

forman parte de los tejidos. En algunos tipos de células móviles como los leucocitos, varían según el movimiento de la célula.

Al M/O se describen tres tipos de núcleos:

- cromatina laxa o de cara abierta;
- cromatina condensada o de cara cerrada;
- intermedio, con características de los dos ya descritos.

El núcleo de cromatina condensada o de cara cerrada, es un tipo de núcleo en el cual no se pueden identificar las estructuras que se observan en su interior, debido a la gran condensación que presenta la cromatina.

El núcleo de cromatina laxa o de cara abierta, es claro, y en el, se identifican sin dificultad todos sus componentes.

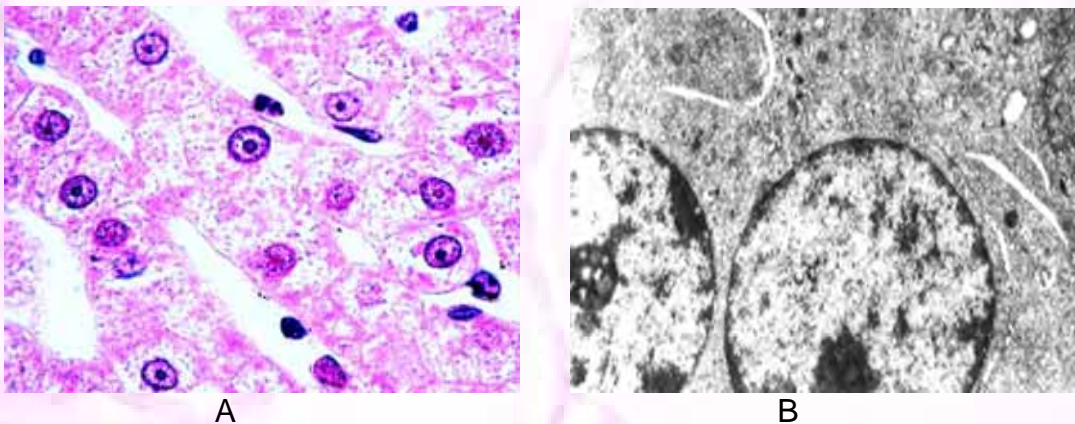


Fig. 3.9. Se aprecian los núcleos de cromatina laxa, en el que se evidencian todos sus componentes (A) al microscopio óptico y (B) al microscopio electrónico. También se aprecian en A algunos núcleos de cromatina condensada (muy oscuros) pegados a la luz de los vasos sanguíneos.

Para explicar el núcleo en interfase tomaremos como patrón el núcleo de cara abierta o de cromatina laxa. En el núcleo de interfase, es decir, de las células que no se encuentran en el período de división, se describen cuatro partes constituyentes: envoltura nuclear, nucléolo, cromatina y jugo nuclear.

ENVOLTURA NUCLEAR.

Como se señaló al principio, la característica principal que distingue a los organismos eucariotas de los procariotas es que los primeros presentan el material nuclear delimitado por una envoltura membranosa. Al M/E se comprobó que la envoltura nuclear es una estructura compleja, formada por una membrana interna y otra externa, el espacio perinuclear entre ellas y los complejos del poro. En general, la estructura nuclear es similar para todas las células eucariotas y varía discretamente en algunos de sus elementos constituyentes, aunque conserva el esquema general de organización.

Las membranas que forman la envoltura nuclear tienen una composición lipoproteica y son una continuidad del sistema de endomembranas que explicamos anteriormente que compartimenta la estructura celular. Cada una tiene un espesor de 7-8 nm y están separadas por el **espacio perinuclear**, el cual varía de 15-30 nm y no es uniforme a todo lo largo de la envoltura del núcleo. El espacio perinuclear contiene material estructurado, aunque esto no implica que en él no haya material orgánico e iones. A través del espacio perinuclear también se intercambia material con el citoplasma.

Las dos membranas de la envoltura nuclear se fusionan en ciertos sitios y forman una estructura circular o poligonal con un diámetro que varía entre los 30-100 nm. Estas discontinuidades reciben el nombre de poros, los cuales tienen una estructura compleja, que actúan a manera de diafragma y que están constituidos por 8 complejos proteicos. Los poros forman canales que permiten el paso de pequeñas macromoléculas del núcleo al citoplasma y viceversa, siendo esta la vía por la que llegan al citoplasma las subunidades ribosomales y por la que llegan al núcleo las proteínas asociadas al mismo.

