

## La ciencia de las células: Un paseo por la historia

M. A. Peinado

### Introducción

La biología, aun cuando representa una parte pequeña del universo conocido, es sin duda para el hombre la más significativa de las ciencias. «*Si la ambición última de la ciencia es dilucidar la relación del hombre con el universo, el conocer el secreto de la vida, parece un paso previo a tal fin*» (MONOD, 1981); con esta frase, el célebre bioquímico Monod ponía de manifiesto la enorme influencia de los descubrimientos biológicos de las últimas décadas sobre el pensamiento y la filosofía. El hecho de que conceptos como el de mente/alma puedan ser considerados como la expresión funcional de un conjunto de sustancias químicas liberadas en unos circuitos neuronales específicos, el conocimiento de las bases celulares y moleculares de numerosos procesos patológicos y la posibilidad de tratamiento realmente etiológico, la utilización de las nuevas tecnologías de biología celular y molecular para el esclarecimiento de ciertos procesos legales, las técnicas de fecundación *in vitro*, las de clonación génica, el conocimiento del genoma humano y el posible abordaje experimental de su expresión, y tantos otros logros recientes ha producido una tremenda revolución no sólo dentro de las ciencias biológicas, sino dentro de la propia sociedad. En el presente artículo se hace un recorrido por el nacimiento, desarrollo actual y futuro inmediato

de la ciencia de las células, punto de encuentro en el que confluyen y se integran, las demás disciplinas que constituyen las ciencias biológicas.

### Nace la ciencia de las células

El estudio de la organización estructural de los seres vivos ha evolucionado a lo largo de la historia de acuerdo con el pensamiento científico de la época y siempre en estrecha relación con el progreso tecnológico. Así, los primeros estudios conocidos sobre la estructura celular y tisular de los órganos, se inician a partir de la construcción del primer microscopio óptico (atribuido a los hermanos Jansson en 1590). No obstante, no es hasta mediados del siglo XVII, cuando dos grandes microscopistas, a la vez observadores de la naturaleza y constructores de sus propios microscopios, Robert Hooke en Inglaterra y Antoni van Leeuwenhoek en los Países Bajos, marcaron el comienzo del estudio microscópico de los seres vivos. Así, el descubrimiento de las células se atribuye a Hooke, que a los 27 años de edad fue premiado con el puesto de «Guardián» de la *Royal Society*, la academia científica más antigua de Inglaterra. Una de las preguntas para la que Hooke intentó obtener una respuesta fue la siguiente: «¿porqué los tapones de corcho, hechos de corteza de alcornoque, eran tan adecuados para rete-

Palabras clave: Célula. Biología molecular. Transducción. Genoma. Proteoma.

Fecha de recepción: Enero 2001.

Seminario Médico

Año 2001. Volumen 53, N.º 1. Págs. 51-64

ner el aire dentro de una botella? Con su propio microscopio observó laminillas de corcho que obtuvo con una navaja de barbero bien afilada, y comprobó que presentaban una estructura porosa que comparó con un panal de abejas, denominando «celdillas» a los huecos que observó, vocablo del que procede la palabra célula. Sin embargo, estas celdillas no se corresponden con lo que hoy se entiende por célula, ya que realmente lo que Hooke describió se correspondía con las paredes vacías de un tejido vegetal muerto, paredes que fueron originariamente producidas por las células vivas que inicialmente se encontraban dentro de tales celdillas. Hooke publicó estas observaciones en su célebre *Micrographia* (1665), primera obra de referencia dedicada a la observación microscópica de los seres vivos. Por la misma época, Leeuwenhoek, un holandés que se ganaba la vida vendiendo telas y botones, dedicaba sus ratos libres a construir microscopios de notable calidad. Durante 50 años este comerciante, envió cartas a la *Royal Society* de Londres, en las que describía sus observaciones microscópicas sobre los «animalillos» que aparecían en las gotas de agua estancada y en raspados de sus propias mucosas bucales. El escepticismo despertado en la *Royal* necesitó de la constatación oficial de uno de sus miembros más insignes el *Guardián* y científico Robert Hooke, que tras una visita a Holanda pudo comprobar *in situ* las observaciones de Leeuwenhoek.

En 1675, Marcello Malpighi, en su obra *Anatomic Plantarum*, describe una serie de estructuras, en el tallo de diversas plantas, que denominó *sáculos*; estos *sáculos*, que corresponden a los tejidos conductores del vegetal, según sus propias palabras, eran *cavidades rellenas de líquido conectadas entre sí por tabiques membranosos*. Otro de los descubrimientos fundamentales de este científico fueron los vasos capilares que conectan sistema arterial y venoso. Otros autores, como el botánico Nehemiah Grew, realizó los primeros estudios sistemáticos

de Anatomía Comparada, tanto en vegetales (1675) como en animales (1681).

La interpretación científica de todas las observaciones del siglo XVII, llevó a la idea de que los distintos tejidos integrantes de los órganos estaban formados por unidades estructurales básicas. Aunque esta concepción marca el concepto primitivo de célula, durante todo el siglo XVIII se avanzó poco en el campo de la citohistología. Entre las escasas aportaciones que pueden destacarse se encuentran las descripciones y dibujos de Félix Fontana en 1781 sobre células con núcleo en la epidermis de la anguila. Así mismo, el suizo Albrecht von Haller, en su obra *Elementa Physiologiae Corporis Humani* (1757-66), describe con gran precisión lo que el autor denominó «tejido celuloso» (hoy conocido con el nombre de conectivo laxo). Además sus trabajos establecen la correlación entre determinados tejidos y funciones específicas (por ejemplo el dolor es transmitido por los nervios). Otro de los logros técnicos de este período corresponde a la invención del microtomo por Adams en 1780.

Sin embargo, no fue hasta el siglo XIX cuando se comienza a comprender la verdadera importancia de las células y cuando la acumulación de conocimientos en los distintos campos de la biología alcanza el nivel crítico necesario para pasar de la mera descripción a las primeras y más importantes generalizaciones de esta ciencia. Así, se emite la Teoría Celular, se enuncian los principios fundamentales de la Reproducción y de las Leyes Mendelianas de la herencia, y es cuando Darwin publica sus trabajos sobre el origen de las especies que le sirven de base para enunciar la Teoría de la Evolución.

