcripción del ADN, como poli-ADP-ribosa polimerasa (PARP). Estas cascadas de reacciones conducen finalmente a la muerte celular, es decir, que a nivel de la mitocondria existe un punto de amplificación en la vía apoptótica.<sup>8</sup>

Por otra parte, la señal de muerte también puede llegar a la mitocondria proveniente de los receptores de muerte de membrana plasmática como el FAS, TNFR, entre otros, a través de Bid, proteína de la familia Bcl-2, que al ser procesada por la caspasa 8 es escindida y su fragmento c-terminal (tBid) actúa sobre la mitocondria, para facilitar la salida del Cit c.<sup>11</sup>

El tamaño de las moléculas que se vierten al citosol en algunos casos excede el diámetro del poro de la membrana mitocondrial externa (MME). Alguna forma alternativa de aumento de la permeabilización de la MME es obligatoria para su liberación.<sup>17</sup>

Se han propuesto varios modelos para explicar el aumento de la permeabilidad de la MME. Estos modelos no son necesariamente exclusivos, y existe la posibilidad de coexistir diferentes mecanismos o combinaciones de ellos, dependiendo de las condiciones y del tipo celular. En general, los mecanismos principales son dos: el primero es el modelo de permeabilización de la MME directo, en el cual las proteínas proapoptóticas de la familia Bcl-2, como Bax y Bak, promueven directa o indirectamente la apertura de poros en la MME, suficientemente amplios como para permitir la canalización de las proteínas apoptogénicas. El otro modelo es el de transición de permeabilidad (PT) donde la apertura de la MME y el descargo de los componentes del espacio intermembranoso es seguido de la apertura del poro de transición de permeabilidad (PTP), canal formado en la membrana mitocondrial interna (MMI).<sup>15</sup>

La apertura prolongada del PTP provoca pérdida de la estructura en forma de crestas de la MMI con expansión de la matriz mitocondrial. La consecuencia primaria de la apertura prolongada del PTP es la despolarización mitocondrial debido al equilibrio en el

gradiente de protones, es decir, falla el mantenimiento del potencial de membrana. La pérdida de la distribución asimétrica de protones y otros iones en ambas caras de la MMI trae consigo la disipación del gradiente eléctrico y químico necesario. A nivel de la cadena de transporte de electrones ocurre un desacople con caída en la producción de ATP y la producción excesiva de especies reactivas del oxígeno, y finalmente la inhibición de la respiración. Se produce liberación masiva de ión  $\text{Ca}^{2+}$  de la matriz e hinchazón de esta, determinada por la presión coloidal y osmótica aplicada. Como consecuencia las propias crestas sin restricción causan las brechas en la MME y la salida de las proteínas del espacio intermembranoso al citosol.<sup>18</sup> Los componentes de ambas membranas se acoplan para formar poros en este punto de contacto, lo cual permite que pasen moléculas de peso igual a 1,5 kD.<sup>5</sup>

La opinión de los autores sobre la composición molecular del PTP es controvertida; no obstante y apoyados en variados métodos de estudio molecular, se acepta que proteínas como el traslocador de nucleótidos de adenina de la MMI (ANT), del inglés *Adenine Nucleotide Translocator*<sup>16</sup>, el canal aniónico dependiente de voltaje (VDAC), del inglés *Voltage-Dependent Anion Channel*,<sup>17</sup> y la ciclofilina D de la matriz (CyP-D) forman parte de la estructura del PTP.<sup>18</sup> Otras proteínas adicionales están presentes y juegan un importante papel en la regulación del PTP, pero no son consideradas parte de la estructura de este; en este caso están los miembros pro y anti apoptóticos de la familia Bcl-2, como por ejemplo, Bak y Bcl-XL.<sup>19</sup>

Las proteínas de la familia Bcl-2 participan en el control y regulación de la apoptosis, las cuales se caracterizan por la presencia en su estructura de, al menos, una de las cuatro secuencias (BH1-BH4). El dominio BH3 está relacionado con la función pro apoptótica. Las proteínas pueden formar homodímeros y heterodímeros y se agrupan en tres subfamilias: la subfamilia antiapoptótica (entre ellas Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1, Bfl-1, A1, Bcl-w, BRAG-1 y otras), la subfamilia de proteínas proapoptóticas (Bax y Bak) y las proteínas proapoptóticas con un único dominio BH3 (Bid, Bim, Bad y otras). Las proteínas proapoptóticas pueden producir poros por sí solas en liposomas, lo que indica que probablemente son suficientes para formar el poro mitocondrial que permite la liberación del citocromo C.<sup>20</sup> Las proteínas de la familia Bcl-2 son los reguladores más importantes del proceso de apoptosis.<sup>12</sup>

