

MATRIZ EXTRACELULAR ANIMAL

Los tejidos no están formados sólo por células. Una buena parte de su volumen lo constituye el *espacio extracelular*, el cual está ocupado por la **matriz extracelular** (Fig. 19-33). La matriz está compuesta por polisacáridos y proteínas muy diversos, secretados y ensamblados localmente formando una compleja red que se encuentra en íntima asociación con la superficie de la célula que la produce.

Si la discusión de las uniones celulares se ha realizado fundamentalmente en el contexto de los tejidos epiteliales, la discusión de la matriz se centrará en el tejido conjuntivo (Fig. 19-34). En este tejido, habitualmente la matriz es más abundante que las células, a las que rodea completamente determinando las propiedades físicas del tejido. Los tejidos conjuntivos constituyen el esqueleto arquitectónico del cuerpo de los vertebrados, aunque la masa presente en los diferentes órganos varíe considerablemente: desde la piel al hueso, en los que es el principal componente, hasta el cerebro y la médula espinal, en los que constituye un componente minoritario.

Las variaciones en cuanto a la participación relativa de los diferentes tipos de macromoléculas de la matriz, y en cuanto a sus patrones de organización en el contexto de la matriz extracelular, dan lugar a una gran diversidad de formas, cada una adaptada a los requerimientos funcionales de cada tejido en particular. La matriz puede calcificarse, formando estructuras duras como en el hueso o el diente, ser transparente, como en la córnea, o constituir organizaciones semejantes a tensores, las cuales dan a los tendones su gran resistencia a la tracción. En la interfase entre un epitelio y un tejido conjuntivo, la matriz forma una lámina basal (v. Fig. 19-34) que juega un importante papel en el control del comportamiento celular.

Anteriormente se creía que la matriz extracelular de los vertebrados tenía como función principal la de servir de andamiaje para estabilizar la estructura tisular. Sin embargo, en la actualidad es evidente que la matriz desempeña un papel mucho más activo y complejo en la regulación del comportamiento de las células que están en contacto con ella, afectando a su desarrollo, su migración, su proliferación, su forma y su función. Correspondiendo a estas funciones, la matriz extracelular también presenta una composición molecular compleja. Finalmente, se ha de señalar que aun-



Figura 19-33 Células rodeadas por matriz extracelular. Las células mostradas en esta imagen de microscopía electrónica de transmisión, obtenida a bajo aumento, forman parte del rudimento de un miembro de pollo. Las células aún no han adquirido sus características especializadas. (Por cortesía de Cheryl Tickle.)

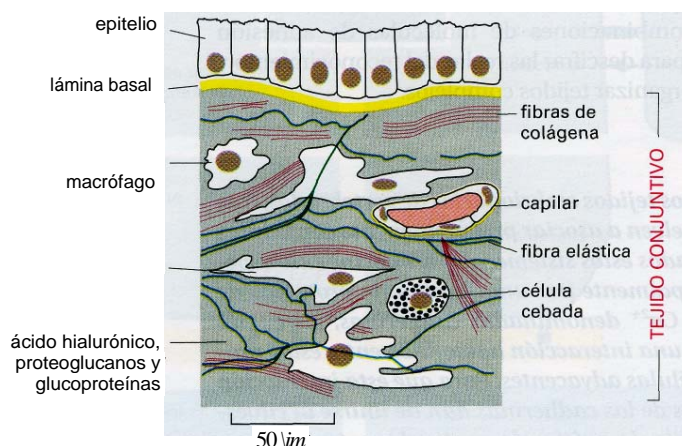


Figura 19-34 Tejido conjuntivo subyacente a un epitelio. Este tejido contiene diversas células y componentes de la matriz. El tipo celular predominante es el fibroblasto, el cual secreta una abundante matriz extracelular.

(2) el *condroitín sulfato* y el *dermatán sulfato*, (3) el *heparán sulfato* y la *heparina* y (4) el *queratán sulfato*.