Es en los albores del siglo XIX cuando Xavier Bichat, en su obra *Traité des Membranes*, indica que en todos los órganos se pueden encontrar los mismos materiales fundamentales, pero agrupados de forma diversa; estos materiales corresponden a lo que hoy conocemos como tejidos, por lo que sus hallazgos le han valido el título de «pa-

dre de la Histología». Para Bichat existían 21 elementos o tejidos que formaban los materiales del organismo. Esta incipiente ciencia fundada por Bichat fue denominada como Anatomía General para posteriormente ser descrita por Meyer en 1819 como Histología.

En 1823, Ernest Abbe perfeccionó la parte óptica de los microscopios construyendo lentes apocromáticas y de inmersión, lo cual permitió aumentar el poder de resolución de los microscopios hasta casi una micra. De forma paralela la necesidad de preparaciones histológicas que permitiesen la observación a grandes aumentos indujo al desarrollo paralelo de las técnicas de preservación del material biológico, la obtención de cortes finos de tejido y las técnicas de tinte. Así, ya en el siglo XIX se empezaron a utilizar sustancias fijadoras que preservasen la estructura tisular (JACOBSON, 1830; RANVIER, 1860; BOUIN, 1860), se llevaron a cabo tinciones con colorantes como el Carmín (CORTI, 1851), las anilinas (BENKE, 1862) o la hematoxilina (WALDEYER, 1863), y se empezaron a realizar cortes finos y seriados mediante el perfeccionamiento de los microtomos (HIS, 1866; RANVIER, 1874; MINOT, 1886).

Todos estos progresos tanto conceptuales como técnicos desembocaron en avances científicos considerables que se van sucediendo a lo largo de todo el siglo XIX y de los cuales el enunciado de la Teoría Celular es uno de los más importantes y con un mayor número de implicaciones.

A Matthias Schleiden, abogado alemán convertido en botánico, y a Theodor Schwann, zoólogo alemán y colega de Schleiden, se debe básicamente la concepción de la Teoría Celular; ambos científicos a partir de estudios paralelos pero independientes en botánica y zoología, respectivamente, vinieron a enunciar hacia 1838 que «todos los seres vivos, tanto animales como vegetales, están integrados por una o más células», por lo que llegaron a la conclusión de que «la célula es la unidad estructural de la vida». Sin embargo, ambos científicos no llegaron

a conclusiones acertadas sobre el origen de las células que pensaban podían originarse de material no celular. No fue hasta 1855 que el patólogo alemán Rudolf Virchow propuso una hipótesis convincente para el origen de las células afirmando, con su celebre frase «*Omnis cellula e cellula*», que toda célula procede de otra célula y sentando las bases del tercer dogma de Teoría Celular que indica que «las células sólo pueden originarse por división de otras preexistentes», lo que confirmaron Kölliker en estudios zoológicos y Stramberger en estudios botánicos; por su parte, ambos científicos vinieron a determinar, respectivamente, el origen ontogénico de los animales en la fusión de óvulo y espermatozoide y de los vegetales en la unión de óvulo vegetal y grano de polen.

Sin embargo, durante esta primera mitad del siglo XIX, hubo todo un plantel de científicos que aportaron diferentes hallazgos determinantes de la consolidación de las bases científicas de la biología en general y de la incipiente ciencia de las células y tejidos en particular. Así, Purkinje (1830), Brown (1831) y Schwann (1839), describieron el núcleo como componente constante en la mayoría de las células de un gran número de tejidos. Paralelamente, Durjain (1835) introdujo el término «sarcoda» que posteriormente fue denominado «protoplasma» por Valentín (1836). A estas alturas el concepto de célula, como base estructural de todos los seres vivos, comenzaba su andadura con los enunciados de Schleiden (1832) y Schwann (1838). Este último aplicó su teoría de la universalidad de la constitución celular a la clasificación de los tejidos animales, distinguiendo cinco tipos generales: sangre, piel, tejidos calcificados (hueso y cartílago), tejidos fibrosos (ligamentos y tendones) y tejidos sincitiales (muscular y nervioso). Esta clasificación fue recogida en la obra de Hense (1841). Finalmente, Remark (1852), Pasteur (1859) pero sobre todo Virchow (1858), como ya hemos apuntado, terminan de configurar la Teoría Celular.

El contenido doctrinal de Schwann adolecía de dos limitaciones, una relativa a la citogénesis, como ya hemos apuntado, y otra a la constitución de la célula. En la segunda mitad del siglo XIX, la investigación citológica estuvo encaminada a superar estas limitaciones. En concreto la incipiente ciencia emergente denominada ahora Citología, experimentó un notable avance con el descubrimiento del ergastoplasma (HEINDENHAIN, 1868), el huso acromático (HEMANN, 1873), el centrosoma (FLEMING, 1875), el condrioma (BENDA, 1889) y el aparato reticular interno (GOLGI, 1898). El conocimiento del núcleo y su papel en los procesos de división celular avanzó considerablemente con los estudios de von Nägeli (1846) que intuyó la existencia de determinantes genéticos a los que denominó «idioplasma», observando cómo los núcleos de las células hijas procedían del núcleo de la célula madre. Hofmeister (1848) describió la ruptura de la membrana nuclear previa a la división. De forma independiente, van Beneden y Stranburger realizaron en 1875 el primer informe detallado de la división del núcleo, con la descripción y separación de los cromosomas. Un año después Balbiani propuso la escisión transversal de los cromosomas antes de su emigración. Flemming (1882) señaló la correcta «segregación» de los cromosomas, término que acuñó Waldeyer en 1888.

De forma paralela al conocimiento del núcleo celular y la mitosis, se describió el proceso de fecundación (PRINGSHEIM, 1856; BÜTSCHLI, 1873; HERTWIG, 1876). Boveri, Hertwig y Flemming describieron la división reduccional que Farmer y Moore denominaron «mayosis» y que posteriormente acabó siendo meiosis. Más tarde, Rucker, describió la existencia de un intercambio genético durante los apareamientos cromosómicos de la meiosis.