Por la parte interior del espacio que limitan las dos membranas fusionadas se aprecia un material finamente granuloso, que se proyecta hacia las caras internas y externas del poro en forma de un cilindro o anillo. Por dentro de la membrana interna existe una estructura formada por un material denso, homogéneo, de constitución proteica, que recibe el nombre de **lámina interna densa** y que actúa como un esqueleto y le proporciona rigidez a la envoltura nuclear. Esta se encuentra unida a la parte interna de la envoltura nuclear separándola de la cromatina. Este material se interrumpe a nivel de los poros.

La membrana externa se continúa con el retículo endoplásmico rugoso. Se ha podido comprobar que las membranas de la envoltura nuclear contienen enzimas semejantes a las del RER. También se ha observado que durante la mitosis la envoltura nuclear se forma a partir de las membranas del RER. En este proceso sólo quedan ribosomas unidos a la membrana externa; unidos a la envoltura nuclear también se observan microtúbulos y microfilamentos.

NUCLÉOLO.

Este componente nuclear fue descrito por primera vez 1771, hace por tanto más de 200 años; en 1898 se realizó un estudio de su morfología en distintas especies y ya en la década de 1930-1940 se plantearon aspectos sobre la función nucleolar, relacionados con la síntesis proteica y el tamaño del nucléolo, así como se observaron irregularidades estructurales en células cancerosas.

En 1963 el nucléolo se estudió al M/E y se observó la composición granular y fibrilar que presenta; en este mismo año el nucléolo se aisló por técnicas de ultracentrifugación, lo cual permitió el estudio bioquímico. Este estudio ha brindado más información acerca de la función de esta pequeña estructura del núcleo.

La variabilidad en número y tamaño del nucléolo, así como las dudas que existían con respecto a su existencia, desaparecieron al observar el nucléolo en células vivas utilizando el microscopio de contraste de fase. Estos resultados sirvieron para llevar a cabo, mediante técnicas de microdisección, la reimplantación de nucléolos en otras células, o para obtener muestras de nucléolos.

El nucléolo en células fijadas y coloreadas presenta dos partes. Una denominada **pars amorpha**, que no presenta material estructurado en su constitución y que por tanto se observa como una zona clara, y la otra parte denominada **nucleolonema** (parte estructurada del nucléolo), estructura parecida a una pelota de estambre y que en la actualidad se ha podido comprobar que adopta más bien forma de una esponja de mar, quedando la pars amorpha contenida, por tanto, en las cavidades del nucleolonema.

La estructura del nucléolo es en realidad compleja, ya que observada al M/E se visualizan cuatro zonas distintas. Una de estas zonas está formada por estructuras granulares que se

denomina **parte granular**. Una segunda zona formada por fibrillas o grupos de fibrillas que se denomina, **parte fibrilar**. La **matriz nucleolar**, que es otra de las cuatro zonas, interconecta a las dos zonas anteriores y está formada por un material amorfo ligeramente más denso a los electrones que en el fondo en el cual se encuentra el nucléolo. La cuarta zona se compone de agregados de fibrillas y corresponde a porciones de cromatina que se extienden hasta el nucléolo, llamada **cromatina nucleolar**, donde se localiza el organizador nucleolar que es el que rige la síntesis de los componentes del nucléolo.

Los componentes granulares del nucléolo son similares en algunos aspectos a los ribosomas citoplasmáticos y contienen probablemente ARN 28s al igual que los ribosomas. Algunos autores han presentado evidencias de síntesis proteica en el nucléolo, lo que explicaría el sitio donde se sintetizan las proteínas de los ribosomas.

CROMATINA Y MATRIZ NUCLEAR.

Cuando se estudia una célula en un microscopio de contraste de fase, se puede apreciar que el núcleo de las células vivas se observa con aspecto ligeramente fibroso. Esta apariencia puede ser difusa o formar parte de conglomerados en distintas partes del núcleo, fundamentalmente en la periferia, por la parte interna de la envoltura nuclear.

