

Gonzalo De Toro

Depto. de Anatomía Patológica
Facultad de Medicina
Universidad de la Frontera
Temuco, Chile.

Correspondencia:

Servicio Anatomía Patológica
Manuel Montt 115
Temuco, Chile.

E-mail: gdetoro@gmail.com

Muerte celular programada. Revisión del paradigma apoptosis-necrosis y formas alternativas de muerte celular

El estudio de la muerte celular ha sido enfocado dicotómicamente, apoptosis versus necrosis, por décadas, constituyendo un paradigma para muchos. Nuevas investigaciones han revelado una creciente complejidad en estos y otros procesos que llevan a la muerte, identificándose nuevas vías moleculares con morfologías particulares, incluso mostrando cierta direccionalidad en eventos considerados no programados como la necrosis, trayendo consigo la necesidad de revisión de la terminología existente y desarrollo de nueva nomenclatura para designar a estas más recientes. Conceptos como Muerte celular programada, Apoptosis, Necrosis, Autofagia, Oncosis, Paraptosis, Catástrofe Mitótica, Piroptosis, Necroptosis y Mitoptosis serán analizados en base a revisión de la literatura.

Palabras clave: muerte celular; apoptosis; necrosis; biología molecular

INTRODUCCIÓN

La muerte celular es un proceso fundamental en la homeostasis de cualquier organismo, por lo que su estudio es primordial. Una simple búsqueda en Pubmed por “cell death” arroja casi 160.000 referencias, con un promedio de 500 nuevas publicaciones mensuales sobre el tema. Con esta cantidad de información, es probable que la terminología a veces se vuelva confusa, siendo necesaria una mirada más global. Con ese objetivo, la revista Cell Death and Differentiation creó un panel de expertos para elaborar una propuesta sobre la clasificación de la muerte celular y su nomenclatura, publicando en noviembre de 2005, un artículo con sus recomendaciones, a las cuales nos atenderemos (1).

Muerte celular programada

Durante los 60s, con la utilización del microscopio electrónico, la embriología tuvo un gran impulso. JW Saunders Jr (2), postuló, a partir de sus estudios con embriones de pollo, que los patrones de muerte eran reproducibles. En Harvard, RA Lockshin (3), adapta esta idea y basándose en sus estudios sobre los estadios de los insectos y los cambios ocurridos durante la pupación, publica en 1964 su artículo titulado “MUERTE CELULAR PROGRAMADA (MCP)”, en el cual postula que

las células siguen una secuencia controlada, con elementos codificados genéticamente, hacia su propia muerte.

Con el descubrimiento de la apoptosis por Kerr (4), esta idea se reafirmó, siendo el término MCP regularmente utilizado como sinónimo de apoptosis y como término opuesto a necrosis. Sin embargo, este paradigma apoptosis-necrosis, ha sido recientemente cuestionado y actualmente es difícil considerar a estos procesos como programados o accidentales, ya que existe un novedoso reporte, describiendo una vía molecular con morfología necrótica, que puede ser inhibida, estableciendo la existencia de elementos regulables, codificados genéticamente, durante la necrosis. Por esto la terminología MCP se ha vuelto imprecisa y genérica, por lo que debería ser reemplazada por expresiones como “muerte celular del desarrollo” o “muerte celular inducida por disminución de interleuquina-3”, que aportan información sobre la causa inicial, para posteriormente estudiar las vías moleculares involucradas.

CLASIFICACIONES DE LA MUERTE CELULAR

La nomenclatura utilizada en relación a la muerte celular ha sido confusa. Uno de los primeros intentos por clasificar los fenotipos de muerte celular, basado en el análisis morfológico de modelos del desarrollo, fue hecho por Schweichel y Merker (5), quienes identificaron 3 tipos de muerte celular (Tipo 1, 2 y 3). La tipo 1 se

manifiesta por condensación nuclear y picnosis, con reducción del volumen citoplasmático, con fragmentación celular tardía y fagocitosis. La tipo 2, o degeneración autofágica, se caracteriza por la vacuolización autofágica del citoplasma. La tipo 3 o muerte citoplasmática, se caracteriza por una desintegración general con pérdida de los organelos. De esta manera, la tipo 1 correspondería a la apariencia descrita por Kerr para la apoptosis, la tipo 2 a Autofagia y la 3 muestra características asociadas a la necrosis. En 1990 Clarke (6) recapitulo esta clasificación distinguiendo dos subtipos de muerte citoplasmática, quedando 3A o desintegración no lisosomal y la 3B citoplasmática, pero actualmente, se considera a la muerte tipo 3 como solo necrosis, sin subdivisiones. Algunos sugieren, que las distintas morfologías solo reflejan los distintos tipos celulares y distintos estímulos iniciales. Leist y Jäättelä (7) han propuesto un modelo descriptivo, el cual clasifica la muerte celular en 4 subclases según su morfología nuclear. La apoptosis es definida por una cromatina condensada en figuras compactas, a menudo globulares o con forma de medialuna. Levemente diferente es la MCP Apoptosis-símil, que se caracteriza por una cromatina condensada más laxamente. En contraste, la MCP necrosis-símil no presenta condensación de la cromatina, sino que su apariencia va desde una cromatina agrupada a una con gránulos laxos, mientras que la necrosis se caracteriza por el edema celular con ruptura de la membrana. A pesar de los numerosos modelos propuestos y las numerosas vías moleculares estudiadas para categorizar las distintas formas de muerte celular programada, el realizar definiciones excluyentes es difícil, sino artificial, ya que la sobreposición es un hecho común, como por ejemplo en la muerte neuronal inducida por isquemia, donde se ha demostrado activación de marcadores de apoptosis y de necrosis al mismo tiempo(8), lo que muestra que mas de un programa de muerte celular es activado por una misma noxa. Esto ha llevado a pensar que el fenotipo dominante estará dado por la velocidad relativa del programa de muerte. Actualmente se busca comprender las vías moleculares utilizadas por los distintos programas y encontrar marcadores moleculares específicos para identificar cada tipo de muerte celular.

TIPOS DE MUERTE CELULAR (VISIÓN MECANICISTA)

APOPTOSIS

Es la muerte celular que se acompaña de un balanceo de la célula, con retracción de los pseudópodos, reducción del volumen celular (picnosis), condensación de la cromatina, fragmentación del núcleo (cariorexis), con escasa o nula modificación ultraestructural de los organelos citoplasmáticos, burbujas de membrana plasmática y mantención de la membrana plasmática hasta que el proceso haya finalizado. Frecuentemente la fragmentación del ADN es utilizada como sello para definir apoptosis, pero la apoptosis puede ocurrir sin la fragmentación oligonucleosomal e incluso sin activación de caspasas, aunque esta última activación es necesaria para obtener la morfología.