La morfología microscópica animal experimentó también un gran avance en la segunda mitad del siglo XIX. La clasificación tisular propuesta por Schwann hizo cambiar el concepto de Histología y marcó el punto

de arranque de esta ciencia. A ello se suman los estudios de von Kölliker, que publica el primer texto específico de Histología en 1852, y el primer análisis comparado de tejidos que realiza Leiding en 1857. Durante toda la mitad del siglo XIX insignes científicos españoles encabezados por Aureliano Maestre de San Juan, y entre cuyos miembros también se cuenta el ilustre giennense Martínez de Molina, constituyen la escuela Histológica Española cuya labor culmina con la concesión a uno de sus miembros Santiago Ramón y Cajal del premio Nobel de Medicina en 1906.

Aunque, afianzado el estudio sistemático de los tejidos, la teoría celular todavía no estaba totalmente aceptada a finales del XIX. De hecho, el tejido nervioso seguía describiéndose como una red continua de protoplasma sin células claramente separadas entre sí. Gracias a la técnica de tinción ideada por Camilo Golgi y a la idea acertada de Santiago Ramón y Cajal de emplear material embrionario, en el que las neuronas presentaban todavía una arborización menos compleja que en el adulto, nuestro insigne científico consigue demostrar que el SNC estaba constituido por células completamente individualizadas que establecían estrechos contactos, y no por una red como se había supuesto hasta entonces. En definitiva la doctrina de la neurona basada en los extensos estudios de Ramón y Cajal, His y De Forel, estableció de forma completamente general la validez de la teoría celular.

Como último acontecimiento relevante del siglo XIX, cabe señalar la publicación por Hertwig de la obra *Die Zelle und das Gewebe* (1882), en la que se muestra la importancia de la función celular en el contexto de las ciencias de la vida. Realmente esta obra se puede considerar como la base sobre la que se sustenta el nacimiento de la Citología como ciencia.

No obstante, este recorrido apresurado por el nacimiento de la ciencia de las células y los tejidos, sería incompleto, si no hiciera alusión al contexto científico de la época en

que se afianzan los contenidos de la teoría celular que junto a la teoría del origen de las especies y a los descubrimientos incipientes de la bioquímica y de la genética clásica catalizan la conversión de la biología en una ciencia experimental capaz de dar respuesta a preguntas que hasta entonces estaban atrapadas en concepciones filosóficas y religiosas.

Así, a mediados del siglo XIX Charles Darwin y Alfred Wallace enuncian la Teoría de la Evolución, bajo la idea de que ciertas «fuerzas del entorno» actúan como agentes de «selección natural», produciendo cambios hereditarios que se transmiten de generación en generación. Esta concepción permite comprender cómo, en un entorno ambiental selectivo se pueden estar produciendo continuamente nuevas especies que sustituyen a las antiguas incapaces de adaptarse a las condiciones cambiantes de dicho entorno.

Los primeros avances de la nueva ciencia de la química de la vida son algo más tardíos pero de enorme repercusión para el avance de esta ciencia. En 1838 el bioquímico G.J. Mulder descubre las proteínas como principales constituyentes de la materia viva; más adelante Friedrich Wöhler sintetiza urea, y en 1897 Edward Buchner demuestra que se puede transformar glucosa en alcohol a partir de extractos celulares. En 1900 ya se conocían 16 de los 20 aminoácidos que forman las proteínas (la treonina no se aisló hasta 1935) y Fischer había descrito el enlace peptídico. También lípidos, glúcidos y ácidos nucleicos habían empezado a purificarse a finales del XIX. Concretamente, en 1871 Friedrich Miescher aisló ADN a partir de núcleos de leucocitos muertos, aunque tuvieron que pasar casi 50 años para que se pudieran relacionar estas moléculas con los caracteres hereditarios.

Muchos años antes, hacia 1865, el monje benedictino Gregor Mendel sentaba las bases de las leyes de la herencia mediante experiencias llevadas a cabo en el jardín de su convento con plantas de guisante de di-

ferentes características; sin embargo, sus trabajos pasaron desapercibidos hasta los albores del siglo XX, época en la fueron redescubiertos permitiendo establecer la conexión entre la genética mendeliana y la división celular. Fueron Thomas Hunt Morgan y sus discípulos los que emprendieron el estudio de la segregación de las unidades hereditarias o genes (cómo los denominó el genético danés Wilhemlm Johansen en 1909). Entre los hallazgos más significativos de los estudios de Morgan, que llevó a cabo en individuos con caracteres diferentes (mutantes) de la mosca del vinagre *Drosophila melanogaster*, se cuenta el correspondiente al descubrimiento de los denominados «grupos de ligamiento»; en efecto, este científico describió que los genes de este insecto se segregaban en cuatro bloques que relacionó con los cuatro cromosomas que tiene la especie.

En 1909, Carrod observó que la alcaptonuria, una enfermedad rara caracterizada bioquímicamente por la falta de una enzima, se heredaba de acuerdo con las leyes de la herencia mendeliana. Sin embargo, no fue hasta que Beadle y Enphrussi realizaron una serie de injertos entre larvas de *Drosophila* mutantes para el color de los ojos, que no cayeron en la cuenta de la conexión existente entre actividad de los genes y acción bioquímica de una enzima. Más adelante, el propio Beadle junto a Edward Tatum, en estudios con mutantes del hongo *Neurospora* incapaces de crecer en medio mínimo, observaron que la adición de un aminoácido o una vitamina al cultivo, les permitía superar esta incapacidad. Llegaron a la conclusión de que cada cepa mutante era portadora de un único defecto genético que impedía la formación de una determinada enzima necesaria para un determinado paso metabólico imprescindible para su crecimiento y división. Enunciado el postulado «un gen una enzima», el siguiente paso fue el estudio de la estructura química de los genes. Uno de los principales motivos del éxito alcanzado en la elucidación de este nuevo reto fue sin duda el uso de cul-

tivos de microorganismos para este tipo de estudios. Así, los estudios llevados a cabo en *Escherichia coli* por Joshua Lederberg permitieron definir los genes bacterianos no sólo a partir de experiencias nutricionales, si no también por el intercambio genético que tiene lugar durante el apareamiento de dos células bacterianas. Todos estos estudios llevaron a Lederberg, Beadle y Tatum a la obtención del Nobel en 1958.