Las cadenas de polisacáridos son demasiado rígidas para plegarse formando estructuras globulares compactas siendo, además, muy hidrofílicas. Así pues, los GAG tienden a adoptar conformaciones muy alargadas que ocupan un gran volumen en relación a su masa (Fig. 19-37), formando geles incluso a concentraciones muy bajas. Su elevada densidad de carga negativa es la causa de la captación de numerosos cationes, principalmente Na^+ , que, debido a su actividad osmótica, causan la acumulación de grandes volúmenes de agua en la matriz. Ello produce una presión de turgencia que capacita a la matriz para oponerse a las fuerzas de compresión (en contraste con las fibras de colágena, que se oponen a las fuerzas de tracción). Así, la matriz cartilaginosa que recubre la articulación de la rodilla puede soportar presiones de cientos de atmósferas gracias a este mecanismo.

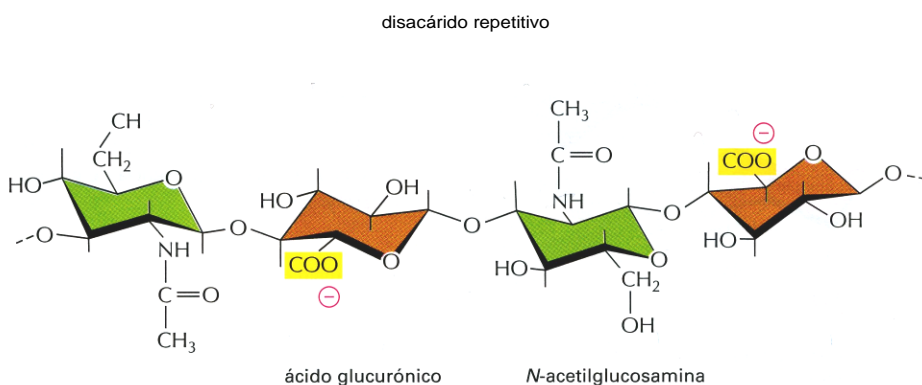
Los GAG del tejido conjuntivo no representan, en general, más del 10% del peso del total de las proteínas fibrosas. Sin embargo, debido a que forman geles porosos hidratados, las cadenas de glucosaminoglucanos ocupan la práctica totalidad del espacio extracelular, proporcionando un soporte mecánico para los tejidos. En una rara enfermedad genética humana, caracterizada por una grave deficiencia en la síntesis de disacáridos del tipo de los dermatán sulfates (v. Figura 19-36), los individuos afectados son enanos, envejecen de forma prematura y tienen defectos generalizados en la piel, en las articulaciones, en la musculatura y en los huesos.




En los invertebrados y en los vegetales a menudo existe otro tipo de polisacárido que es el principal constituyente de la estructura de la matriz extracelular. En las plantas superiores las cadenas de celulosa (poliglucosa) se empaquetan densamente en estructuras cristalinas que constituyen el componente microfibrilar de la pared celular. En insectos, crustáceos y otros artrópodos, la quitina (poli-N-acetilglucosamina) es el principal componente del citoesqueleto. La celulosa y la quitina son los biopolímeros más abundantes de la Tierra.

Parece que el ácido hialurónico facilita la migración celular durante la morfogénesis y la reparación de los tejidos

El **ácido hialurónico** es el GAG de estructura molecular más sencilla (Fig. 19-38). Consta de una secuencia repetida de hasta 25.000 unidades de disacáridos no sulfatados. Se encuentra en proporciones variables en todos los tejidos y fluidos de los animales adultos, aunque es especialmente abundante en los primeros estadios embrionarios. Su estructura no es la típica de la mayoría de los GAG, ya que a diferencia de ellos no contiene azúcares sulfatados, todos sus disacáridos son idénticos, la longitud de su cadena es enorme y, habitualmente, no están unidos covalentemente a proteínas. Además, mientras que los otros GAG son sintetizados dentro de la célula y secretados por exocitosis, la cadena de ácido hialurónico crece en la superficie celular mediante un complejo enzimático integrado en la membrana plasmática.