El uso de inhibidores de caspasas de amplio espectro, como por ejemplo Z-VAD-fmk, nos permite apreciar la dependencia de caspasas en ciertas vías moleculares, pero esto debe ser utilizado con cautela, ya que también producen inhibición de otras moléculas como calpaínas y catepsinas. Por esto el termino, independiente de caspasas, debe evitarse, siendo mas preciso el termino descriptivo "Apoptosis inhibida por Z-VAD-fmk". Igualmente es necesario precisar, que el término "Muerte celular independiente de caspasas", no indica nada más que la inhibición de estas, ya que existen reportes en los cuales, con una eficiente inhibición de caspasas, igualmente se produce la muerte celular, manifestándose con signos morfológicos tanto de apoptosis como de autofagia o necrosis. Así, la idea de que, apoptosis igual activación de caspasas, debe ser cambiado por una en la cual, la activación de caspasas es una subrutina característica de la apoptosis y un predictor mayor de muerte.

Organelos involucrados en la muerte celular apoptótica

1. Mitocondria

El dios romano Jano (en latín *Janus*) era un dios que tenía dos caras mirando hacia ambos lados de su perfil, siendo el dios de las puertas, los comienzos y los finales. Una función similar tiene la mitocondria, mantiene la

vida celular a través de la producción de ATP y desencadena la muerte al liberar proteínas del espacio intermembrana, tales como citocromo-c, Smac/Diablo (Smac: second mitochondrial activator of caspases: DIABLO: direct IAP binding protein with low pI) u Omi (Htr2), al citosol. Las dos últimas compiten con las caspasas, para unirse a las proteínas inhibidoras de la apoptosis (IAP), ya que ella une caspasas y las marca para su posterior ubiquitinación. El citocromo c participa en la formación del Apoptosoma, que junto a la molécula adaptadora Apaf-1, resultan en el reclutamiento y activación de la caspasa 9, requiriendo para esto dATP o ATP. Posteriormente la caspasa 9 activa las procaspasas 3 y 7, siendo estas caspasas efectoras las responsables del clivaje de varias proteínas que llevan a la morfología y bioquímica de la apoptosis. Lo interesante proviene de los estudios realizados sobre la regulación de la liberación del citocromo-c.

La membrana interna mitocondrial presenta múltiples complejos enzimáticos (cadena transportadora de electrones, la ATP sintetasa) y proteínas transportadoras, como el traslocador de nucleótidos de adenina (ANT, del inglés adenine nucleotide translocator). Además posee unas invaginaciones denominadas “crestas”, donde se encuentra secuestrado y unido al fosfolípido de membrana cardiolipina, el 85 % del citocromo-c, el cual es utilizado por el complejo IV en la producción de energía. Por el contrario, la membrana externa carece de crestas mitocondriales, y en condiciones fisiológicas, es permeable al paso de iones y de metabolitos con pesos moleculares inferiores a 6.000 Da, a través del canal aniónico dependiente de voltaje (VDAC, del inglés voltage dependent anion channel). El poro de permeabilidad transitoria mitocondrial (PPTM) es un complejo multiproteico, aun no totalmente dilucidado tanto en estructura como función, que se forma en las zonas de unión entre las membranas interna y externa de la mitocondria. En él participan proteínas de localización citoplasmática (hexocinaasa), de la membrana externa (VDAC), de la membrana interna (ANT) y de la matriz mitocondrial (ciclofilina D) (9-11). EL mecanismo propuesto consiste en que cierto estímulo (sobrecarga de calcio o daño por radicales libres) produce una remodelación del cuello de la cresta mitocondrial, que pasa de medir aproximadamente 20 nm a 60 nm, con lo que el citocromo c, que previamente se ha dissociado de cardiolipina mediante oxidación por ROS, puede acceder a la membrana externa, atravesándola vía formación de megacanales formados por combinación de Bid, Bax y cardiolipina o por ruptura de la

membrana externa si el volumen de la matriz se expande excesivamente (por apertura del PPTM o cierre de VDAC) (12,13). (Figura 1)

Interesantemente, mitocondrias aisladas de ratones doble knock-out para ciclofilina-d, son resistentes al daño por isquemia-reperfusión, pero no a los estímulos apoptóticos. Esto nuevamente nos da evidencias de que existe cierta regulación en el proceso necrótico (14). Ciertos autores proponen que la apertura masiva produce necrosis, mientras que la apertura de una subpoblación apoptosis.

Todavía quedan puntos por definir, como lo indican recientes publicaciones sobre el tema, pero el objetivo de esta revisión es dar una visión más general, bastando lo ya delineado.

2. Lisosomas

La liberación de las proteínas lisosomales se produce por permeabilización de la membrana lisosomal, la que puede ser causada por ROS o por acumulación del detergente lisosomotrópico esfingosina (15). Una permeabilidad parcial se produce en la apoptosis, mientras que un quiebre masivo provoca necrosis. Las cistein proteasas catpsinas B y L y la aspartico proteasa catepsina D son las proteasas lisosomales mas abundantes y se ha reportado que pueden actuar activando caspasas o una vía independiente de estas. Otros han reportado que su acción seria mas indirecta, gatillando la disfunción mitocondrial y liberación de las proteínas proapoptóticas (16). Además Catepsina D puede activar a Bax, llevando a la liberación de AIF de la mitocondria (17,18).

3. Retículo Endoplasmático

El retículo endoplasmático (RE) es un importante sensor de estrés celular que puede detener la síntesis proteica y el metabolismo para reestablecer la homeostasis celular (19). Incluso puede desencadenar apoptosis si el daño es muy intenso, iniciándose como respuesta a proteínas no plegadas o vía liberación de calcio en el citoplasma. Hetz y cols(20) mostraron que la acumulación de proteínas mal plegadas en el retículo endoplasmático gatillara la respuesta adaptativa al estrés denominada respuesta a

proteínas no plegadas (UPR unfolded protein response), la cual es mediada por una proteína quinasa transmembrana y endoribonucleasa, la proteína del RE IRE1 α . La activación de (IRE1 α) requiere de Bax y Bak. Este hecho permite conectar físicamente a los miembros de la vía apoptótica y de la UPR. También es posible la activación de la caspasa 12 posiblemente por vía de la translocación de Bim, un miembro de la familia BCL-2, al interior del RE (21). Además, el estrés del RE puede inducir permeabilización de la mitocondria y entonces activar la vía clásica, así como otras vías de muerte mitocondrial. Los miembros de la familia BCL-2 y el calcio citoplasmático orquestan esta respuesta cruzada entre la mitocondria y el RE (22).

Además, el influjo intracelular de calcio causado por el estrés sobre el RE, un organelo que actúa como un depósito de calcio en la célula, induce la activación de una familia de proteínas citosólicas, las calpaínas (calcium activated neutral proteases), las cuales se encuentran inactivas en el citoplasma (23). Las calpaínas actúan río abajo en la activación de caspasas y son inhibidas por calpastatina, el cual a su vez es inactivado, al ser procesado por calpaína o caspasas activas. Bax y otros de su tipo aun no bien identificados, están involucrados en la asociación entre calpaínas y el sistema proteolítico de las caspasas. La manera en que se relacionan aun se desconoce (24).

