

## Bioquímica de la División celular

EDMUNDO CALVA\*

**E**N esta exposición se van a referir algunos aspectos de la bioquímica de la división celular y en particular de la mitosis o sea la división que se hace visible microscópicamente mediante la formación del huso acromático. El otro tipo de multiplicación, la amitótica, está poco descrito desde el punto de vista químico.

En los esquemas clásicos de la división celular se hace hincapié casi exclusivamente en los fenómenos que ocurren en el núcleo, particularmente la visualización de los cromosomas, la segmentación de los mismos y su migración. Sin embargo, con el uso, entre otras técnicas, de la combinación de la microscopía de fases y de la cinematografía, se destacan fenómenos interesantes no sólo en el núcleo sino en el citoplasma.

Actualmente no se conoce el determinante químico de la división celular, esto es, el factor que hace que una célula se divida. Hace varios años se postularon más bien descripciones que explicaciones. Por ejemplo, se consideró que una causa era la pérdida de la relación entre el volumen de la célula y su superficie; pero ésto no pasó de ser sólo la descripción de un cambio morfológico. Además, no en todos los tipos de células se ven las mismas modificaciones antes de la división. Recientemente se ha sugerido que tal determinante, en la segmentación de los huevos, no es la síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN), sino algún evento citoplásmico en el que participa el ácido ribonucleico (ARN) íntegro y que es posible que algunas de las sustancias que inhiben la segmentación, actúen sobre el ARN presente o sobre su síntesis.

El estudio de los cambios químicos durante la división celular implica el uso de técnicas citoquímicas, algunas de ellas poco específicas

---

\* Jefe del Departamento de Bioquímica, Laboratorios de Medicina Experimental, Instituto Nacional de Cardiología, México 7, D. F.

o difíciles de interpretar, y el manejo de cantidades pequeñas de material biológico complejo. Además, en un tejido en división no todas las células están en las mismas etapas, por lo que para aplicar los métodos convencionales de la bioquímica se necesitaría hacer una selección y una separación celular previas. Esto se ha logrado en parte, recurriendo a tejidos que están más o menos sincronizados, tales como los huevos durante la segmentación, aunque siempre habrá que tomar en cuenta sus diferencias con las células somáticas. En los últimos años, aplicando las técnicas de la centrifugación diferencial se han obtenido preparados de aparatos mitóticos completos, esto es, los ásteres y el huso con sus correspondientes cromosomas. En este material se han hecho análisis químicos y se ha estudiado la influencia de algunas enzimas y de otros compuestos, sobre la integridad de la figura mitótica. La ribonucleasa produce anomalías mitóticas actuando sobre el aparato acromático. Al parecer también afecta la duplicación de los centrosomas y la formación de los ásteres, pero no actúa ni sobre la síntesis de ADN ni sobre la duplicación de los cromosomas. Por otra parte, la colchicina previene la organización de las fibras del huso, aquí el aparato mitótico aislado después del tratamiento de las células con colchicina, es un gel amorfo.

En el laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Cardiología, el Dr. Agustín Chévez preparó una película cuyas vistas marcan un contraste con el esquema clásico de la división cariocinética que se proyectó al principio de esta plática. El contraste radica primordialmente en la funcionalidad, en la aparente intervención de todas las estructuras celulares, en vez del ordenamiento limitado que uno acostumbra ver en las preparaciones fijadas. La película se tomó de un cultivo de tejido miocárdico y es fácil observar los sitios de actividad mitótica. La duración total de una división, en este caso particular, es de aproximadamente 25 minutos; el mayor tiempo lo ocupan la profase y la telofase; la metafase, o sea la agrupación de los cromosomas en la placa ecuatorial y la anafase, o emigración de los cromosomas hacia los polos del huso, son muy rápidas. Las estructuras negras que se ven en abundancia en el seno del citoplasma, son las mitocondrias; como se aprecia están en constante movimiento, no son estructuras fijas ni por su forma ni por su situación. Es cierto que en el núcleo se realizan fenómenos importantes pero no lo son menos los que ocurren en el citoplasma. Los cambios de forma y los movimientos de las mitocondrias concentrándose alrededor del núcleo y quizás su desaparición, antes de iniciarse la división cariocinética, muestran la posible participación

de estas estructuras en las etapas iniciales de la multiplicación. La existencia de estos y otros cambios citoplásmicos hace poco factible la división del núcleo en ausencia completa de citoplasma. Apréciense también como en el núcleo, hasta entonces aparentemente homogéneo y sólo dejando ver los nucleolos, aparecen de pronto y simultáneamente en diversas zonas del mismo, los cromosomas; el activo movimiento de los nucleolos, que precede a la visualización de los cromosomas, sugiere una importante participación de aquéllos. Al desaparecer la membrana nuclear puede verse la formación de la placa ecuatorial y la rápida emigración de los cromosomas hacia los ásteres, seguidos por la estrangulación del cuerpo celular, la fusión de los cromosomas en el áster y, finalmente, la separación de las células hijas.