Se cree que el ácido hialurónico actúa ofreciendo resistencia a las fuerzas compresivas en los tejidos y articulaciones. Durante el desarrollo embrionario, también actúa como ocupante de espacio pudiendo ser usado para forzar un cambio en la forma de una estructura, ya que una pequeña cantidad del polímero, una vez hidratado, se expande hasta ocupar un gran volumen (v. Fig. 19-37). Por ejemplo, sintetizado a partir de la cara basal de un epitelio, muy a menudo genera un espacio libre de células.



● proteína globular (PM 50.000)
 glucógeno (PM ~400.000)
 espectrina (PM 460.000)
 colágena (PM 290.000)

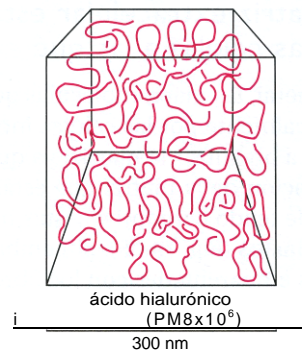


Figura 19-37 Dimensiones y volúmenes relativos ocupados por diversas macromoléculas. El esquema muestra varias proteínas, una partícula de glucógeno y una molécula hidratada de ácido hialurónico.

Figura 19-38 Secuencia repetida de disacáridos en el ácido hialurónico, un GAG relativamente sencillo. Esta molécula ubicua en organismos vertebrados está constituida por una larga cadena de unos 25.000 residuos de azúcar. Obsérvese la ausencia de grupos sulfato.

que nuestro conocimiento sobre su organización todavía es fragmentario, se están realizando rápidos progresos en la caracterización de sus principales componentes. Aunque nos centraremos en la matriz extracelular de los vertebrados, su origen es muy antiguo y casi todos los organismos pluricelulares la producen. Como ejemplos podríamos citar las cutículas de los gusanos y de los insectos, las conchas de los moluscos y las paredes celulares de los vegetales.

La matriz extracelular está producida y orientada por las células a las que engloba

En general, las macromoléculas que constituyen la matriz extracelular son producidas localmente por las células incluidas en la matriz. Estas células también contribuyen a organizar la matriz, ya que la orientación de su citoesqueleto controlará la orientación de la matriz que éstas produzcan. En la mayor parte de los diferentes tipos de tejido conjuntivo, estas macromoléculas son secretadas sobre todo por los **fibroblastos** (Fig. 19-35). Sin embargo, en algunos tejidos especializados, lo son por células emparentadas con los fibroblastos, pero que reciben denominaciones específicas, como los *condroblastos* y *osteoblastos*.

Las dos principales clases de macromoléculas que constituyen la matriz son: (1) cadenas de polisacáridos del tipo de los *glucosaminoglucanos* (GAG), los cuales suelen estar unidos a proteínas mediante enlaces covalentes formando *proteoglucanos*, y (2) proteínas fibrosas, entre las que se cuentan *colágena*, *elastina*, *fibronectina* y *la-minina*, con funciones tanto estructurales como adhesivas. Más adelante veremos que todos los componentes presentan una gran variedad de formas y tamaños.

En el tejido conjuntivo, las moléculas de proteoglucanos forman una "sustancia fundamental" en la que están embebidas las proteínas fibrosas. El gel de polisacárido opone resistencia a las fuerzas de compresión que afectan a la matriz y facilita la rápida difusión de nutrientes, metabolitos y hormonas entre la sangre y las células. Las fibras de colágena refuerzan la matriz y colaboran en su organización, y las de elastina le confieren elasticidad. Por último, muchas proteínas de la matriz facilitan el anclaje de las células.