Finalmente, la demostración en cepas de *Streptococcus pneumoniae*, de que el principio transformante podía convertir a cepas inocuas (rugosas) en cepas infectantes (lisas) en ratones, llevó a Avery, MacLeod y McCarty a finales de los 50 a la identificación del ADN como la molécula que constituye el material genético y a sentar las bases de la moderna biología de las células.

#### Situación actual de la Biología Celular

Ya en el siglo XX, el espectacular avance tecnológico que acompaña al desarrollo científico de la Biología, permite alcanzar una serie de logros que, como acabo de mencionar, sientan las bases actuales de la ciencia de las células. Entre los principales factores que han conducido al estado de conocimientos actual, no sólo en el terreno de la Citología, sino también de la Bioquímica, la Genética y la Fisiología, se encuentran el desarrollo de las técnicas de microscopía electrónica y de difracción de rayos X, así como las técnicas de biología molecular en su más amplia acepción.

En concreto la microscopía óptica experimenta un notable progreso con la introducción del microscopio binocular desarrollado por Ives (1902), el uso de fuentes alternativas de iluminación como la luz ultravioleta (BARNARD, 1925) y la polarizada (SCHMIDT, 1929) y la invención del microscopio de contraste de fases (ZERNICKE, 1938) y de interferencia (NOMARSKY, 1955). No obstante, la construcción del primer microscopio electrónico de transmisión por Ruska y von Borries (1932) abre un campo de conocimientos impresionante que per-

mite comprender la estructura y función de los orgánulos celulares; además, este instrumento revela la gran similitud existente entre unas células y otras aún pertenecientes no sólo a tejidos muy diferentes, sino también a especies evolutivamente muy distantes. Así el conocimiento de la ultraestructura de células y tejidos que permite el uso de este instrumento, hace avanzar desde los años 40 a los 70 de manera revolucionaria los conocimientos, no sólo en lo referente a la organización submicroscópica de ambos niveles de organización, sino también sobre los procesos bioquímicos en que se encuentran implicadas las moléculas que forman las células. Durante este período, y gracias a la ayuda de este instrumento, se consigue observar la transformación sistematizada que sufren orgánulos y estructuras subcelulares por efecto de determinadas situaciones fisiológicas o patológicas, así como por la acción de múltiples tratamientos con agentes físico-químicos. Con la aparición en la escena científica del microscopio electrónico de barrido en la década de los 70 (BOYDE, 1976), se consigue una nueva y sorprendente aproximación al estudio tridimensional del nivel ultraestructural. Evidentemente, las técnicas citológicas e histoquímicas junto a las de congelación-grabado, resultan piezas claves que acompañan durante estas décadas al cada vez más potente poder de resolución que aportan los nuevos microscopios.

Ni que decir tiene, que en el inicio de la segunda mitad del siglo XX, el desarrollo por parte de la bioquímica tradicional de experimentos que alcanzan el fraccionamiento celular y la purificación de proteínas son piezas claves que completan el panorama científico del momento. Así, los métodos de centrifugación zonal permiten separar las diferentes estructuras y orgánulos celulares. Estos experimentos conducidos sobre todo por el grupo de Albert Claude de la *Rockefeller University* y por el científico belga Christian de Duve en la década de los años 40, alcanzan un éxito notable que se completa con el análisis microscópico de la frac-

ciones obtenidas por centrifugación diferencial en gradiente; estos últimos trabajos, llevados a cabo por el científico norteamericano George Palade. Así se consigue por primera vez correlacionar la estructura celular con la actividad bioquímica, es decir, se van sentando las bases de la fisiología de los diferentes orgánulos y estructuras celulares. Todos estos avances permiten que a finales de los 50/principios de los 60, las observaciones procedentes de genetistas, bioquímicos y citólogos se encuentren maduras para fundirse en una teoría coherente que da como resultado la aparición de una disciplina amplia y general: la Biología Celular y Molecular.

También merecen atención especial algunas técnicas desarrolladas en este mismo período que completan los conocimientos sobre las moléculas que forman las células y sus secreciones. Así el uso de isótopos radiactivos para el marcaje de determinadas moléculas de interés (autorradiografía), ha permitido el seguimiento de multitud de procesos metabólicos (QUIMBY, 1970; HENDEE, 1973). Las técnicas de electroforesis de ácidos nucleicos y proteínas (VINOGRAD, 1967; LAEMMLI, 1970; DE DUVE, 1975; SOUTHERN, 1975) que separan estas moléculas según su carga y tamaño, indudablemente también han sido de máxima utilidad. Otra de las metodologías que ha contribuido al desarrollo espectacular de la Biología Celular y Molecular ha sido los cultivos celulares. Así, Carrel (1912) demostró que las células mantenidas en condiciones asépticas, podían crecer en cultivo durante mucho tiempo siempre que fueran nutridas regularmente. Más adelante Harry Eagle y Theodore Puck (1945) consiguieron que las células cultivadas en un medio controlado pudieran dividirse; desde entonces se han llevado a cabo numerosos experimentos que incluyen cultivos celulares primarios y secundarios, cultivos de células transformadas así como cultivos de explantes de tejidos, que han constituido y siguen constituyendo una herramienta de suma utili-

dad para el conocimiento de la fisiología celular.

Un nuevo paso se ha avanzado con las técnicas de fusión celular en cultivo (DAVISON y GERALD, 1976). Esta metodología acompañada por la selección de células idóneas fue la empleada por Köler y Milstein (1975) para conseguir células híbridas entre linfocitos B normales y linfocitos B cancerígenos procedentes de un mieloma; la célula resultante denominada hibridoma, conserva la capacidad de los linfocitos B de producir anticuerpos y además es capaz de dividirse indefinidamente en un cultivo celular como las células transformadas del mieloma. Ambas propiedades, aportadas respectivamente por cada una de las dos células implicadas en la fusión, hace de los hibridomas sistemas idóneos para la producción de anticuerpos monoclonales. Por su parte el uso de anticuerpos tanto monoclonales como policlonales (estos últimos purificados del plasma sanguíneo de un animal sometido a inmunización previa con el antígeno adecuado), ha sido la clave para el desarrollo de los métodos de inmunocitoquímica e inmunohistoquímica. Estos métodos están permitiendo no sólo la localización de un gran número de moléculas específicas en la célula y tejido *in situ*, sino también el conocimiento de las funciones que tienen lugar en el contexto del metabolismo celular y tisular.