Al utilizar la técnica de H/E, se aprecia que este material fibroso se colorea con la hematoxilina (colorante de tipo básico); por otra parte, mediante el empleo de técnicas citoquímicas específicas para la demostración del ADN (reacción de Feulgen) y con colorantes selectivos para las proteínas básicas, se pudo concluir que este material está constituido fundamentalmente por nucleoproteínas. Debido a la afinidad por los colorantes, este componente del núcleo recibió el nombre de **cromatina** (cromo, color). La cromatina en las células fijadas y coloreadas con hematoxilina adopta una disposición en grumos característicos, pudiéndose apreciar entre ellos cromatina dispuesta en forma de gránulos. A estos gránulos se les denominó **heterocromatina**. La heterocromatina del núcleo de interfase se observa no solamente en los cromosomas sexuales, sino también en otros cromosomas o autosomas.

Actualmente se designa con el nombre de heterocromatina, a los cromosomas o porciones de cromosomas que permanecen visibles durante la interfase. La porción de cromosomas que se deja visualizar al desarrollarse el cromosoma, o sea, las nucleoproteínas, se designan con el nombre de eucromatina. La heterocromatina está relacionada con las porciones de los cromosomas que no están brindando información para la síntesis de nuevas macromoléculas; en cambio, la eucromatina es la porción de los cromosomas que se encuentra en estado funcional. Es por esto que las células que están en una gran actividad sintética, por ejemplo, las células secretoras, las neuronas, etc., presentan un núcleo con poca cromatina condensada, pues por su actividad sintética la mayoría de las moléculas de ADN están brindando información. En estas células existen porciones de heterocromatina, correspondiente a las zonas que contienen la información no necesaria para la función en que esa célula se ha especializado.

La cromatina vista al M/E presenta un aspecto fibroso y se observan entre ellas estructuras que parecen corresponder a fibras cortadas transversalmente. Mediante técnicas autorradiográficas, administrando timidina tritiada, se ha comprobado que el ADN está limitado a las zonas donde se observan estas estructuras filamentosas. Entre los elementos fibrilares se han observado distintos tipos de granulaciones que varían de tamaño, siendo

este de 20-80 nm (como promedio). Se han descrito unos gránulos alrededor de la cromatina que contienen ADN y que recibieron el nombre de **gránulos pericromatínicos**.

La **matriz nuclear** ó **carioplasma** constituye la fase dispersante de las sustancias coloides que están contenidas en el núcleo, no se colorea y en él se encuentran elementos que intervienen en las reacciones enzimáticas nucleares.

ORGANITOS CITOPLASMATICOS.

MITOCONDRIAS Y RESPIRACIÓN CELULAR.

Las mitocondrias son organitos citoplasmáticos membranosos, que realizan la **respiración celular**, es decir, una serie de procesos que culminan en la producción de compuestos ricos en energía, la cual es utilizada en el metabolismo celular.

Su nombre derivado del griego (*mitos*, hilo y *condros*, grano), se relaciona con la forma que se observa al microscopio óptico, una forma alargada o filamentosa y una forma redondeada o granular.

El tamaño de las mitocondrias es muy variable, miden aproximadamente entre 0.5-1 μm de diámetro y entre 5 y 10 μm de longitud.

Como las mitocondrias están relacionadas con el metabolismo celular, el número de ellas está en dependencia de la actividad de la célula, existiendo pocas en algunos tipos celulares como el linfocito, y hasta cientos de ellas en otros tipos, como es el caso del hepatocito.

Las mitocondrias pueden aislarse fácilmente mediante ultracentrifugación. Mediante métodos químicos se ha determinado que estas estructuras presentan un peso seco de 30% de lípidos y un 60-70% de proteínas, la mayoría del tipo intrínseco.

Las mitocondrias se pueden colorear selectivamente mediante la fucsina básica o por medio de coloraciones supravitales como el verde Janus, el cual les imparte un color verdoso.

Con la utilización de la microscopía de fase, en células vivas, se ha observado que las mitocondrias se mueven constantemente, cambiando también su forma.

ESTRUCTURA AL M/E.

Al M/E se evidenció que las mitocondrias eran estructuras membranosas, que presentan la apariencia de vesículas delimitadas por dos membranas: **membrana interna** y **membrana externa**; la mitocondria es el único organito citoplasmático membranoso que presenta dos membranas.



Fig. 3.10. Imagen de una mitocondria. A) Esquema. B) al Microscopio electrónico.

La membrana externa es lisa, y la interna presenta invaginaciones aplanadas o tubulares hacia el interior de la mitocondria. La membrana interna delimita una cavidad denominada **cámara interna** y entre las dos membranas existe otro espacio denominado **cámara externa**.