La proteína proapoptótica Bax y quizás Bak y Bid pueden regular la apertura del PTP por interacción con ANT; sin embargo, Bcl-2 y Bcl-XL antagonizan este efecto e inhiben la formación del poro como un complejo. Bax y Bcl-XL pueden interactuar con VDAC para abrir y cerrar el PTP respectivamente. A pesar de esto el papel de ANT y VDAC en el ensamblaje de PTP aún genera amplia controversia.<sup>18,21</sup>

La liberación de Cit C al citosol, evento crucial en el proceso apoptótico, está favorecida por la interacción heterodimérica de miembros de la familia Bcl-2; por ejemplo, la que forman Bax y Bak. Las proteínas de muerte con dominio único BH3 (ejemplo Bid) inducen oligomerización Bax/Bak en la MME, para resultar en activación de Bax y permeabilización de la MME.<sup>21, 22</sup>

### *Consideraciones finales*

La mitocondria tiene un papel central en la apoptosis. Durante este evento son muchos los cambios morfológicos y bioquímicos que sufre el organelo y numerosas familias de moléculas interactúan para ejecutar, amplificar y regular el proceso.

La disfunción mitocondrial dependiente de la formación del PTP con alteraciones de la regulación en la homeostasis del  $Ca^{2+}$  se ha estudiado y relacionado en más de 40 enfermedades humanas, incluyendo los procesos de isquemia reperusión, lesiones cardíacas, isquemia y traumatismos cerebrales, distrofia muscular causada por deficiencia de colágeno VI, enfermedades neurodegenerativas, hepatotoxicidad por acetaminofén y hepatopatías.<sup>23-29</sup>

La sobrecarga de  $Ca^{2+}$  ha sido relacionada con el daño celular en muchos tipos de tejidos. En las neuronas, por ejemplo, la neurotoxicidad inducida por glutamato está asociada con un incremento prolongado de  $Ca^{2+}$  y se plantea que la acumulación excesiva de este ión en el citosol produce pérdidas neuronales severas.<sup>24</sup>

### **Conclusiones**

El conocimiento de todos los actores del proceso apoptótico y la profundización del papel exacto que ellos juegan en este importante evento nos acerca al entendimiento de procesos fisiológicos y patológicos que cursan con incremento o inhibición de la apoptosis. Esto permite, además, un acercamiento a la creación de alternativas de tratamiento que tengan como blancos terapéuticos alguna de estas moléculas.

## Referencias bibliográficas

1. Burgess DJ. Apoptosis: Refined and lethal. *Nat Rev Canc.* 2013; 13:79–9. [\[PubMed\]](#)
2. Fernández-Presas A. Apoptosis en protozoarios y en la célula huésped inducida por protozoarios. *RevMex Patol Clín.* 2000; 47:2.
3. [Douglas R. Green](#), [Thomas Ferguson](#), [Laurence Zitvogel](#), and [Guido Kroemer](#). Immunogenic and tolerogenic cell death. *Nat Rev Immunol.* 2009 May; 9(5): [353](#).
4. [AgataKubicka-Sierszen](#) and [Janina Ł. Grzegorzcyk](#). The influence of infectious factors on dendritic cell apoptosis. *Arch Med Sci.* 2015 Oct 12; 11(5): 1044–1051.
5. Pardo Abreu G, Hernández Casaña P, Delgado Hernández R. La apoptosis y la senescencia celular: mecanismos supresores de tumores. *Rev Cubana med.* 2005;44:1-2.
6. Wang X. The expanding role of mitochondria in apoptosis. *Genes Dev.* 2001; 15:292233.
7. Heath-Engel HM, Shore GC. Mitochondrial membrane dynamics, cristae remodelling and apoptosis. *BiochimBiophysActa.* 2006; 1763:54960.
8. Orrenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4:55265.
9. Saelens X, Festjens N, Walle LV, van Gurp M, van Loo G, Vandenabeele P. Toxic proteins released from mitochondria in cell death. *Oncogene.* 2004; 23:286174.
10. Scorrano L, Korsmeyer SJ. Mechanisms of cytochrome c release by proapoptotic BCL-2 family members. *BiochemBiophys Res Commun.* 2003; 304:43744.
11. Yang J, Liu X, Bhalla K, Kim CN, Ibrado AM, Cai J, et al. Prevention of apoptosis by Bcl-2: Release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science.* 1997;275:112932.
12. Susin SA, Zamzami N, Castedo M, Hirsch T, Marchetti P, Macho A, et al. Bcl-2 inhibits the mitochondrial release of an apoptogenic protease. *J Exp Med.* 1996; 184:133141.