Desde cualquier punto de vista que se considere, la división celular es un fenómeno complejo, los cambios químicos además de múltiples se suceden con rapidez. Si en los tejidos más o menos en reposo, en lo que toca a la multiplicación celular, no se han aclarado los mecanismos de biosíntesis de sus componentes, el estudio de las células en división aparece más complicado. En general, todo parece indicar que en la interfase se hace la preparación de la división, esto es, los cambios químicos importantes ocurren antes de la división propiamente dicha, tanto por lo que toca al material celular como a las reservas energéticas; de manera que cuando se hacen aparentes los cromosomas y se dividen y emigran, ya ocurrieron, en la llamada morfológicamente fase de reposo, los cambios químicos determinantes.

La iniciación y el mantenimiento de la mitosis involucra procesos estrictamente aeróbicos, aunque algunos huevos pueden desarrollarse hasta el estado de blástula en completa anaerobiosis. El consumo de oxígeno frecuentemente aumenta durante la interfase, alcanza un máximo en la profase y un mínimo en la telofase. En otras palabras, las oxidaciones son mayores cuando los núcleos están rodeados todavía por la membrana nuclear y aun cuando estas diferencias en el consumo de oxígeno son muy pequeñas y no absolutamente constantes, parecen ser reales. La anaerobiosis por su parte produce degeneración de los cromosomas, del huso y de los ásteres.

En lo que se refiere al consumo de oxígeno durante la síntesis de adenosinatrifosfato (ATF), en los procesos de fosforilación oxidativa, los agentes desacoplantes, por ejemplo el dinitrofenol, tienen mayores efectos sobre la segmentación de los huevos que los inhibidores de las oxidaciones celulares, como el cianuro de potasio.

Algunos huevos que, como se mencionó antes, se pueden dividir en anaerobiosis, rápidamente detienen su desarrollo en presencia de dinitrofenol, comportándose igual que los huevos muy sensibles a la falta de oxígeno o a los tratados con inhibidores del sistema de los citocromos. La falta de oxígeno produce una disminución notable del contenido de ATF de los huevos, con la circunstancia de que las mitosis se detienen mucho antes de que se agoten las reservas de este nucleótido.

Otro dato importante es que el malonato, inhibidor de la deshidrogenasa succínica, bloquea las divisiones celulares y sus efectos son contrarrestados por el fumarato o el succinato.

El punto fundamental es que el ATF impide la inhibición de la división celular producida por la anaerobiosis, el cianuro o el malonato y aun por el dinitrofenol; por lo que, al parecer, el ATF es necesario o indispensable para la división de las células.

Se han observado efectos favorables del ATF sobre la segmentación de los huevos que mostraban un desarrollo relativamente pobre, aunque en otros casos el efecto ha sido inhibidor.

Una de las acciones del ATF parece ser la ejercida sobre la porción cortical del citoplasma, resultando así ciertas analogías entre la contracción muscular y la formación del surco que produce las dos células hijas.

Los experimentos con el monóxido de carbono, que es un inhibidor específico de la citocromo oxidasa, han mostrado que si se aplica antes de cierto punto crítico del ciclo de divisiones, las retarda; pero si la aplicación es después de ese punto, no tiene efecto sobre la división iniciada en esa interfase sino sobre la siguiente. Esto es, la energía necesaria es almacenada en forma química, de manera que una vez preparada la reserva energética se realiza la división inmediata a pesar del inhibidor.

El ácido desoxirribonucleico (ADN) se sintetiza durante la multiplicación celular en todos los tejidos hasta ahora estudiados y al parecer es un fenómeno universal. Los datos señalan que la síntesis se hace entre el final de una mitosis y el principio de la siguiente o sea en la interfase y en la profase; cuando las células se dividen con rapidez se hace en la anafase. El tratamiento de los tejidos con rayos X, con luz ultravioleta o con 2,6-aminopurina inhibe la síntesis de ADN pero no la de las proteínas. Por otra parte, se ha encontrado una correlación satisfactoria entre la velocidad de síntesis del ADN y el consumo de oxígeno en la interfase, aunque no se puede precisar si la síntesis de ADN regula la velocidad de las oxidaciones o viceversa.

Otro problema difícil de resolver por el momento, se refiere al origen

y a los precursores del ADN sintetizados durante la multiplicación celular.

Hemos comentado la aparente participación del nucleolo en la formación de los cromosomas, es posible que el nucleolo suministre los precursores o las enzimas necesarias para la síntesis de ADN y aun cuando esta estructura nuclear contiene ARN y no ADN, hay la posibilidad de que la ribosa se transforme en desoxirribosa y la uridina se metile, como ha sido probado en otros sistemas. Además, resulta interesante, a este respecto, la presencia de uracil desoxirribósido, una molécula híbrida de ADN y ARN. Estas últimas consideraciones se aplican también cuando se plantea la posibilidad del origen del ADN en el ARN citoplásmico, conversión que a pesar de lo discutida parece muy probable, al menos para cierta proporción del ADN nuclear. Todavía en favor de tal explicación, se pueden aducir los trabajos recientes sobre la estructura del ARN que indican que es más similar a la del ADN, que lo que se creía hace algunos años.