El material contenido en la cámara interna se denomina **matriz mitocondrial**, y está formado por proteínas estructurales, ADN, ARN, ribosomas, gránulos ricos en Ca^{++} y Mg^{++} , y todas las enzimas del ciclo de Krebs y de la betaoxidación.

La membrana interna es el sitio donde se realizan los procesos de oxidación-reducción (cadena respiratoria) y de fosforilación. Como ya planteamos, la membrana interna se proyecta hacia la matriz formando pliegues, los cuales pueden ser de forma diversa en los distintos tipos celulares. La mayoría de las mitocondrias presentan pliegues aplanados que se denominan **crestas mitocondriales**. En las células musculares esqueléticas y en las cardíacas las crestas pueden presentar contornos zigzagueantes. En células productoras de hormonas esteroides las crestas tienen forma tubular y, en otras células, como los hepatocitos, se observan mitocondrias con la combinación de crestas y túbulos. Es conocido que mientras mayor sea la actividad celular, mayor será el número de mitocondrias y también la cantidad de crestas que éstas presenten.

En mitocondrias sometidas a un **shock hipotónico**, y teñidas negativamente con ácido fosfotúngstico, la superficie interna de la membrana interna, aparece tachonada con pequeñas partículas en forma de "maza" de unos 8-10 nm, las cuales se denominan **partículas elementales o F1**.

Estas partículas elementales contienen el factor de acoplamiento (ATP sintetasa), de los procesos de oxidación y fosforilación, y solamente mediante el shock osmótico se evidencian, pues normalmente están incluidas en la membrana interna.

La actividad funcional de las mitocondrias se efectúa por parte de los complejos enzimáticos que intervienen en la obtención de energía, y a través **respiración celular**, estos son:

1. Ciclo del ácido tricarbóxico (ciclo de Krebs).
2. Cadena respiratoria (sistema transportador de electrones).
3. Fosforilación oxidativa.

En relación con la presencia de ADN y ARN en las mitocondrias, se han elaborado hipótesis en las que se plantea que las mitocondrias fueron organismos simbiotes que toman de la célula sustancias y las procesan, formando ATP, CO₂ y H₂O. Existen evidencias que el ADN y el ARN (similares a los bacterianos), son incapaces de sintetizar todas las proteínas necesarias para las mitocondrias, la cual necesita del aporte del ADN nuclear para la síntesis de gran parte de las enzimas de los complejos que hay en ella.

El ADN mitocondrial se duplica independientemente del ADN celular; su molécula es menor y además presenta forma circular.

Las mitocondrias se disponen en las células en aquellos sitios en los cuales hay un gran requerimiento energético; por ejemplo, en las células musculares estriadas se localizan alrededor de los filamentos contráctiles y en las células del tubo contorneado del riñón, se encuentran ubicadas entre las invaginaciones basales de la membrana celular, lugar donde se realiza un intenso intercambio de iones a través de la membrana citoplasmática lo que requiere un alto consumo de energía. En otras células se disponen libremente en el citoplasma. Se pueden observar mitocondrias asociadas a pequeñas vacuolas con lípidos, sobre todo en períodos de ayunos.

En los procesos en que hay daño celular, la ultraestructura mitocondrial es uno de los indicios más tempranos de esta alteración, sufriendo cambios degenerativos que van desde un hinchamiento de la mitocondria hasta la fragmentación, dispersión y degeneración hialina.

ORGANITOS QUE INTERVIENEN EN LA SÍNTESIS DE PROTEINAS Y LIPIDOS.

Los organitos que estudiaremos a continuación constituyen la maquinaria sintética de la célula y aunque los mismos no presentan en todos los casos continuidad morfológica, están interconectados por vesículas de transferencia, que trasladan los productos de uno a otro sitio entre los mismos.

RIBOSOMAS.

Los ribosomas son organitos citoplasmáticos no membranosos, presentes en casi todas las células, y que están relacionados con la síntesis de proteínas.

Las características morfológicas de los ribosomas han sido descritas mediante diversas técnicas, observándose al M/E como pequeños cuerpos esféricos o elipsoides, con un diámetro aproximado de 15-20 nm. Cada ribosoma, está constituido por dos unidades diferentes, pudiendo ser separadas por diferentes medios, entre ellos, disminuyendo la concentración de Mg⁺⁺ del medio.