Las cadenas de glucosaminoglucanos (GAG) ocupan grandes volúmenes al formar geles hidratados

Los **glucosaminoglucanos** (GAG) son cadenas de polisacáridos no ramificadas, compuestas por unidades repetidas de disacáridos. Se denominan glucosaminoglucanos debido a que, en dichos disacáridos, uno de los residuos es siempre un aminoazúcar (JV-acetilglucosamina o JV-acetilgalactosamina), que en la mayoría de los casos se encuentra sulfatado. Habitualmente, el segundo residuo es un ácido urónico (glucurónico o idurónico). Debido a la presencia de grupos sulfato o carboxilo, la mayoría de los residuos glucídicos de los glucosaminoglucanos presentan una gran carga negativa (Fig. 19-36) constituyendo la mayoría de las moléculas de carácter aniónico sintetizadas por la célula animal. En función de dichos restos glucídicos, el tipo de enlace entre ellos y el número y localización de los grupos sulfato se pueden distinguir cuatro grupos principales de GAG: (1) el *ácido hialurónico*,

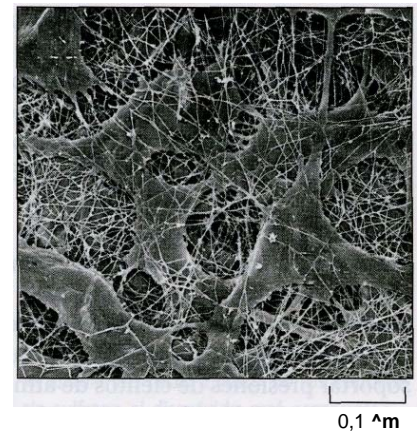


Figura 19-35 Fibroblastos en el tejido conjuntivo. Esta imagen de microscopía electrónica de barrido muestra el tejido constituyente de la córnea de una ratona. La matriz extracelular que rodea los fibroblastos se compone mayoritariamente de fibrillas de colágena (no hay fibras elásticas en la córnea). Las glucoproteínas, el ácido hialurónico y los proteoglucanos, que habitualmente forman un gel hidratado que ocupa los intersticios de la red fibrosa, son digeridos mediante tratamientos enzimáticos y con soluciones ácidas. (De T. Nishida et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 29:1887-1890, 1988. ©Association for Research in Vision and Ophthalmology.)

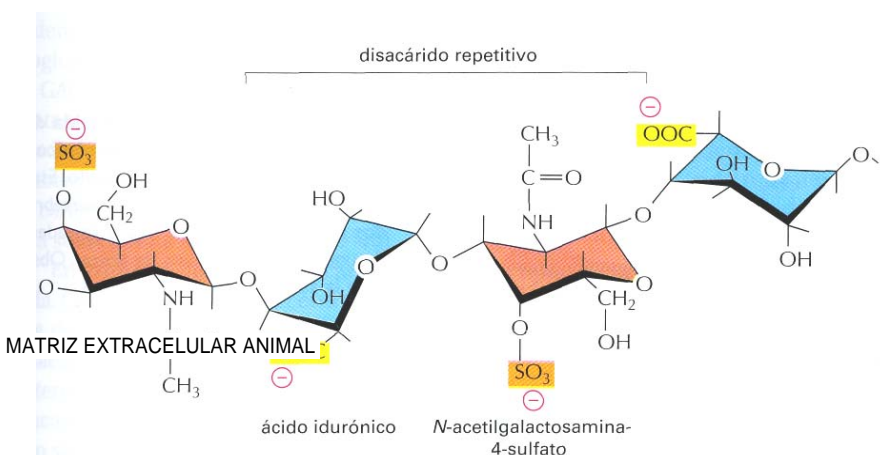


Figura 19-36 Secuencia repetida de disacáridos de la cadena de un glucosaminoglucano (GAG) de tipo dermatán sulfato. Estas cadenas están constituidas típicamente por entre 70 y 200 residuos de azúcar. Existe una gran densidad de cargas negativas a lo largo de la cadena debido a la presencia de grupos sulfato y carboxilo.