La denominada tecnología del ADN recombinante (COHEN, 1973; GOEDDEL, 1979; OKAYAMA, 1982) desarrollada a la luz del uso de enzimas de restricción (NATHAS y SMITH, 1975) y de enzimas que sintetizan ADN y ARN, junto al conocimiento profundo de la genética microbiana, han impulsado los experimentos de mutagénesis y de reorganización planificada de genes, lo cual está permitiendo descifrar cada vez más exhaustivamente y con mayor detalle, las claves del código genético y las leyes de la herencia. De hecho, hoy día es factible cortar el ADN de cualquier organismo en secuencias cortas y específicas con endonucleasas de restricción u otras nucleasas

como la SI del moho *Aspergillus oryzae* y posteriormente producir cantidades ilimitadas de la misma mediante técnicas de clonaje. Estas técnicas consisten en insertar los fragmentos de cualquier ADN en el ADN de un vector, por ejemplo en el de un bacteriófago o un plásmido, para producir ADN recombinante. La molécula recombinante se puede introducir en bacterias o levaduras y las células portadoras de moléculas específicas pueden seleccionarse y cultivarse posteriormente en cantidad ilimitada.

Además de las técnicas que permiten la selección y producción de grandes cantidades de ADN puro, se han desarrollado otras técnicas como por ejemplo las de secuenciación que descifran la secuencia de bases de un determinado segmento de ADN. Estas técnicas consisten en marcar los segmentos de ADN con trazadores radiactivos, y a continuación cualquier fragmento de hasta 500 nucleótidos puede ser separado por electroforesis en gel y estudiar su secuencia de bases mediante diferentes procedimientos, que fueron puestos a punto a finales de los 70 por distintos investigadores (MAXAM y GILBERT, 1977; SANGER, NICKLEN y CULSON, 1977).

Otra importante herramienta de la biología celular ha sido la técnica de hibridación *in situ*, desarrollada en 1969 por Pardue y Gall, que utilizaron sondas marcadas de ácidos nucleicos de naturaleza conocida para identificar secuencias específicas en el ADN de cromosomas de células intactas. En los últimos años la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha representado una auténtica revolución en el campo de la biología molecular y celular. Mediante la misma se puede amplificar cualquier ADN o ARN específicos pudiendo obtenerse un elevado número de copias del mismo.

En resumen, las herramientas de que disponemos hoy día para llevar a cabo el estudio de las células están revolucionando el conocimiento que tenemos acerca de las mismas, por lo que es predecible que en los años venideros podamos llegar a compren-

der muchos de los actuales enigmas que plantea su funcionamiento y particularmente los mecanismos que controlan diferenciación, especialización, interrelaciones con otras células y en definitiva su capacidad para integrarse de forma coordinada en tejidos y órganos.

#### Perspectivas de futuro de la Biología Celular

Se puede considerar que la Biología Celular junto a la Bioquímica y la Genética son las tres áreas de la Biología que más han progresado en los últimos treinta años. Aunque en sus inicios empleaban materiales, métodos y enfoques experimentales distintos, conforme los conocimientos han ido avanzando se ha producido una confluencia sumamente productiva que se acrisola, como acabamos de ver, en lo que conocemos como Biología Molecular. De hecho, hoy día son herramientas comunes de todas estas ciencias las tecnologías expuestas en el epígrafe anterior. A éstas últimas han venido a sumarse los modernos microscopios electrónicos basados en sistemas de microanálisis por rayos X (EDX) o de pérdida de energía de electrones inelásticos (EELS), que están permitiendo visualizar con enorme detalle no solo la estructura subcelular, sino también la organización molecular y la composición química de los constituyentes de células y tejidos. Así por ejemplo, se ha conseguido describir, mediante microscopía electrónica, la anatomía del receptor nicotínico para la acetil-colina, que es una proteína integral de membrana pentamérica que forma un canal iónico regulado por este neurotransmisor. Este tipo de estudios, unidos a los clásicos de purificación de proteínas mediante técnicas de cromatografía por afinidad, o a los más recientes de genética molecular que incluyen la determinación del gen que codifica la proteína receptora y su secuenciación, así como los de mutagénesis dirigida para determinar los dominios de la proteína que atraviesan la membrana, que se unen al neurotransmisor o que integran el canal iónico, han permi-

tido acceder a un conocimiento más completo y exacto de estos receptores. El caso que acabamos de describir constituye un buen ejemplo de cómo mediante un enfoque multidisciplinar se obtienen mayores avances en el conocimiento de los innumerables aspectos que aún se ignoran acerca de la estructura y función celular. Parece evidente que los grandes descubrimientos que nos depare el futuro inmediato van a surgir de la puesta en común del conocimiento obtenido desde diferentes perspectivas, y es ahora más que nunca, cuando la tecnología de la información brinda las condiciones idóneas para que ello pueda llevarse a cabo. Sentadas las bases sobre las que se cimienta el futuro del progreso científico en general y de la Biología Celular en particular, me arriesgaré a realizar un breve recorrido por aquellas líneas de investigación, que desde mi visión totalmente personal, están siendo exploradas con éxito en la actualidad y que por tanto están marcando las pautas del futuro inmediato de nuestra ciencia.

Una de las áreas de investigación más activas corresponde al estudio de las *membranas celulares*, particularmente en lo que se refiere a su organización molecular y a los fenómenos de transporte que tienen lugar a través de las mismas. Concretamente los *receptores*, que como el de la acetilcolina ha servido de ejemplo anteriormente, corresponden a un tipo de proteínas asociadas a la *membrana plasmática* que han alcanzado en los últimos años un enorme protagonismo merced a su implicación en los procesos responsables del funcionamiento coordinado de las poblaciones celulares integrantes de órganos y tejidos. Cuando estas proteínas receptoras reciben la señal adecuada, experimentan cambios conformacionales que se transmiten al interior celular desencadenando una cascada de eventos que puede traducirse en una respuesta por parte de la célula ante la señal recibida. Es evidente, que las alteraciones que puedan presentar estos receptores, cuya naturaleza y funciones son ampliamente variables, constituyen un campo dentro de la fisiopatolo-

gía celular, de gran interés y actualidad. Así por ejemplo la fibrosis quística, una enfermedad incapacitante en la que los enfermos que la padecen producen un moco viscoso y resistente muy difícil de expulsar por las vías respiratorias, debe su estado a la presencia de una proteína de membrana alterada. Dicha proteína constituye un canal para iones cloro cuya apertura está regulada mediante fosforilación a través de una proteinquinasa dependiente de AMPc. Diferentes mutaciones en el gen que codifica la proteína canal incapacitan su unión a ATP y por consiguiente su fosforilación, lo cual impide que tengan lugar los cambios conformacionales necesarios para facilitar su apertura y por tanto la consiguiente salida de cloro celular que a su vez condiciona la naturaleza de las secreciones celulares.