Además se ha reportado que la cascada calpaína-calpastatina puede inducir la liberación de la cathepsina lisosomal con la consiguiente muerte celular (23).

Autofagia

Autofagia deriva del griego comer (fagia) uno mismo (auto), o sea auto digestión. Este es un proceso altamente conservado en la evolución, que ocurre en virtualmente todas las células eucariotas, desde las levaduras a los mamíferos, como parte de su normal desarrollo (25). Es un proceso en el cual citoplasma y organelos son secuestrados en vesículas con membrana celular duplicada, liberando su contenido dentro de lisosomas, para su degradación y reciclaje de macromoléculas. Así como el recambio proteico esta mediada por ubiquitinación y degradación por el proteosoma, el recambio de grandes proteínas y organelos, es atribuido parcialmente a la Autofagia (26).

Ya desde 1966 se sospechaba que la autofagia estaba involucrada en los cambios que ocurren durante la diferenciación y desarrollo, pero durante largo tiempo los estudios estuvieron destinados a realizar la correlación morfológica, mayoritariamente en células de mamíferos, y solo en los últimos años se ha empezado a comprender su bioquímica mediante el estudio en levaduras, identificándose los genes relacionados a la autofagia (AuTophagy-related genes o ATG).

La autofagia sirve como respuesta al estrés producido por la falta de alimentos y es uno de sus principales roles en los organismos unicelulares. A nivel de membrana, existen moléculas que actúan como sensores del medio extracelular, activando vías regulatorias intracelulares. Uno de estos sensores es la proteína TOR (Target de rapamicina) (27), el cual inhibe la Autofagia en un medio rico en nutrientes. La autofagia también tiene funciones homeostáticas y de biosíntesis, Por ejemplo en condiciones en las cuales los peroxisomas no son necesarios, son degradados a través de un tipo específico de autofagia denominado pexofagia (28). Además de su rol en la degradación, la autofagia puede promover un tipo de muerte celular programada, la que también puede jugar un rol en el desarrollo normal como se ha descrito para levaduras, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* y para el desarrollo de *Dictyostelium discoideum*. Algunos autores la asocian con la extensión de la vida, relacionada con la restricción calórica. Además puede actuar como un mecanismo de defensa contra la invasión de varias bacterias y virus, lo que algunos de ellos aprovechan para evadir la destrucción y replicarse en la célula huésped. Recientemente se le ha asociado a varias enfermedades humanas, incluido el cáncer (29), cardiomiopatías(30) y enfermedades Neurodegenerativas (31).

El mecanismo mediante el cual se lleva a cabo la autofagia y procesos similares se ha dividido en 7 pasos secuenciales:

- 1.- Inducción
- 2.- Selección carga y embalaje
- 3.- Nucleación y formación de la vesícula
- 4.- Expansión de la vesícula y maduración
- 5.- Direccionamiento
- 6.- Contacto y fusión de la vesícula con el lisosoma
- 7.- Quiebre de la vesícula intraluminal con formación del cuerpo autofágico y reciclaje de las macromoléculas constituyentes (32). La mayor parte de estos pasos

han sido identificados en levaduras, faltando aun ampliar nuestro conocimiento en mamíferos. (Figura 2)

Necrosis, Oncosis y Necroptosis.

Nuestra definición de necrosis es negativa, ya que se considera como tal aquel tipo de muerte sin signos de apoptosis o autofagia. Su morfología es a menudo la de la Oncosis. Este termino del griego Onkos “hichado” fue introducido por von Recklinghausen en 1910, al observar la tumefacción de los osteocitos en la osteomalacia, y sirve para designar cualquier muerte celular caracterizada por una importante tumefacción, ruptura de la membrana plasmática, dilatación de organelos citoplasmáticos (mitocondria, retículo endoplasmático y Golgi), así como una moderada condensación de la cromatina. Sin embargo este término se traslapa considerablemente con lo que sucede durante la necrosis producida por activación de PARPs o con una apoptosis parcial que se convierte en necrosis, por lo que su uso se ha descontinuado.

Recientemente han aparecido indicios de otra subrutina necrótica regulable (33). En la muerte celular estimulada por TNF- α , con una inhibición previa de caspasas, la muerte celular no es evitada, pero adquiere una morfología necrótica, siendo denominada Necroptosis. Esta vía de muerte celular puede ser inhibida por medio de la sustancia Necrostatin-1, una sustancia derivada del indol. Experimentos sobre isquemia cerebral, mostraron una disminución del área cerebral dañada, en ratas tratadas con necrostatin-1, en relación a los controles. Aun falta definir cual es la molécula blanco que causa la inhibición de la necroptosis.

La característica fundamental que distingue la mayoría de las formas de necrosis de la apoptosis es la rápida pérdida de los potenciales de membrana. Esto puede ser consecuencia de depleción de la energía celular, daño en los lípidos de membrana y/o pérdida de la función de bombas iónicas o canales homeostáticos. Entre ellos hay sinergia, ya que la alteración de uno produce un efecto en la función de los otros, siendo difícil definir cual ocurre primero.

1) Falla energética como causa de necrosis: La disminución de la función de las bombas ATP dependientes puede llevar a la apertura de los canales de muerte en la membrana citoplasmática. La apertura de estos cana-

les resulta en una gran fuerza coloidal osmótica y entrada de cationes que llevan al hinchamiento celular y posterior ruptura de membrana (35). El estrés resultante de la escasez de alimento o de un aporte de O₂ insuficiente, a menudo resulta en disminución del ATP. Este tipo de necrosis es vista por ejemplo en el región interna de tumores, donde el suministro de oxígeno y nutrientes es limitado. En Cultivo, las células que tienen su maquinaria apoptótica inhibida, se mantienen viables a través de la Autofagia, hasta que agotan las reservas intracelulares y se produce la necrosis (36). (Figura 3 Superior)

2) Calcio como mediador de la muerte por necrosis: El calcio intracelular es importante en numerosas respuestas celulares. En ciertas condiciones patológicas, ligandos extracelulares pueden inducir necrosis dependiente de Ca. Un ejemplo de esto es la muerte neuronal excitotóxica inducida por aminoácidos excitatorios como NMDA. Las células viables y membranas intracelulares son casi impermeables al calcio. Bajo condiciones fisiológicas, la concentración de calcio es ~1.2 mM en el extracelular y ~0.1 μ M en el citosol. La mayor parte del calcio se almacena en el RE. Cuando el calcio del RE es liberado al citosol, o el calcio extracelular atraviesa la membrana plasmática, la muerte celular puede iniciarse por activación de proteasas dependiente de calcio o sobrecarga de calcio mitocondrial. El calcio extracelular puede entrar a través de 3 tipos de canales: Activados por voltaje, Por capacitancia que se activan al disminuir las reservas de calcio en RE y los canales ácido sensibles pertenecientes a la superfamilia de canales de sodio degenerina/epitelial (37,38). La entrada inicial de calcio activa proteasas activadas por calcio, como las calpaínas, que clivan el intercambiador Na/Ca, lo que lleva a la incapacidad de la célula para extraer el calcio, provocando un aumento sostenido de la concentración intracelular (39). Esto lleva a una auto amplificación del calcio citosólico y su prolongada estadía en el citoplasma lleva a la sobrecarga mitocondrial de calcio, lo que provoca la apertura del PPTM, perdiendo la capacidad de producir ATP por la cadena respiratoria, además de activación de las proteasas dependientes de calcio(40). Como otros insultos, el aumento de la concentración de calcio puede iniciar, ya sea la apoptosis o la necrosis. El destino de la muerte celular es probablemente determinado por la concentración de Calcio citoplasmático. Concentraciones bajas a moderadas (200-400 nM) gatillan la apoptosis, mientras que altas concentraciones (mayores de 1 μ M) se asocian con necrosis. Esto puede explicar porque la liberación del calcio del RE es principalmente apop-