Los ribosomas, dado su pequeño tamaño, no son visibles al M/O como unidades independientes, pero, por su composición química (ARN ribosomal y proteínas), reaccionan con la hematoxilina, y se observa en células con grandes concentraciones de ribosomas, una basofilia citoplasmática, que puede ser difusa o localizada, lo cual depende de la localización de los ribosomas.

Los ribosomas pueden localizarse libres en el citoplasma o asociados a membranas. En el primer caso pueden estar como unidades o subunidades en la matriz celular o también formando acúmulos de varios ribosomas unidos a un ARN mensajero (polisoma o

polirribosoma) y es la forma en que son activas para la síntesis proteica: por ejemplo, los ribosomas que sintetizan la proteína hemoglobina forman polirribosomas de cinco unidades.

La unión de ribosomas con membranas será estudiada en el retículo endoplásmico. Los ribosomas de células eucariotas sedimentan en un campo gravitacional, formando unidades de 80 S (S, unidad Svedverg); esto es debido a diversos factores, tales como forma, tamaño y densidad de las partículas. Las dos subunidades ribosomales sedimentan con valores de 60 S para la mayor y 40 S para la menor.

Cada unidad está formada, de manera general, por cantidades similares de ARN y proteínas, todo lo cual se dispone de una manera específica y forma la estructura del ribosoma. La mayor parte de las proteínas ribosomales son enzimas que intervienen en el proceso de síntesis proteica.

Mediante métodos autorradiográficos y otros, se ha determinado que el sitio de síntesis de las unidades ribosomales es el núcleo a partir del ADN de los organizadores nucleolares, y de ahí se desplazan a través de los poros de la envoltura nuclear hacia el citoplasma, lugar donde efectúan la síntesis proteica en asociación con el ARN mensajero y el ARN de transferencia.

De forma general, puede decirse que los ribosomas libres sintetizan las proteínas estructurales de las células, y que los ribosomas unidos a membranas sintetizan las proteínas de secreción. En el momento de la síntesis se unen las subunidades, las cuales se encuentran en el citoplasma como fuente de reserva; una vez concluida la síntesis proteica se separan las subunidades, quedando dispuestas para una nueva utilización.

RETÍCULO ENDOPLÁSMICO.

El retículo endoplásmico (RE) es un organito citoplasmático de tipo membranoso, del que existen dos variedades: una que presenta sus membranas cubiertas por ribosomas, el retículo endoplásmico rugoso (RER) y otra que no presenta ribosomas, retículo endoplásmico liso (REL).

RETÍCULO ENDOPLÁSMICO RUGOSO.

Antes de la utilización del microscopio electrónico, se tenían conocimientos indirectos sobre este organito. Algunos investigadores observaron en el citoplasma de algunas células, una sustancia que tenía afinidad por los colorantes básicos. Por su parecido tintorial con la cromatina, la denominaron sustancia cromófila; también sustancia cromidial, constituida por ARN, lo que explicaba su afinidad por los colorantes básicos.

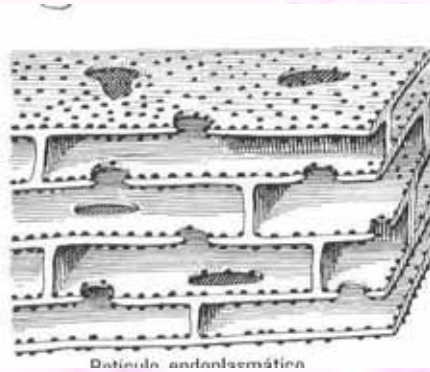
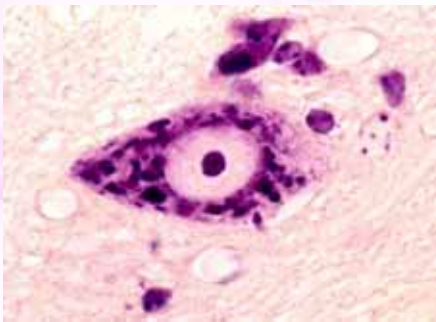
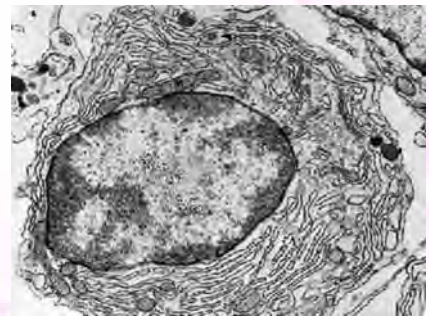


Fig. 3.11. Esquema donde se observan las cisternas del Retículo endoplasmático tachonadas de ribosomas.