Una mención especial dentro de los estudios sobre membranas merece los *mecanismos de transducción de señales* en los que se encuentran implicados multitud de sistemas, que como en el caso del canal de cloro de la fibrosis quística, ponen en marcha proteinquinasas y fosfatasa mediante procesos de fosforilación/desfosforilación. Ambos tipos de enzimas actúan sobre canales iónicos, otras enzimas, factores de transcripción e incluso sobre subunidades proteicas reguladoras; concretamente las fosfatasa suelen ser activadas por sistemas de segundos mensajeros como el AMPc, cuya producción depende de la unión de un primer mensajero o ligando (que puede ser una hormona o ferohormona, un neurotransmisor o incluso la luz) a un receptor de membrana. Particular interés en los sistemas traductores de señales, revisten las proteínas G, que son proteínas enlazadas a GDP o GTP, las cuales actúan como interruptores que inician o concluyen determinadas actividades celulares. Así uno de los mecanismos más comunes para producir segundos mensajeros como el AMPc depende de proteínas G interpuestas entre el receptor y el efector o elemento directamente responsable de producir el segundo

mensajero. De hecho, es bastante común que tras la unión de un ligando a su receptor, el cambio conformacional que sufre éste último, sea transmitido por una proteína G interpuesta hasta la adenilciclasa que actúa como efector produciendo el AMPc. Por ejemplo, la toxina del cólera ejerce su efecto pernicioso al unirse a una de las subunidades de las proteínas G que queda bloqueada en un estado activado haciendo que no pueda cesar la producción de AMPc, que de esta forma pone en marcha una secreción intestinal excesiva que acaba en deshidratación y muerte. También uno de los mecanismos desencadenantes de apoptosis, un tipo de muerte celular programada que se ha revelado de gran importancia en un innumerable plantel de procesos fisiológicos y patológicos, consiste en la unión del denominado ligando de Fas, presente en linfocitos T asesinos, al receptor Fas que se encuentra en la membrana de células que deben morir como por ejemplo las infectadas por virus o las células transformadas. Tal unión pone en marcha un sistema de traducción de señales con proteínas G interpuestas, que acaba activando caspasas y endonucleasas, enzimas implicadas en la ejecución del programa de muerte celular. El campo de investigación de los receptores también incluye otras funciones de los mismos diferentes a las de señalización celular. Así, ciertas células han desarrollado sistemas específicos para ingerir determinados nutrientes necesarios para el desarrollo de sus funciones; por ejemplo los hepatocitos presentan receptores en su membrana plasmática capaces de reconocer específicamente ciertos tipos de lipoproteínas, que de esta forma son introducidas en la célula mediante un mecanismo de *endocitosis mediada por receptor*. La hipercolesteremia familiar, una enfermedad ampliamente conocida, se debe a un defecto del receptor para las LDL (lipoproteínas de baja densidad) que impide su captura al interior celular y por consiguiente su acumulación en suero. Las bases moleculares del impulso nervioso, la contracción muscular y la visión, resi-

den en la existencia de bombas metabólicas de carácter proteico que se encuentran asociadas a las membranas de las células que integran el tejido nervioso, el músculo y la retina; dichas bombas transportan iones hacia uno u otro lado de la membrana generando gradientes electroquímicos que pueden ser alterados de forma transitoria, mediante la apertura de canales iónicos dependientes de voltaje o de ligando.

También los sistemas de acople de energía en forma de ATP, que realizan plastos y mitocondrias dependen de estructuras membranosas que presentan *bombas metabólicas* asociadas. Concretamente, en el caso de las mitocondrias la energía obtenida en forma de ATP es extraída en última instancia de la oxidación de diferentes compuestos orgánicos a los que se les extraen electrones que pasan a una cadena transportadora presente en la membrana interna del orgánulo. Se sabe hoy día que estas reacciones de transporte de electrones son una fuente importante de radicales libres, sustancias altamente reactivas que provocan daños irreparables a la mayoría de las moléculas que forman las células, las cuales se ven sometidas a mutaciones deletéreas que provocan su inactivación. Los radicales libres están hoy día en la base del envejecimiento celular y de muchas enfermedades degenerativas como el cáncer, la aterosclerosis o la esclerosis lateral amiotrófica.

El descubrimiento de las *moléculas de adhesión celular*, otro tipo de proteínas asociadas a la membrana plasmática, ha abierto otra línea de investigación que está siendo ampliamente explorada en la actualidad. Así por ejemplo se conoce que ciertos miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas como son las moléculas de adherencia a células neurales (MACN) median la adherencia entre células nerviosas y musculares en el embrión; esta peculiaridad determina, por ejemplo, las migraciones neuronales que llevan a la formación de los ganglios simpáticos. Las cadherinas, también desempeñan un papel muy importante