tótico, mientras que la entrada a través de la membrana plasmática se asocia principalmente a la necrosis (41). El estado metabólico mitocondrial puede también afectar la sensibilidad de la mitocondria al envenenamiento con calcio y contribuir al modo de muerte (41, 42). (Figura 3 Medio)

3) Necrosis iniciada por ROS: Las células en un ambiente aerobio generan constantemente ROS. Los niveles fisiológicos de ROS pueden regular la transcripción, sirviendo como moléculas de señales y también como defensa contra infecciones patógenas. Su excesiva producción lleva al estrés oxidativo, daño intracelular de moléculas y membranas y finalmente a la necrosis. La mitocondria es la principal fuente de ROS que puede originar la necrosis. El exceso mitocondrial de ROS puede dañar el DNA causando el quiebre de las hebras de DNA, enlaces cruzados DNA-proteínas y oxidación de purinas (43). Esto puede iniciar la respuesta al daño del DNA, que incluye activación de p53 y PARP (44). Mientras la activación de p53 puede causar apoptosis y detención del ciclo celular, la hiperactivación de PARP lleva a la necrosis y la inhibición de PARP la bloquea. Animales deficientes en PARP son resistentes a la lesión por isquemia-reperfusión. Los ROS también modifican los lípidos, los dobles enlaces de los ácidos grasos poli-insaturados. La oxidación de lípidos puede llevar a la pérdida de la integridad de la membrana plasmática y la de los organelos intracelulares, como lisosomas o RE, con la consiguiente liberación de proteasas o un influjo de calcio que resulte en necrosis (45). (Figura 3 Inferior)

PIROPTOSIS

Esta vía de muerte celular es dependiente únicamente de la caspasa-1. Esta caspasa no está involucrada en la muerte celular apoptótica y su función es procesar los precursores de las citoquinas inflamatorias IL-1 β e IL-18, activándolos. Esta forma de muerte se ve por ejemplo en células infectadas con *Salmonella*, donde se produce la activación de la caspasa-1, por sustancias efectoras, liberadas a través del sistema SP1 TTSSs (SPI-1 (*Salmonella pathogenicity island 1*) y sistema de secreción tipo III. (type III secretion systems (TTSSs)). Esta activación de la caspasa-1 lleva a la fragmentación del ADN y a la lisis celular, ambos por vías diferentes. La fragmentación del ADN es realizada por una nucleasa activada por caspasa-1 que no involucra degradación de ICAD (in-

hibitor caspase-activated deoxyribonuclease o inhibidor de deoxiribonucleas activada por caspasas), que junto al reordenamiento del citoesqueleto de actina, son eventos requeridos para la formación de poros de membrana, de entre 1.1-2.4 nm de diámetro. Además la caspasa-1 activa a estas citoquinas que ven facilitada su salida a través del poro. La disipación de los gradientes iónicos celulares lleva a un flujo de agua, con tumefacción celular y lisis osmótica, liberándose el contenido pro inflamatorio intracelular (46). Para algunos investigadores la piroptosis no es más que una muerte de tipo necrótica dependiente de la caspasa-1.

PARAPTOSIS

La Paraptosis ha sido recientemente caracterizada como la vacuolización citoplasmática asociada con aumento de volumen mitocondrial y del retículo endoplasmático (47), el cual no responde a la inhibición de las caspasas y no existe formación de cuerpos apoptóticos u otras características morfológicas de esta. Es mediada por la proteína quinasa activada por mitógenos MAK y que puede ser gatillada por miembros de la familia TNF como TAJ/TROY y por el receptor del factor de crecimiento tipo insulina (48,49). Es posible inhibir la Paraptosis por medio de la proteína AIP1/Alix, que interactúa con otra relacionada a muerte, ligante de calcio ALG-2, sugiriendo que este tipo de muerte es totalmente distinta de la apoptosis. Hasta el momento existen pocos reportes en comparación con los otros tipos de muerte celular programada, por lo que su bioquímica y regulación es aun desconocida.

CATASTROFE MITÓTICA

Este término fue acuñado por Russell y Nurse (49) para describir el destino fatal de *Schizosaccharomyces pombe* cuando era forzado a entrar prematuramente en mitosis debido a sobreexpresión de Cdc2. Se produce por fallas en los sistemas de chequeo del ciclo celular (checkpoints), ya que fallan en detener la mitosis antes o durante el proceso, permitiendo una segregación aberrante de los cromosomas, lo que determina la activación de una apoptosis defectuosa y muerte celular (50). Roninson la define en términos morfológicos, como la forma de muerte celular que resulta de una mitosis anormal,

formándose células con múltiples micronúcleos y cromatina no condensada (51), considerándola como distinta de la apoptosis, en base a que el uso de algunos inhibidores de caspasas, fallaban en evitar la aparición y existía muerte de células gigantes multinucleadas (52). Sin embargo, hay reportes que frecuentemente muestran células con algunas características fenotípicas de apoptosis (como agregados de cromatina hipercondensada) (53) y como discutimos previamente la apoptosis puede ocurrir de manera independiente de caspasas (54).

Es posible distinguir dos subtipos: Primero, la catástrofe mitótica puede llevar a la muerte celular durante o muy cercano a la metafase, de manera independiente de p53, y el Segundo ocurre cuando la mitosis ha fallado y se activa el checkpoint de poliploidia.

MITOPTOSIS

Este término fue acuñado por Skulachev (55) para describir el suicidio de las mitocondrias debido a sobreproducción de ROS. El postula que sería la manera que tienen las células, para deshacerse de las mitocondrias cuando existe un gran daño. El mecanismo sería el siguiente: Sobreproducción de ROS, que son los más potentes inductores de apertura de los PPTM, lo que lleva a la disipación de la diferencia de voltaje, fin del transporte proteico mitocondrial dependiente de voltaje y destrucción de la mitocondria (56). Además se produce degradación del ADN mitocondrial inducido por ROS.

Este esquema no requiere de ningún componente extramitocondrial y es iniciado por la producción de ROS de la mitocondria, si supera los niveles que esta puede neutralizar.