13. Li LY, Luo X, Wang X. Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature*. 2001; 412:959.
14. Suzuki Y, Imai Y, Nakayama H, Takahashi K, Takio K, Takahashi R. A serine protease, HtrA2, is released from the mitochondria and interacts with XIAP, inducing cell death. *Mol Cell*. 2001;8:61321.
15. Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell*. 2000; 102:3342.
16. Schwarz M, Andrade-Navarro MA, Gross A. Mitochondrial carriers and pores: Key regulators of the mitochondrial apoptotic program? *Apoptosis*. 2007; 12:86976.
17. Rasola A, Bernardi P. The mitochondrial permeability transition pore and its involvement in cell death and in disease pathogenesis. *Apoptosis*. 2007;2:81533.
18. Belzacq AS, Vieira HL, Kroemer G, Brenner C. The adenine nucleotide translocator in apoptosis. *Biochimie*. 2002;84:16776.
19. Shoshan-Barmatz V, Israelson A, Brdiczka D, Sheu SS. The voltage-dependent anion channel (VDAC): function in intracellular signalling, cell life and cell death. *Curr Pharm Des*. 2006;12:224970.
20. Halestrap AP, Davidson AM. Inhibition of Ca<sup>2+</sup>(+)-induced large-amplitude swelling of liver and heart mitochondria by cyclosporin is probably caused by the inhibitor binding to mitochondrial-matrix peptidyl-prolylcis-trans isomerase and preventing it interacting with the adenine nucleotide translocase. *Biochem J*. 1990;268:15360.
21. YoshihideTsujiimoto, Shigeomi Shimizu. Role of the mitochondrial membrane permeability transition in cell death. *Apoptosis*. 2007;12:83540.
22. Lalier L, Franc P, Cartron O, Juin P, Nedelkina S, Manon S, et al. Bax activation and mitochondrial insertion during apoptosis. *Apoptosis*. 2007; 12:88796.
23. Wei MC, Zong WX, Cheng EH, Lindsten T, Panoutsakopoulou V, Ross AJ, et al. Proapoptotic BAX and BAK: A requisite gateway to mitochondrial dysfunction and death. *Science*. 2001;292:72730.

24. Kinnally KW, Antonsson B. A tale of two mitochondrial channels, MAC and PTP in apoptosis. *Apoptosis*. 2007;12:85768.
25. Verrier F, Deniaud A, Lebras M, Metivier D, Kroemer G, Mignotte B, et al. Dynamic evolution of the adenine nucleotide translocase-interactome during chemotherapy-induced apoptosis. *Oncogene*. 2004;23:804964.
26. Brenner C, Grimm S. The permeability transition pore complex in cancer cell death. *Oncogene*. 2006;25:474456.
27. Korenaga M, Okuda M, Otani K, Wang T, Li Y, Weinman SA. Mitochondrial dysfunction in hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*. 2005;39:S162S166.
28. Masubuchi Y, Suda C, Horie T. Involvement of mitochondrial permeability transition in acetaminophen-induced liver injury in mice. *J Hepatol*. 2005;42:1106.
29. Díaz Horta O. El ion calcio: su regulación y función en la célula  $\beta$  pancreática. *Rev Cubana Endocrinol*. 2003;14(3): [revista en la Internet]. [citado 2010 Sep 09]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-29532003000300008&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532003000300008&lng=es&nrm=iso&tlng=es)