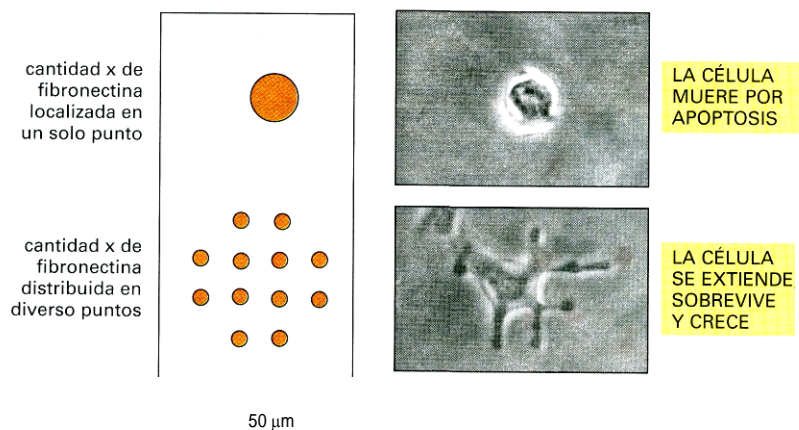


Figura 19-62 Dependencia del anclaje e importancia de la extensión de las células. El contacto con la matriz extracelular es esencial para la supervivencia, el crecimiento y la proliferación de numerosas células. En el experimento que se muestra, el grado de extensión sobre el sustrato que alcanza una célula es más importante para su supervivencia que el número de moléculas de la matriz con las que entra en contacto (v. Figura 17-49). (Basado en C.S. Chen et al., *Science* 276:1425-1428, 1997. ©AAAS.)

telio se pierden, la extensión que exhiben las células remanentes en dirección al espacio que ha quedado libre estimulará su proliferación hasta que quede relleno dicho espacio. Sin embargo, se desconoce por el momento cómo percibe la célula el alcance de su extensión para ajustar su comportamiento.

La degradación de los componentes de la matriz extracelular favorece la migración celular

El recambio regulado de las macromoléculas de la matriz extracelular resulta esencial para diversos procesos biológicos. Así, hay una degradación rápida cuando el útero involuciona tras el parto, o cuando la cola del renacuajo se reabsorbe en la metamorfosis (v. Figura 17-36). Cuando las células migran a través de la lámina basal es necesaria una degradación de carácter más local de los componentes de la matriz. Ello sucede cuando los leucocitos migran a través de la lámina basal de un vaso sanguíneo en respuesta a una infección o a una herida, o cuando las células cancerosas migran hasta órganos distantes a través del torrente sanguíneo o de vasos linfáticos (*metástasis*). Incluso la matriz extracelular de animales adultos, aparentemente estática, está sometida a un lento pero continuo recambio en el que las macromoléculas de la matriz son degradadas y resintetizadas.

En todos estos casos los componentes de la matriz son degradados por enzimas proteolíticas extracelulares (proteasas) secretadas localmente por las células. Así, los anticuerpos que reconocen los productos de la hidrólisis proteica tan sólo los detectan alrededor de las células. Muchas de estas proteasas pertenecen a dos de las clases principales que las agrupan. La mayoría son **metaloproteasas**, cuya actividad depende de su unión a Ca^{2+} o a Zn^{2+} , y las restantes son **serinas proteasa**, con un residuo serina muy reactivo en su lugar activo. Ambas cooperan en la degradación de proteínas de la matriz como colágena, laminina y fibronectina. Algunas de las metaloproteasas, como las *colagenasas*, son muy específicas, degradando determinadas proteínas por lugares específicos. Así se preserva la integridad estructural de la matriz, aunque la migración celular se ve muy favorecida por esta limitada proteólisis. Otras metaloproteasas pueden ser menos específicas pero también actúan justo donde son necesarias porque permanecen ancladas a la membrana plasmática.