Una masiva mitoptosis desencadena una muerte celular programada por liberación masiva de proteínas mitocondriales y el bloqueo de la vía apoptótica ha demostrado que la células siguen produciendo energía a través de la Autofagia de sus propias mitocondrias (57). Es por esto que la mitoptosis más parece una subrutina dentro la apoptosis.

Conclusión

La muerte celular ha aumentado su complejidad de la mano con los avances en biología molecular. Lo que antes parecía azaroso, ahora comienza a descubrirse como reglado, poniendo nuevamente a la luz, lo incompleto de nuestro conocimiento o la imprecisión de las técnicas de estudio. Quizás la manera en que actualmente es enseñada la muerte celular en los cursos de patología general, deba ser revisada y actualizada, dejando en claro que las fronteras aun no están bien definidas. (Figura 4)

Este nuevo conocimiento, abre la posibilidad de nuevas intervenciones terapéuticas, estando ya en fases preliminares por ejemplo Necrostatin-1 o algunos inhibidores de PARP (58), transformando de esta manera la investigación básica en aplicada, con directo beneficio para los pacientes, tanto en enfermedades inflamatorias, infecciosas o neoplásicas. De esta manera, conociendo a fondo la muerte, podremos prolongar la vida.

REFERENCIAS

1. Kroemer G, El-Deiry WS, Golstein P, Peter ME, Vaux D, Vandenabeele P, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. *Cell Death Differ.* 2005 Nov;12 Suppl 2:1463-7.
2. Saunders JW Jr, Gasseling MT. Cellular death in morphogenesis of the avian wing. *Dev Biol.* 1962 Aug;5:147-78.
3. Lockshin RA, Williams CM. Programmed cell death—I. cytology of degeneration in the intersegmental muscles of the pernyi silkworm. *J Insect Physiol.* 1965 Feb;11:123-33.
4. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br.J.Cancer* 1972;26: 239-257.
5. Schweichel JU, Merker HJ. The morphology of various types of cell death in prenatal tissues. *Teratology.* 1973 Jun;7(3):253-66.
6. Clarke PG. Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat Embryol (Berl).* 1990;181(3):195-213.
7. Leist M, Jaattela M. Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2001 Aug;2(8):589-98.
8. Hara MR, Snyder SH. Cell Signaling and Neuronal Death. Fecha de publicación en *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* Volume 47 para Enero 6, 2007. ver <http://www.annualreviews.org>
9. Honda HM, Korge P, Weiss JN. Mitochondria and ischemia/reperfusion injury. *Ann N Y Acad Sci.* 2005 Jun;1047:248-58.
10. Nakagawa T, Shimizu S, Watanabe T, Yamaguchi O, Otsu K, Yamagata H, et al. Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death. *Nature* 2005 Mar 31;434(7033):652-8.

11. Baines CP, Kaiser RA, Purcell NH, Blair NS, Osinska H, Hambleton MA, et al. Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death. *Nature*. 2005 Mar 31;434(7033):658-62
12. Brdiczka DG, Zorov DB, Sheu SS. Mitochondrial contact sites: their role in energy metabolism and apoptosis. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Feb;1762(2):148-63.
13. Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B. Multiple pathways of cytochrome c release from mitochondria in apoptosis. *Biochim Biophys Acta*. 2006 May-Jun;1757(5-6):639-47.
14. Armstrong JS. The role of the mitochondrial permeability transition in cell death. *Mitochondrion*. 2006 Aug 1.
15. Bursch W. The autophagosomal-lysosomal compartment in programmed cell death. *Cell Death Differ*. 2001 Jun;8(6):569-81.
16. Johansson AC, Steen H, Ollinger K, Roberg K. Cathepsin D mediates cytochrome c release and caspase activation in human fibroblast apoptosis induced by staurosporine. *Cell Death Differ*. 2003 Nov;10(11):1253-9.
17. Bidere N, Lorenzo HK, Carmona S, Laforge M, Harper F, Dumont C, Senik A. Cathepsin D triggers Bax activation, resulting in selective apoptosis-inducing factor (AIF) relocation in T lymphocytes entering the early commitment phase to apoptosis. *J Biol Chem*. 2003 Aug 15;278(33):31401-11.
18. Kagedal K, Johansson AC, Johansson U, Heimlich G, Roberg K, Wang NS, et al. Lysosomal membrane permeabilization during apoptosis— involvement of Bax?. *Int J Exp Pathol*. 2005 Oct;86(5):309-21.
19. Travers KJ, Patil CK, Wodicka L, Lockhart DJ, Weissman JS, Walter P. Functional and genomic analyses reveal an essential coordination between the unfolded protein response and ER-associated degradation. *Cell*. 2000 Apr 28;101(3):249-58.
20. Hetz C, Bernasconi P, Fisher J, Lee AH, Bassik MC, Antonsson B, et al. Proapoptotic BAX and BAK modulate the unfolded protein response by a direct interaction with IRE1alpha. *Science*. 2006 Apr 28;312(5773):572-6.
21. Boya P, Cohen I, Zamzami N, Vieira HL, Kroemer G. Endoplasmic reticulum stress-induced cell death requires mitochondrial membrane permeabilization. *Cell Death Differ*. 2002 Apr;9(4):465-7.
22. Annis MG, Yethon JA, Leber B, Andrews DW. There is more to life and death than mitochondria: Bcl-2 proteins at the endoplasmic reticulum. *Biochim Biophys Acta*. 2004 Mar 1;1644(2-3):115-23.
23. Yamashima T. Ca²⁺-dependent proteases in ischemic neuronal death: a conserved 'calpain-cathepsin cascade' from nematodes to primates. *Cell Calcium*. 2004 Sep-Oct;36(3-4):285-93.
24. Liu X, Van Vleet T, Schnellmann RG. The role of calpain in oncotic cell death. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2004;44:349-70.
25. Klionsky DJ. Autophagy. *Curr Biol*. 2005 Apr 26;15(8):R282-3.
26. Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science*. 2004 Nov 5;306(5698):990-5.
27. Kamada Y, Sekito T, Ohsumi Y. Autophagy in yeast: a TOR-mediated response to nutrient starvation. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2004;279:73-84.
28. Iwata J, Ezaki J, Komatsu M, Yokota S, Ueno T, Tanida I, et al. Excess peroxisomes are degraded by autophagic machinery in mammals. *J Biol Chem*. 2006 Feb 17;281(7):4035-41.
29. Hait WN, Jin S, Yang JM. A matter of life or death (or both): understanding autophagy in cancer. *Clin Cancer Res*. 2006 Apr 1;12(7 Pt 1):1961-5.
30. Kunapuli S, Rosanio S, Schwarz ER. "How do cardiomyocytes die?" apoptosis and autophagic cell death in cardiac myocytes. *J Card Fail*. 2006 Jun;12(5):381-91.
31. Bursch W, Ellinger A. Autophagy—a basic mechanism and a potential role for neurodegeneration. *Folia Neuropathol*. 2005;43(4):297-310.
32. Tsujimoto Y, Shimizu S. Another way to die: autophagic programmed cell death. *Cell Death Differ*. 2005 Nov;12 Suppl 2:1528-34.
33. Degtarev A, Huang Z, Boyce M, Li Y, Jagtap P, Mizushima N, et al. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat Chem Biol*. 2005 Jul;1(2):112-9. Erratum in: *Nat Chem Biol*. 2005 Sep;1(4):234.
34. Nishimura Y, Lemasters JJ. Glycine blocks opening of a death channel in cultured hepatic sinusoidal endothelial cells during chemical hypoxia. *Cell Death Differ*. 2001 Aug;8(8):850-8.
35. Lum JJ, Bauer DE, Kong M, Harris MH, Li C, Lindsten T, Thompson CB. Growth factor regulation of autophagy and cell survival in the absence of apoptosis. *Cell*. 2005 Jan 28;120(2):237-48.
36. Putney JW Jr. Capacitative calcium entry: sensing the calcium stores. *J Cell Biol*. 2005 May 9;169(3):381-2.
37. Berridge G, Dickinson G, Parrington J, Galione A, Patel S. Solubilization of receptors for the novel Ca²⁺-mobilizing messenger, nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate. *J Biol Chem*. 2002 Nov 15;277(46):43717-23.
38. Yermolaieva O, Leonard AS, Schnizler MK, Abboud FM, Welsh MJ. Extracellular acidosis increases neuronal cell calcium by activating acid-sensing ion channel 1a. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Apr 27;101(17):6752-7.
39. Bano D, Young KW, Guerin CJ, Lefevre R, Rothwell NJ, Naldini L, et al. Cleavage of the plasma membrane Na⁺/Ca²⁺ exchanger in excitotoxicity. *Cell*. 2005 Jan 28;120(2):275-85.
40. McConkey DJ, Orrenius S. The role of calcium in the regulation of apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997 Oct 20;239(2):357-66.
41. Ankarcona M. Glutamate induced cell death: apoptosis or necrosis?. *Prog Brain Res*. 1998;116:265-72.
42. West JD, Marnett LJ. Endogenous reactive intermediates as modulators of cell signaling and cell death. *Chem Res Toxicol*. 2006 Feb;19(2):173-94.
43. Koh DW, Dawson TM, Dawson VL. Mediation of cell death by poly(ADP-ribose) polymerase-1. *Pharmacol Res*. 2005 Jul;52(1):5-14.
44. Waring P. Redox active calcium ion channels and cell death. *Arch Biochem Biophys*. 2005 Feb 1;434(1):33-42.
45. Fink SL, Cookson BT. Caspase-1-dependent pore formation during pyroptosis leads to osmotic lysis of infected host macrophages. *Cell Microbiol*. 2006 Jul 4.
46. Sperandio S, de Belle I, Bredesen DE. An alternative, nonapoptotic form of programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Dec 19;97(26):14376-81.