Al inicio de la microscopía electrónica, utilizando células de cultivo extendidas, se observó en el citoplasma de ellas un enrejado que ocupaba las porciones más cercanas al núcleo (endoplasma). Por esto, dicho organito se denominó retículo endoplásmico; además, los ribosomas aún no eran visibles con las técnicas disponibles. Posteriormente, al perfeccionarse las técnicas, sobre todo el corte, se comprobó que el RE no solamente se encontraba en las cercanías del núcleo, sino que podía estar localizado en todo el citoplasma, pudiendo apreciarse además la existencia de las dos variedades.



A



B

Fig. 3.12. En A se observa una neurona coloreada con cresil violeta, las manchas basófilas se corresponden con el Retículo endoplasmático rugoso. En B se observan las cisternas con sus ribosomas al Microscopio electrónico

El RER, por el grosor de sus constituyentes, no es visible al M/O, pero al igual que en las células donde hay una gran cantidad de ribosomas es posible distinguir una basofilia citoplasmática, en diversas formas, según el tipo celular y la actividad de síntesis. Es posible visualizar la basofilia citoplasmática, localizada en una región de la célula: por ejemplo, la célula acinar del páncreas, que presenta su RER hacia la base. También se puede localizar la basofilia en varias regiones del citoplasma, tales como en la neurona, donde se observan como cuerpos de Nissl. La basofilia puede estar diseminada por toda la célula, observándose el citoplasma basófilo, como en la célula plasmática que elabora anticuerpos.

El RER se especializa en la síntesis proteica, la cual es realizada por los ribosomas adheridos a las membranas, las proteínas quedan aisladas del resto del citoplasma por las membranas del RE.

Las membranas del RER presentan un espesor de 6 nm, y son más delgadas que las membranas citoplasmática y del aparato de Golgi. Al M/E se observan con la estructura trilaminar ya descrita, y se disponen en formas de sacos, cisternas y tubos, los cuales se interconectan. En el interior de las cisternas hay una cavidad de unos 30-70 nm de espesor.

El interior de las cisternas puede estar ocupado por un material finamente granular o filamentoso. La superficie externa de las membranas de las cisternas y los tubos, se encuentra recubierta de ribosomas, los que al ir sintetizando las proteínas las pasan al interior de las cisternas, donde se van concentrando y posteriormente pasan en vesículas de transición al aparato de Golgi. El espacio de las cisternas generalmente es estrecho aunque en células con gran actividad de síntesis de proteínas como la célula plasmática, las cisternas están distendidas por el material secretor contenidas en ellas.

El RER se relaciona con la envoltura nuclear, y es responsable de su formación después que termina la mitosis. Se ha observado que existe continuidad con la envoltura nuclear e incluso algunos investigadores plantean un flujo de membranas entre el núcleo y el RER.

RETÍCULO ENDOPLÁSMICO LISO.

El REL está formado fundamentalmente por un sistema de membranas en forma tubular, que forman a veces una trama bastante compleja. En algunos tipos celulares el REL alcanza un desarrollo notable, como es en las células productoras de hormonas esteroideas.

El retículo endoplásmico liso presenta en algunas células continuidad con el RER y, desde el punto de vista funcional, con el aparato de Golgi, al enviar hacia él pequeñas vesículas cargadas de material que luego se fusionan al aparato de Golgi para su secreción.

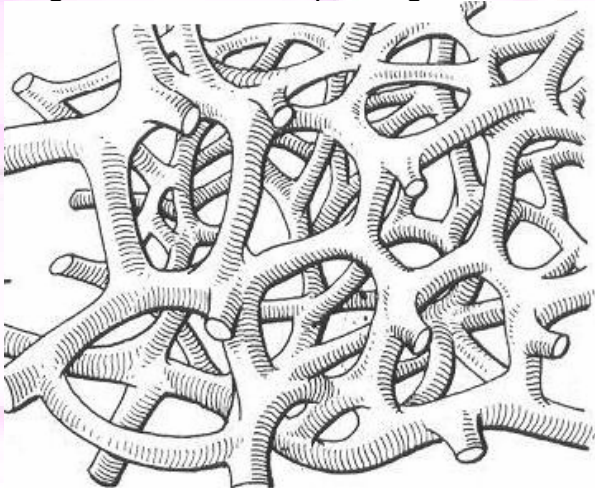


Fig. 3.13. Esquema del Retículo endoplásmico liso, formando una red interconectada de túbos.