La importancia de la proteólisis en la migración celular se pone de manifiesto al utilizar inhibidores de proteasas, que suele bloquear la migración. En el mismo sentido, las células que migran con facilidad a través de colágena de tipo I no pueden hacerlo si la colágena se hace resistente mediante la mutación de las dianas de las proteasas. La hidrólisis de las proteínas de la matriz facilita la migración celular de diferentes maneras: (1) puede crear una vía a través de la matriz; (2) puede exponer lugares crípticos en las proteínas escindidas que favorezcan la adhesión celular, la migración o ambos procesos; (3) puede facilitar que las células se desenganchen para facilitar su progresión, o (4) puede liberar señales extracelulares que estimulen la migración celular.

Hay tres mecanismos básicos para asegurar que las proteasas que degradan los componentes de la matriz estén estrechamente controladas:

Activación local: numerosas proteasas son secretadas en forma de precursores inactivos, que serán activados localmente cuando se necesiten. Un ejemplo es el *plas-*

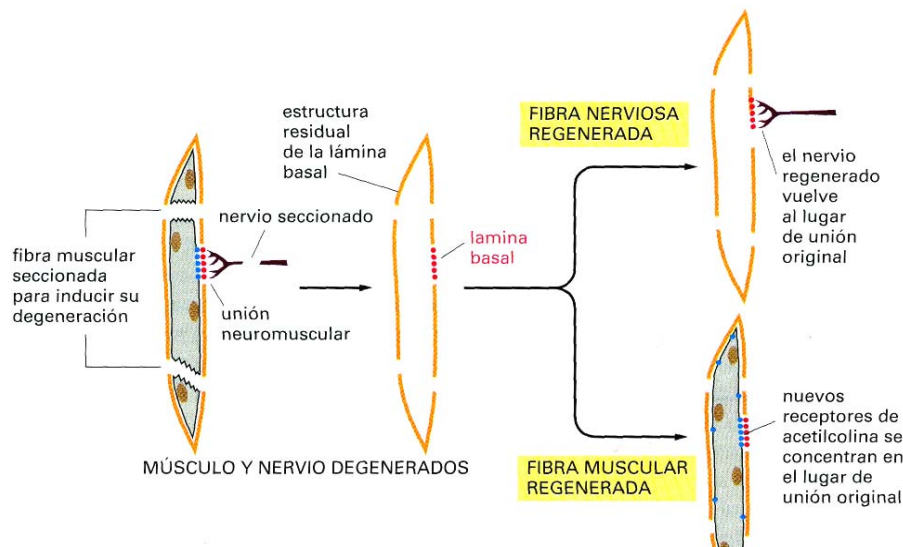


Figura 19-60 Experimentos de regeneración que indican el carácter especial adquirido por la lámina basal en una unión neuromuscular.

Cuando el nervio se regenera y el músculo no lo hace, tras haber sido dañados ambos (*arriba*), la lámina basal dirige el nervio regenerante hacia el lugar que ocupaba la sinapsis original. Cuando se regenera el músculo pero no el nervio (*abajo*), la lámina basal induce una nueva síntesis de receptores de acetilcolina que se acumulan en el lugar donde se localizaba la sinapsis original. El músculo se regenera a partir de las células satélite (v. Capítulo 22) que se localizan entre la lámina basal y la célula muscular original, la cual no está representada. Estos experimentos muestran que la lámina basal controla la localización de los componentes sinápticos en ambos lados de la lámina.

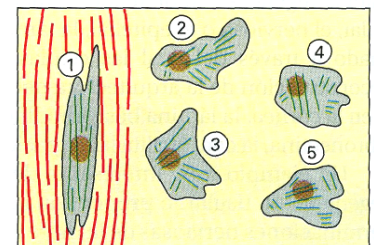
La matriz extracelular puede influir en la morfología, la supervivencia y la proliferación celulares

La matriz extracelular puede influir en la organización del citoesqueleto celular. Esto se demuestra mediante el cultivo de fibroblastos transformados, los cuales se asemejan a células cancerosas (v. Capítulo 23). A menudo, las células transformadas expresan menos fibronectina que las células normales, comportándose, además, de manera diferente. Así, por ejemplo, se adhieren al sustrato de forma deficiente, no son capaces de pasar de una morfología más o menos esférica a una morfología aplanada ni tampoco son capaces de desarrollar los haces específicos de acuna conocidos como *fibras de estrés*. El descenso en la producción de fibronectina y la deficiente adhesión pueden contribuir a la tendencia que muestran las células cancerosas a abandonar el tumor primario y diseminarse hacia otras partes del organismo.