47. Sperandio S, Poksay K, de Belle I, Lafuente MJ, Liu B, Nasir J, Bredesen DE. Paraptosis: mediation by MAP kinases and inhibition by AIP-1/Alix. *Cell Death Differ.* 2004 Oct;11(10):1066-75.
48. Wang Y, Li X, Wang L, Ding P, Zhang Y, Han W, et al. An alternative form of paraptosis-like cell death, triggered by TAJ/TROY and enhanced by PDCD5 overexpression. *J Cell Sci.* 2004 Mar 15;117(Pt 8):1525-32.
49. Russell P, Nurse P. cdc25+ functions as an inducer in the mitotic control of fission yeast. *Cell.* 1986 Apr 11;45(1):145-53.
50. Castedo M, Perfettini JL, Roumier T, Andreau K, Medema R, Kroemer G. Cell death by mitotic catastrophe: a molecular definition. *Oncogene.* 2004 Apr 12;23(16):2825-37.
51. Roninson IB, Broude EV, Chang BD. If not apoptosis, then what? Treatment-induced senescence and mitotic catastrophe in tumor cells. *Drug Resist Updat.* 2001 Oct;4(5):303-13.
52. Nabha SM, Mohammad RM, Dandashi MH, Coupaye-Gerard B, Aboukameel A, Pettit GR, et al. Combretastatin-A4 prodrug induces mitotic catastrophe in chronic lymphocytic leukemia cell line independent of caspase activation and poly(ADP-ribose) polymerase cleavage. *Clin Cancer Res.* 2002 Aug;8(8):2735-41.
53. Heald R. Cell biology. Serving up a plate of chromosomes. *Science.* 2006 Jan 20;311(5759):343-4.
54. Joza N, Kroemer G, Penninger JM. Genetic analysis of the mammalian cell death machinery. *Trends Genet.* 2002 Mar;18(3):142-9.
55. Skulachev VP. Uncoupling: new approaches to an old problem of bioenergetics. *Biochim.Biophys.Acta* 1998;1363: 100-124.
56. Skulachev VP. Bioenergetic aspects of apoptosis, necrosis and mitoptosis. *Apoptosis.* 2006;11: 473-485.
57. Lum JJ, Bauer DE, Kong M et al. Growth factor regulation of autophagy and cell survival in the absence of apoptosis. *Cell* 2005;120: 237-248.