El REL se encarga de la síntesis de lípidos y compuestos de colesterol, por lo que abunda en células que secretan lípidos, lipoproteínas y colesterol.

En la célula hepática se sintetiza la mayor parte de las lipoproteínas. Estas comienzan su síntesis en el RER (las proteínas) y de ahí pasa al REL, donde se le añade el lípido y son enviadas hacia el aparato de Golgi para su secreción.

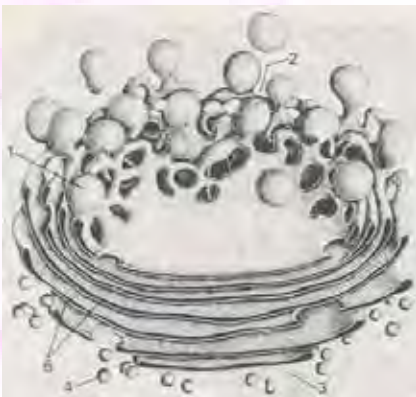
En las células intestinales las grasas son absorbidas en forma de compuestos simples; posteriormente, a nivel del REL de las células absortivas del intestino se reelaboran compuestos más complejos, los cuales son enviados hacia el medio extracelular para su distribución.

FUNCIONES DEL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO LISO.

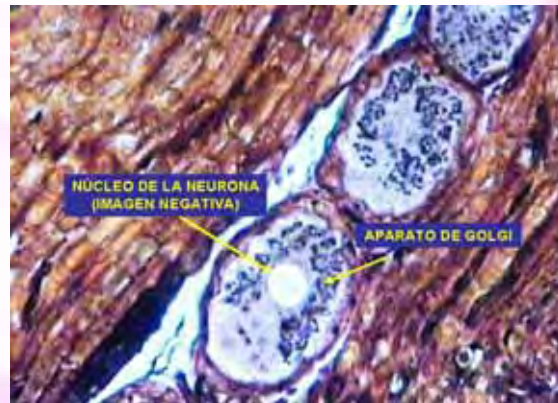
1. Glucogenolisis y detoxificación, ambas en células hepáticas.
2. Producción de CLH en las células parietales del estómago.
3. Acumulación de iones Ca^{++} para el mecanismo de contracción muscular, en las células musculares estudiadas.
4. Contiene enzimas para la síntesis de triglicéridos, fosfolípidos y colesterol.
5. Sirve de soporte mecánico intracelular.
6. Forma compartimientos intracelulares.
7. Interviene en el transporte de sustancias dentro de la célula.
8. Participa en el reciclaje de endomebranas.

APARATO DE GOLGI.

En 1898, Camilo Golgi, investigador italiano, trabajando con medios muy rudimentarios, observó al microscopio cortes de tejido cerebral impregnados en sales de plata, y observó en el citoplasma de las neuronas un material oscuro en forma de pequeña red. El lo denominó aparato reticular interno de la célula. Los estudios hechos por otros investigadores, demostraban la existencia de dicha estructura, que no en todos los tipos celulares aparecía como una red, de ahí que cambiaran el nombre por **aparato de Golgi o complejo de Golgi**.



A



B

Fig. 3.14. A . Esquema del Aparato de Golgi: 1) vesículas 2) cara madura o trans 3) cara formadora o cis 4) vesículas de transferencia. 5) sacos aplanados. B. Neuronas de ganglios craneo-espinales teñidas con la técnica de impregnación argéntica. El núcleo se ve en blanco (imagen negativa) y el aparato de Golgi se observa como filamentos pequeños alrededor del mismo.

Si bien a principios de este siglo Golgi recibe el Premio Nóbel por su descubrimiento compartiéndolo con Santiago Ramón y Cajal, quedaron dudas en cuanto a la existencia real de esta estructura citoplasmática y no es hasta la utilización del microscopio electrónico que se establece la existencia de este organito en casi todas las células. El aparato de Golgi es un organito membranoso, en forma de sacos y vesículas, que se encuentra generalmente cerca del núcleo.

Por medio de la autorradiografía, el fraccionamiento celular y las determinaciones bioquímicas y citoquímicas, se establece hoy un concepto preciso del funcionamiento de este sistema celular.