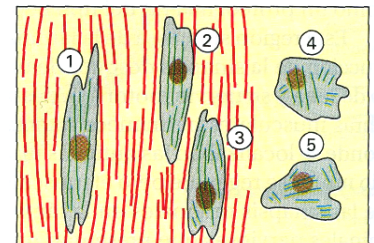
En algunos casos, la deficiencia en fibronectina también parece ser, al menos en parte, la causa de la morfología anormal que muestran las células cancerosas. En efecto, si las células son cultivadas en una matriz con las fibrillas de fibronectina bien ordenadas, pueden organizar fibras de estrés que se alinearán con las fibrillas de fibronectina. Esta influencia es recíproca, ya que los filamentos de actina estimulan el ensamblaje de las fibrillas de fibronectina y regulan su orientación. El citoesqueleto puede ejercer fuerzas que orienten las macromoléculas matriciales que la propia célula secreta y a su vez la matriz extracelular puede organizar el citoesqueleto de las células con las que entra en contacto, por lo que en principio puede concluirse que la matriz extracelular propaga el ordenamiento de una célula a otra (Fig. 19-61), creando estructuras homogéneamente ordenadas a gran escala (v. Fig. 19-50). Las integrinas actúan como los principales adaptadores en este ordenamiento, mediando las interacciones entre las células y la matriz que las rodea.

La mayoría de las células necesitan estar ancladas a la matriz para crecer y proliferar. Este fenómeno se llama **dependencia del anclaje** y está mediado principalmente por las integrinas y por señales intracelulares que ellas generan. La extensión física de una célula sobre la matriz también influye mucho en los procesos intracelulares. Las células que son forzadas a adoptar una morfología extendida sobre una gran superficie sobreviven mejor y proliferan más deprisa que aquellas células que no son capaces de extenderse, aun en el caso de que la superficie celular que contacta directamente con la matriz sea similar (Fig. 19-62). Presumiblemente, este efecto estimulador de la extensión celular favorece la regeneración tras el daño tisular. Si algunas de las células de un epi-

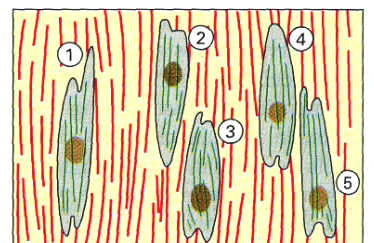
Figura 19-61 De qué forma puede la matriz extracelular propagar un ordenamiento entre las células de un tejido. Para simplificar, la figura representa un esquema hipotético en el cual una célula influye en la orientación de las células vecinas. Sin embargo, es más probable que cualquiera de las células afecte a la orientación de las demás.



la orientación que presenta el citoesqueleto en la célula (1) induce la orientación del ensamblaje de la matriz extracelular que se encuentra en las inmediaciones



la matriz orientada alcanza las células (2) y (3), induciendo, a su vez, la orientación de sus citoesqueletos



las células (2) y (3) secretan y orientan los elementos de la matriz más próxima, propagando así la orientación a los citoesqueletos de las células (4) y (5)