Otra posibilidad es que el ADN nuclear se forme a partir del ADN citoplásmico. La base de esta sugestión es la presencia de una cantidad importante de ADN citoplásmico en algunos óvulos no fertilizados y, en ciertos huevos, la constancia en el contenido de ADN hasta el estado de blástula, etapa en que bruscamente aumenta, lo que indicaría que no hay síntesis neta en las primeras etapas de la segmentación y sólo transferencia del citoplasma al núcleo, esto es, a los cromosomas.

Finalmente, es posible que el ADN se sintetice a partir de sus componentes. Se ha probado que algunos embriones utilizan precursores como el fosfato, el  $\text{CO}_2$ , la glicina, la adenina o la timidina en la síntesis del ADN.

En lo que se refiere a cómo y dónde se hace la reduplicación del ADN cromosomal, es atractivo pensar en el modelo molecular propuesto por Watson y Crick, máxime que durante la división celular sólo la mitad del ADN se sintetiza. Todo lo que tiene que postularse es que las dos series helicoidales de polinucleótidos se separan entre sí y cada una sirve de molde para reproducir su réplica. Sin embargo, este problema aún no está resuelto en vista de que no todos los resultados experimentales se explican en base a dicho modelo. Por ejemplo, al calcular el tamaño para una molécula de ADN de peso  $16 \times 10^6$ , se encuentra que tendría, conforme al esquema de Watson y Crick, 8 micras de longitud, que son demasiadas para el tamaño que tienen los cromosomas de la glándula salival. Por otra parte, la radioactividad del ADN sintetizado

en presencia de timidina- $C^{14}$  siempre estaría en uno solo de los cromosomas y no en ambos, como se ha encontrado en algunos experimentos.

También es un componente importante de los cromosomas, del huso y de los ásteres el ácido ribonucleico. El ARN cromosomal parece derivarse del ARN del nucleolo, como sucede con otros componentes. Por ejemplo, la fosfatasa alcalina y el cinc aparecen en los cromosomas tan pronto como los nucleolos desaparecen en la profase. Estos componentes parecen duplicarse como el ADN y repartirse a las células hijas a través de los cromosomas.

Se supone que tanto el acortamiento de los cromosomas, después de la profase, como su alargamiento en la anafase, dependen en parte de modificaciones en la estructura molecular del ADN, que traen consigo cambios de la forma extendida a la globular y viceversa, de las histonas asociadas al polinucleótido. El ARN también parece intervenir en estos cambios de forma, así como el calcio y el magnesio. El calcio provoca la contracción de las fibras de la nucleohistona y la gelificación de los ásteres y de los husos; los agentes secuestradores del calcio y del magnesio producen la dispersión de los cromosomas.

Otro aspecto que llama la atención es la movilidad de los cromosomas: cómo se dirigen primero al centro del huso para formar la placa ecuatorial y cómo luego, durante la anafase, se dirigen a los polos. Asimismo, es un fenómeno interesante el estrangulamiento del cuerpo celular y su división.

La movilidad de los cromosomas parece ser determinada por cambios en la configuración de las proteínas que forman el huso, proteínas ricas en grupos —SH cuya oxidación y reducción, durante la mitosis, ocasionan ciclos de desnaturalización reversible. El aumento de los grupos —SH por influencia del glutatión precede a la división y la desnaturalización protéica resultante está relacionada con una disminución en la solubilidad y un aumento en la viscosidad. La reducción posterior de los grupos —S—S— explicaría la desaparición del aparato mitótico en la telofase, precedida por la regresión de las proteínas de las fibras del huso a su estado globular nativo que se traduce por la atracción de los cromosomas hacia los ásteres. También la oxidación y la reducción de los enlaces —SH explicaría las variaciones en el consumo de  $O_2$ . Los bloqueadores de los grupos —SH, tales como la monoyodoacetamida y el monoyodoacetato, hacen desaparecer o distorsionan el huso y con ello inhiben la mitosis; en cambio las sustancias que contienen grupos —SH la estimulan.

Finalmente, la formación del surco divisor de las células es un

problema muy complejo que ha dado lugar a numerosas teorías: crecimiento de los ásteres, alargamiento del huso, contracción del gel cortical, dilatación de la membrana a nivel de los polos, formación de una pared celular a nivel del surco, movimiento amiboide polar, etc. En el estudio de este problema se habrá de tomar en cuenta la presencia de los gránulos metacromáticos, quizá similares a los lisosomas, entre las fibras del huso y su emigración a los ásteres. El ATF, que desempeña un papel importante en la contracción muscular, es probable que también intervenga en estos procesos de segmentación celular.

#### REFERENCIAS GENERALES

- Brachet, J.: *Biochemical Cytology*, Academic Press Inc., New York (1957).  
Brachet, J.: *The Biochemistry of Development*. Pergamon Press., London (1960).  
Mazia, D.: *Annual Review of Biochemistry*. Annual. Reviews Inc., Palo Alto, Cal. (1961).