ICONOGRAFÍA

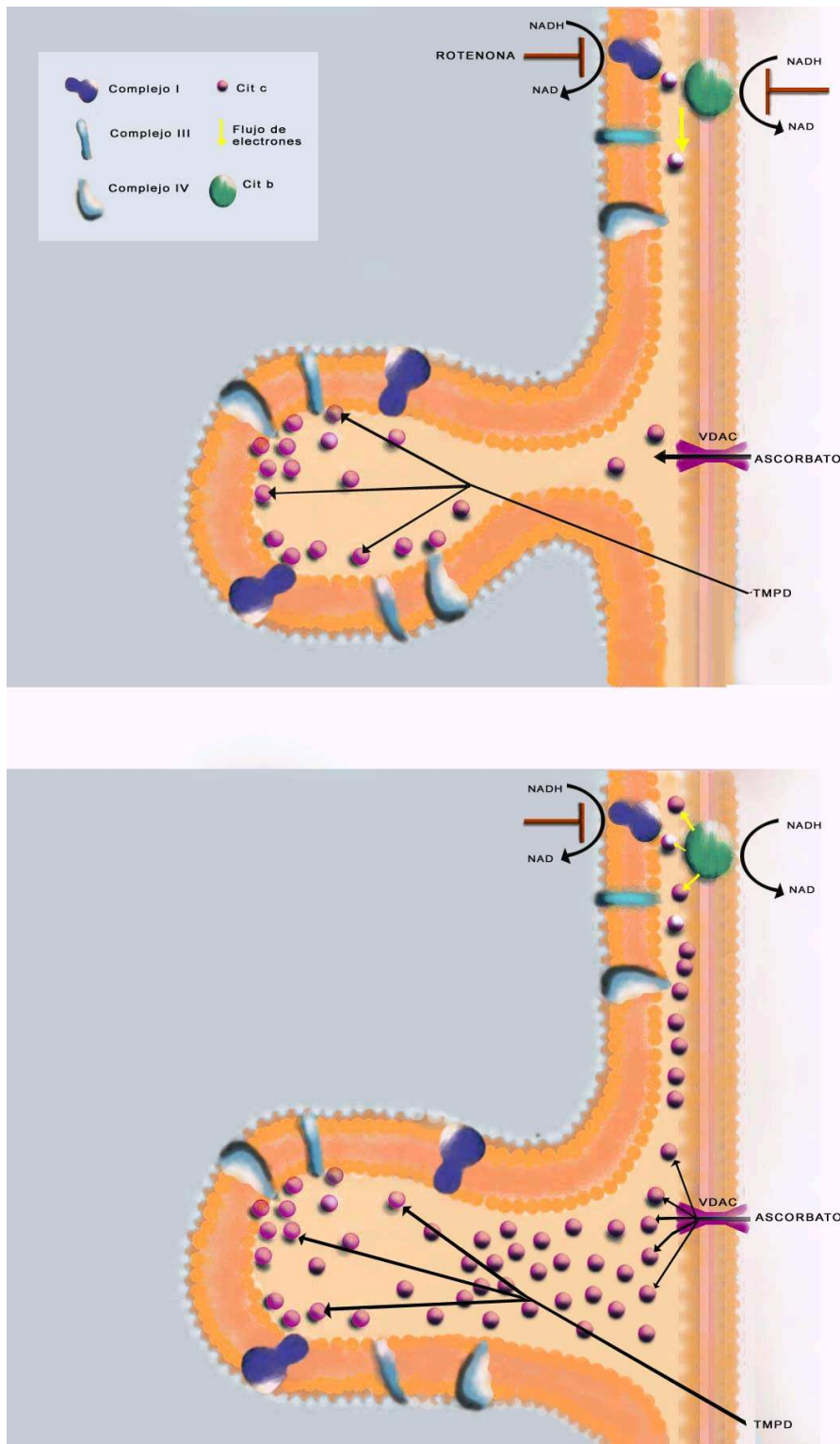


Figura 1.- Hipótesis de la remodelación del cuello de las crestas mitocondriales.

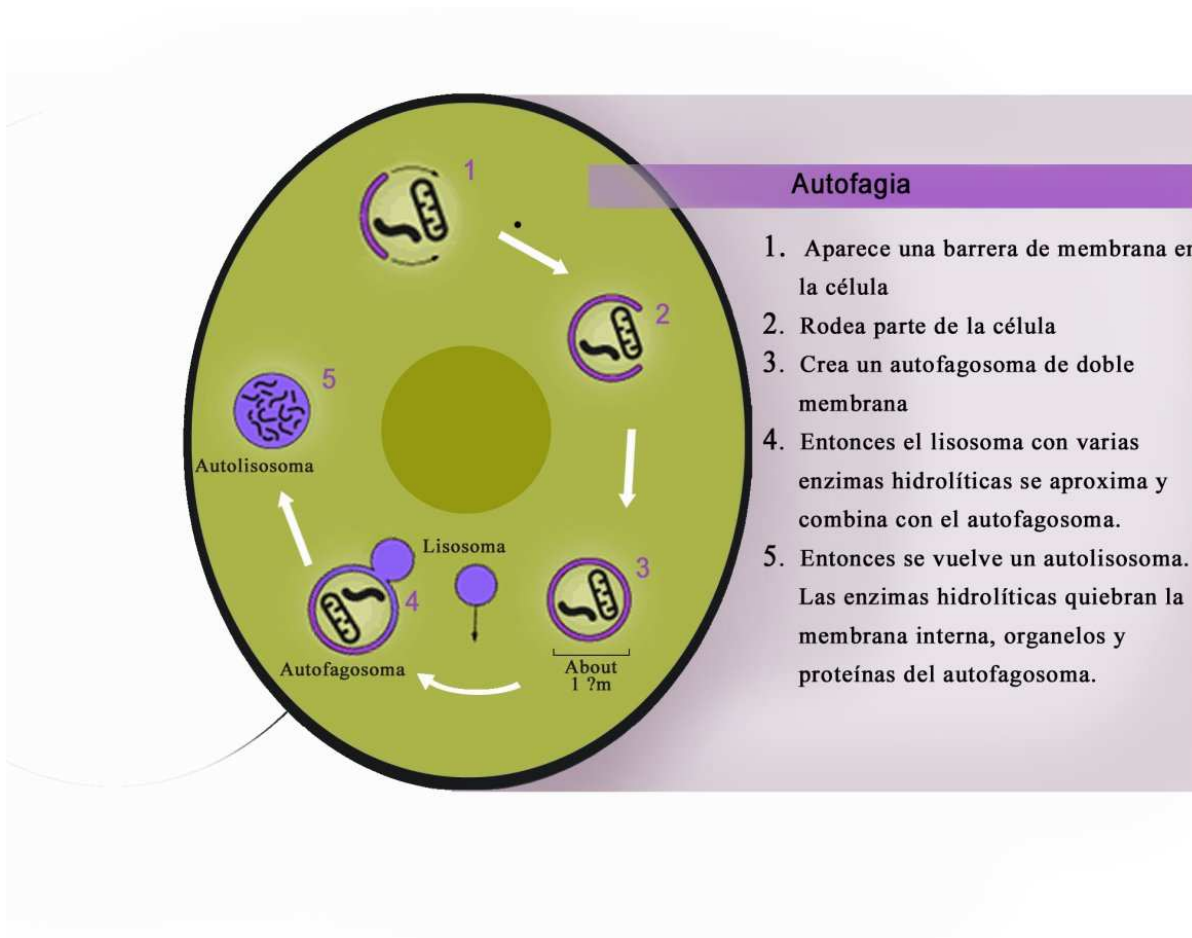


Figura 2.- Esquema de la degradación y autofágica, siendo el punto de no retorno, cuando se engloban las mitocondria y son destruidas.