en los fenómenos de morfogénesis, ya que son las principales responsables de las transiciones mesénquima-epitelio y del mantenimiento de la unión intercelular en tejidos fuertemente cohesivos. Se piensa que muchos de los defectos observados en los procesos de morfogénesis puedan ser debidos a un mal funcionamiento de estas moléculas. Las selectinas, otro tipo de moléculas de adhesión, son las principales responsables de una enfermedad rara denominada deficiencia de adherencia leucocitaria (DAL) caracterizada por un defecto en una de las subunidades integrantes de estas proteínas; dicho defecto incapacita a los leucocitos para adherirse a la capa endotelial de las vénulas y por tanto para salir del torrente sanguíneo y participar en la reacción inflamatoria del tejido dañado. También las bases moleculares de las metástasis, capacidad que tienen las células cancerígenas para escapar del tumor primario y formar numerosos tumores secundarios, está basada en las moléculas de adhesión celular; así, cuando las células malignas se someten a manipulaciones de ingeniería genética para que cambien la expresión de determinadas proteínas implicadas en adhesión, pueden llegar a disminuir mucho su capacidad para producir tumores en ratones. El estudio de los cromosomas como sede mayoritaria de la información genética constituye otro de los retos planteados por los biólogos celulares a más corto plazo. Así, como se ha comentado anteriormente, las técnicas de biología molecular están permitiendo conocer no sólo la estructura y organización del genoma si no también los mecanismos responsables de la expresión de los genes y por consiguiente las bases genéticas y moleculares de procesos tan importantes como la morfogénesis y el desarrollo, la especificidad inmunológica o el control del ciclo celular. Evidentemente todos estos hallazgos permitirán conocer detalladamente la etiología de numerosas enfermedades, incluido el cáncer o la autoinmunidad, así como completar la idea

que se tiene sobre el origen de la vida y de las especies.

Una de las aplicaciones médicas más relevantes del estudio de los ácidos nucleicos, y en concreto de la *clonación de genes*, corresponde al diagnóstico precoz y al tratamiento preventivo de enfermedades hereditarias. Específicamente, para el desarrollo de posibles terapias de transferencia de genes, se requiere disponer de mapas genéticos detallados de los cromosomas humanos así como de la secuenciación de dichos genes. Actualmente ya disponemos de las secuencias genómicas completas de organismos eucarióticos como la levadura o el nematodo del suelo *Caenorhabditis elegans*, y en breve también conoceremos la de *Drosophila melanogaster*, la del ratón, y cómo no los resultados que se obtengan del proyecto «Genoma Humano» permitirán conocer la del hombre. Estas nuevas técnicas de clonación de genes, además del enorme interés que suscitan como herramienta para el conocimiento de los propios genes, tienen un interés económico añadido, ya que abren la posibilidad de convertir a microorganismos, plantas y animales de experimentación, en fábricas de proteínas de gran valor biológico, como ya se viene haciendo con la insulina humana, la hormona del crecimiento humano, los interferones, las vacunas sintéticas de hepatitis B humana y tantas otras de enorme interés en la prevención y tratamiento de una amplia gama de patologías.

Como se deduce de lo anterior, es evidente que las técnicas de manipulación genética están permitiendo un avance muy importante en el conocimiento del genoma, y en las aplicaciones que de ello se derivan; sin embargo no podemos olvidar lo que se ha dado en llamar *estudio del «proteínoma»*. Así es un hecho cada vez más evidente que el metabolismo postranscripcional y postraducciona constituyen un valor añadido a la secuencia de aminoácidos codificada en el ADN; preguntas tales como ¿cuál será la secuencia definitiva que tendrá una determinada proteína?, ¿cómo se plegará en

el espacio?, ¿deberá contar para adquirir su conformación definitiva con la ayuda de una chaperona?, ¿cómo será conducida hasta su destino final?, ¿se darán las condiciones adecuadas para que funcione adecuadamente? aún no han encontrado una respuesta definitiva. La importancia del correcto funcionamiento de las proteínas se pone de manifiesto, por ejemplo en el caso de los «priones» proteínas infecciosas que causan enfermedades como la encefalitis espongiforme vacuna o la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob en humanos. Se conocen los genes que codifican versiones normales de estas proteínas, aunque su función se desconoce todavía. La versión modificada de la proteína, que es codificada por un gen mutante, tiene carácter infeccioso y se acumula en las células nerviosas causándoles la muerte. Determinadas razas de ratones que carecen del gen de la proteína prión no muestran ninguna anomalía y parece que están preservados de padecer la enfermedad. Sin embargo, la investigación en este campo aún está en una fase muy precoz. Algo parecido sucede con la enfermedad de Alzheimer, en la que se conoce que el péptido amiloide que se obtiene a partir de un precursor presente en individuos sanos, debe jugar un importante papel en el desarrollo de la patología, al acumularse exhaustivamente en las placas seniles características de estos enfermos.

Todas estas líneas de trabajo están siendo abordadas mediante el uso de nuevas herramientas de suma utilidad para los científicos. Este es el caso de los animales *transgénicos* a los que se les han transfectado genes humanos defectuosos, o de animales seleccionados, cuyo genoma carece de un determinado gen. Mediante la utilización de ambos tipos de animales se ha avanzado enormemente en el conocimiento de la expresión génica y lo que es más importante, su uso ha permitido iniciar una línea de investigación esperanzadora dentro de los programas de terapia génica. En la actualidad disponemos de una serie de modelos animales para el estudio de un gran número

de enfermedades, entre las que podemos citar algunas como la fibrosis quística ya mencionada, la distrofia muscular, o la enfermedad de Huntington, entre otras.

En el mundo de los vegetales, la *ingeniería genética* también tiene abiertos varios frentes de sumo interés, que están obteniendo notables avances en agricultura y horticuultura. Las actividades que los genetistas de plantas esperan mejorar con la producción de transgénicos, están centradas fundamentalmente en aspectos como la sensibilidad o resistencia a herbicidas, la capacidad de fijar el nitrógeno, o la mejora de la eficacia fotosintética. Concretamente en este último caso se está intentando obtener plantas que contengan una versión modificada del gen de Rubisco (ribulosa difosfato carboxilasa) que mejore su capacidad carboxilasa frente a la oxidasa y de esta forma, conseguir plantas genéticamente modificadas menos susceptibles al proceso de fotorrespiración.

Sí las líneas de investigación comentadas en el epígrafe anterior acerca del genoma y del control de la expresión de los genes, plantean en sí mismas una serie de implicaciones de carácter ético, las técnicas de reproducción asistida, la obtención de individuos clónicos o los trasplantes de órganos, dada su enorme implicación social, han abierto el debate acerca de las fronteras de la ciencia y ello está propiciando la consolidación de un nuevo campo científico: la *Bioética*. Esta nueva ciencia, necesitará la confluencia de un gran número de expertos de diferentes especialidades e indudablemente los biólogos celulares tendrán mucho que decir acerca de la misma en el futuro inmediato.

Concretamente, dentro del campo de las técnicas de *reproducción asistida*, la fecundación *in vitro*, que implica la obtención de numerosos embriones tempranos de los cuales muchos serán desechados, es uno de los avances médicos recientes que han tenido una aplicación más exitosa y a la vez más controvertida en el tratamiento de los problemas de infertilidad. Otra de las apli-

caciones prácticas de los conocimientos emanados del siglo que acaba de terminar, corresponde a la obtención de *individuos clónicos*, que hasta hace muy pocos años sólo estaban en la mente de escritores como Huxley, cuyas ideas futuristas quedaron plasmadas en su conocida obra «Un mundo feliz» y que apenas 30 años después han llegado a hacerse realidad. La obtención de células madre a partir de tejido embrionario o el trasplante de órganos procedentes de animales, constituyen otros tantos ejemplos de enorme actualidad, en donde el conocimiento científico recorre un camino difícil entre los beneficios de estas técnicas y los problemas éticos que plantean.

Es evidente que todos estos avances marcan las pautas del hacia donde nos dirigimos y aunque el camino inmediato está ya trazado, todavía son muchas las sendas que

habrá que recorrer y para ello será necesario el desarrollo de una intensa labor que permita relacionar muchos de los mecanismos celulares y moleculares que ya se conocen con la comprensión de procesos tan complejos como el aprendizaje y la memoria o las bases que subyacen a procesos como el envejecimiento y la neurodegeneración. Llegar a compaginar la legítima necesidad de conocimiento, que siempre ha guiado a la humanidad, con las normas de ética científica son las pautas que deberían marcar el progreso de nuestra ciencia en un futuro que promete ser excitante y a la vez esperanzador. ◀

---

M. A. Peinado, *Biología Celular. Departamento de Ciencias Experimentales. Universidad de Jaén.*

---

#### Referencias bibliográficas

- ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D. (1989): *Molecular Biology of the Cell* (2nd ed.). Ed. Garland Pub., Inc. New York.
- AVERY, O. T.; C. M. MACLEOD y M. MCCARTY (1994): «Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types». *J. Exp. Med.*, 79:137-158.
- BENDALL, O.S. (ed.) (1991): *Evolution from Molecules to Men*. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- CAIRNS-SMITH, A.C. (1985): «Los primeros organismos». *Inv. Ciencia*, 107:54.
- CANGUILHEM, G. (1976): *El Conocimiento de la Vida*. Anagrama, Barcelona.
- CLAUDE, A. (1975): «The coming of age of the cell». *Science*, 189:433-435.
- DARNELL, J.; LODISH, H.; BALTIMORE, D. (1986): «Molecular Cell Biology». *Scientific American Books*, New York.
- DARWIN, C. (1983): *El origen de las especies*. Reimpresión introducida por R. E. Leakey. Ediciones del Serbal, S. A. Barcelona.
- DE DUVE, C. (1975): «Exploring cells with a centrifuge». *Science*, 189:186.
- DE DUVE, C. (1991): *Blueprint for a Cell?: The Nature and Origin of Life*. Neil Patterson Pub.
- DUCHESNEAU, F. (1992): «Cómo nació la Teoría Celular». *Mundo Científico*, 12:26.
- FEDER, J.; TOLBERT, W.R. (1983): «Cultivo a gran escala de células de mamífero». *Inv. Ciencia*, 78:8.
- FORD, B.J. (1981): «Lo que observaron los primeros microscopistas». *Mundo Científico*, 1:1037.
- FOURNIER, J.G.; ESCAIG-HAYE, F.; GRIGORIEV, V. (2000): *Ultrastructural localization of prion proteins: physiological and pathological implications*. *Microsc Res Tech.* 50(1):76-88.
- GABRIEL, M. L.; FOGEL, S. (eds.) (1955): *Great Experiments in Biology*, Prentice-Hall.
- GONZÁLEZ SANTANDER, R. (1996): *La Escuela Histológica Española. I. Comienzo y Antecedentes*. Servicio de Publicaciones. Universidad de Alcalá, 1996.
- KARP, G. (1987): *Biología Celular*. McGraw Hill, México.
- LEDERBERG, J. ed. (1990): «The Excitement and Fascination of Science: Reflections by Eminent Scientists», vol. 3. *Ann. Revs.*, Inc.
- MARGULIS, L. (1986): *El Origen de la célula*. Ed. Reverté, S. A., Barcelona.
- MARGULIS, L.; SCHWARTZ, K.V. (1987): *Five Kingdoms: An Illustrated Guide to the Phyla of Life on Earth* (2nd ed.). W.H. Freeman, New York.
- MISTEIN, C. (1980): «Anticuerpos monoclonales». *Inv. Ciencia*, 51:38.
- MONOD, J. (1981): *El Azar y la Necesidad*. Tusquet, Barcelona.
- MORGAN, T. H. (1926): *The Theory of the Gene*, Yale University Press.
- MORGAN, T. H. (1959): «Sex linked inheritance in *Drosophila*». *Science*, 32:120-122. 1910. Reimpreso en J. A. Peters: *Classic Papers in Genetics*, Prentice-Hall.
- PEINADO, M.A.; PEDROSA, J.A.; RODRIGO, J. (eds.) (1996): *Avances en Inmunocitoquímica y Técnicas relacionadas*. Universidad de Jaén, Jaén.
- PETERS, J.A. (1959): *Classic Papers in Genetics*. Prentice-Hall.
- PORTER, K. R.; A. CLAUDE y E. FULLAM (1945): «A study of tissue culture cells by electron microscopy: methods and preliminary observations». *J. Exp. Med.*, 81:233-24.
- RAMÓN Y CAJAL, S. (1981): *Recuerdos de mi vida: Historia de mi labor científica*. Alianza editorial, S.A. Madrid.
- RAMÓN Y CAJAL, S. (1933): *¿Neuronismo o reticulismo?* Archivos de Neurología, XIII.
- ROSTAND, J. (1985): *Introducción a la historia de la Biología*. Planeta-Agostini.
- RUSE, M. (1982): *La Filosofía de la Biología*. Alianza, Madrid.
- TAYLOR, G.R. (1964): *La Ciencia de la Vida*. Ed. Labor, S.A., Barcelona.