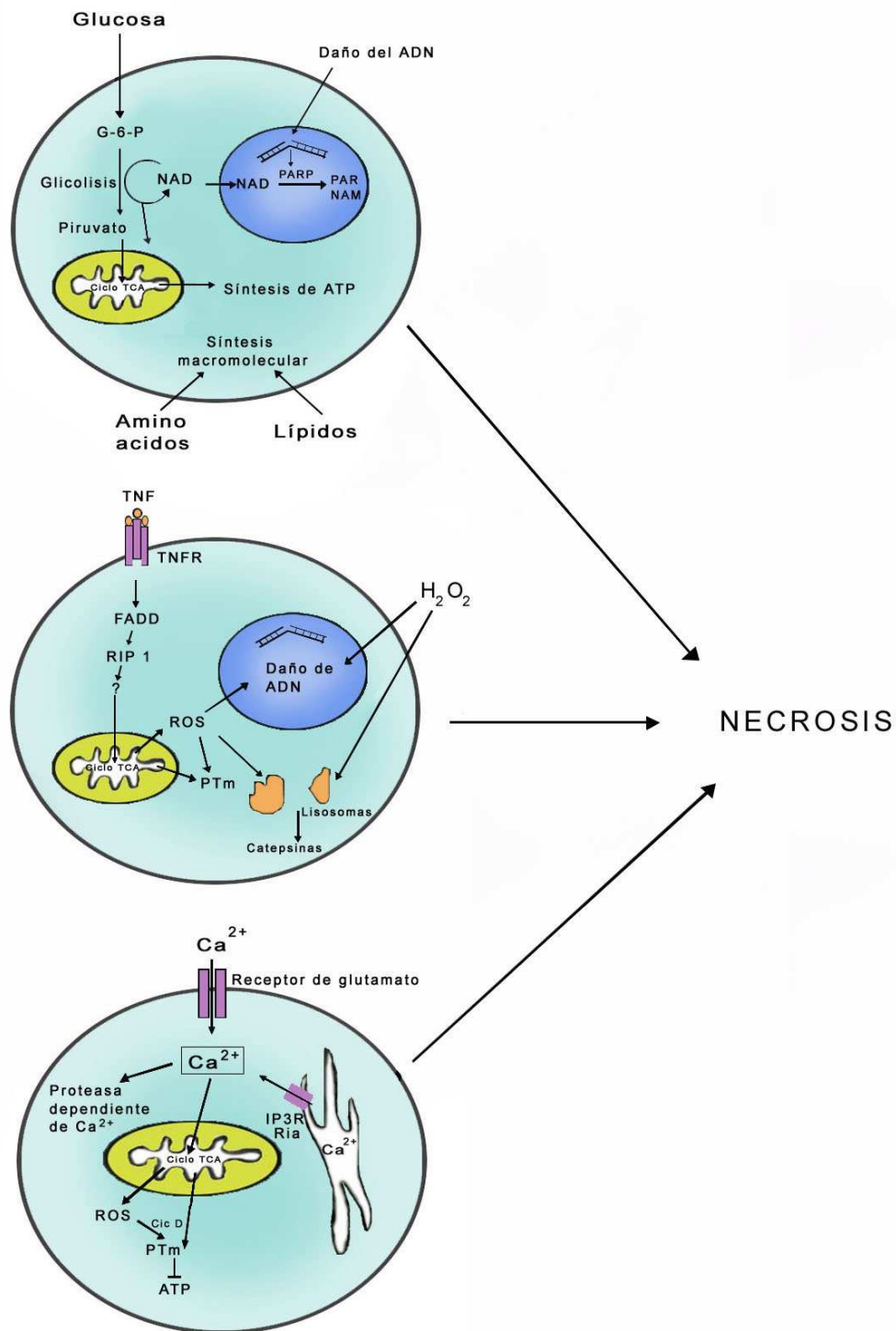


Figura 3.- Bioquímica de la necrosis.

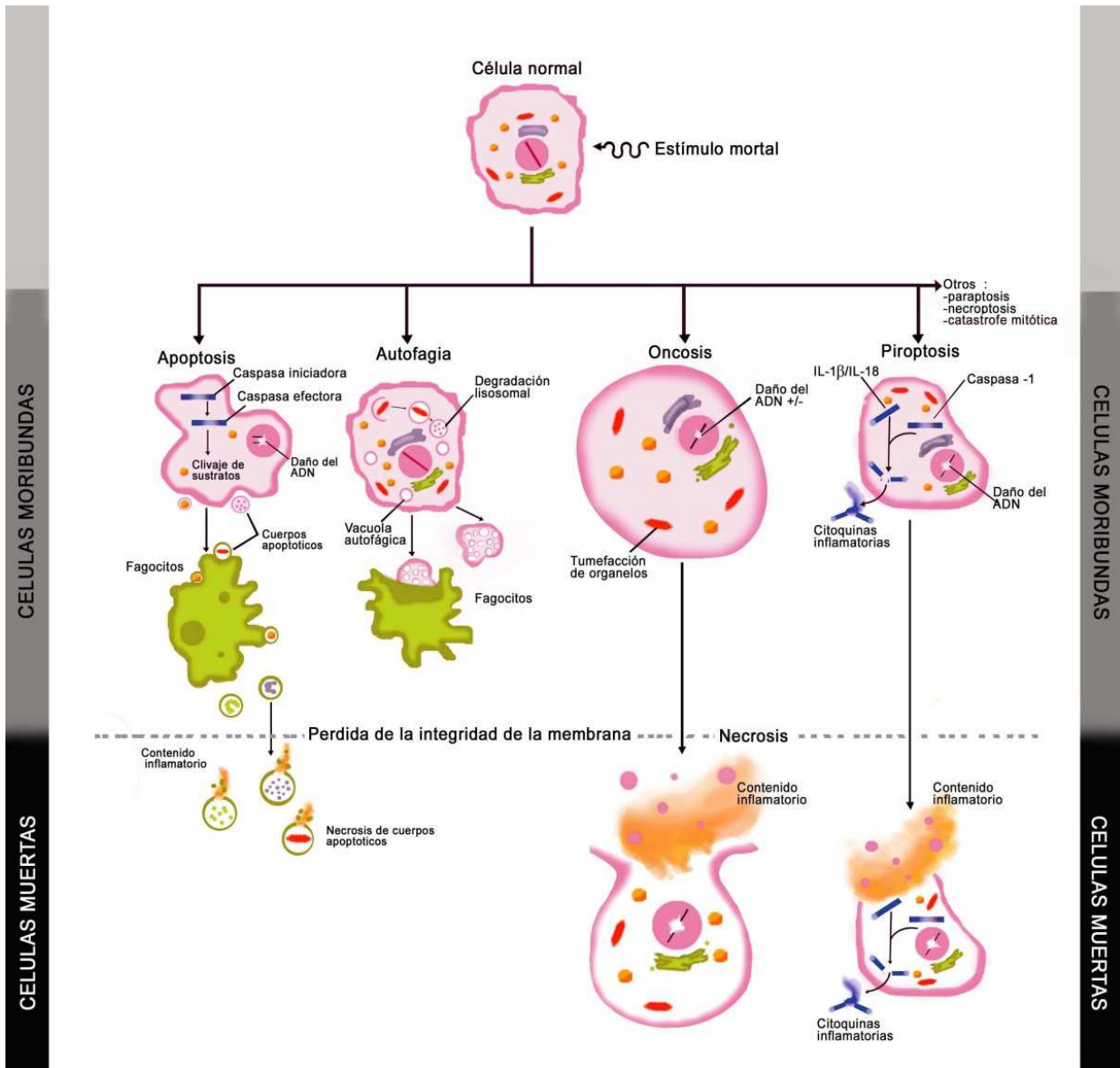


Figura 4.- Figura resumen de los distintos subtipos de muerte celular.