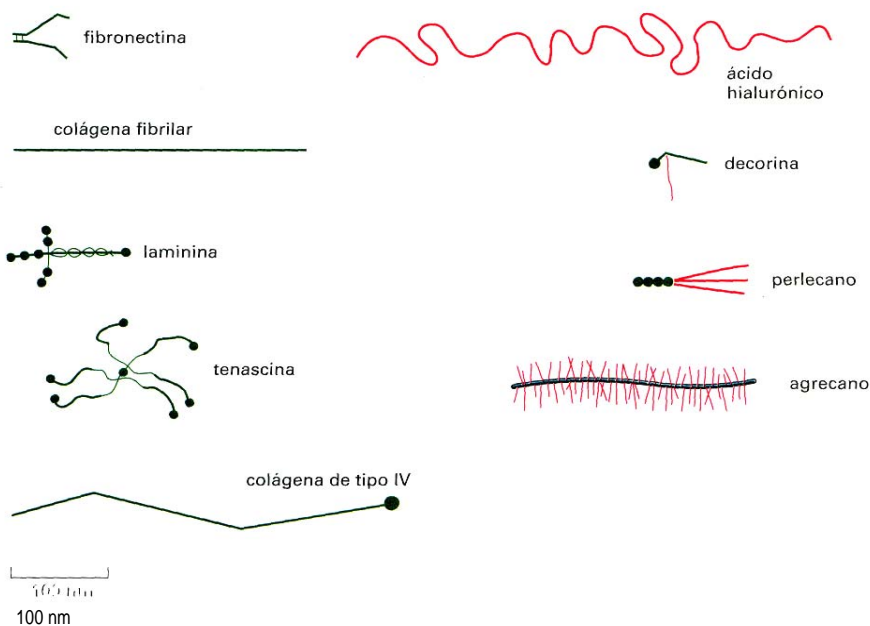


Figura 19-59 Esquema comparativo de las formas y tamaños de algunas de las principales macromoléculas de la matriz extracelular. La proteína está representada en verde y el glucosaminoglucano en rojo.

terminaciones nerviosas. La lámina basal también constituye un elemento importante para la regeneración de tejidos dañados. Cuando ello sucede en tejidos como el muscular, el nervioso o el epitelial, la lámina basal se mantiene, proporcionando un entramado a través del cual las células regeneradas pueden migrar, lo cual facilita la reconstrucción de la arquitectura del tejido original. En algunos casos, como en la piel o en la córnea, la lámina basal modifica su composición, por ejemplo por la adición de fibronectina, la cual facilita la migración celular necesaria para la reparación de heridas.

Un ejemplo muy interesante de la importancia que tiene la lámina basal en la regeneración tisular lo proporciona el estudio de la *unión neuromuscular*, donde las terminaciones nerviosas de la motoneurona forman una sinapsis química con la fibra muscular (v. Capítulo 11). La lámina basal que rodea a la fibra muscular separa las membranas plasmáticas del nervio y de la fibra muscular en la zona de la sinapsis, presentando la región sináptica de la lámina basal una composición molecular característica, ya que incorpora isoformas especiales de colágena de tipo IV y laminina, así como un proteoglucano del tipo heparán sulfato denominado **agrina**.

Esta región sináptica de la lámina basal desempeña un papel central en la reconstrucción de la sinapsis después de una lesión del nervio o del músculo. Si un músculo de rana y su nervio motor son destruidos, la lámina basal que rodea cada una de las fibras musculares permanece intacta, de forma que pueden reconocerse los lugares donde se localizaban las antiguas uniones neuromusculares. Si se permite que el nervio motor se regenere pero el músculo no, los axones nerviosos buscan la localización de las sinapsis originales en la lámina basal ahora vacía, diferenciándose como terminales nerviosas que presentan una apariencia normal. Así, la lámina basal puede por sí misma guiar la regeneración de las terminales de los nervios motores.

Experimentos similares a éstos muestran que la lámina basal también controla la localización de los receptores de acetilcolina que se agrupan en la membrana plasmática de la fibra muscular correspondiente a la unión neuromuscular. Si el músculo y el nervio son destruidos y posteriormente se permite que el músculo se regenere pero el nervio no, los receptores para acetilcolina expresados por el músculo regenerado se localizan predominantemente en la región de las antiguas uniones, a pesar de que el nervio esté ausente (Fig. 19-60). Así, aparentemente la lámina basal de unión coordina la organización espacial local de los componentes que, en cada una de las dos células, forman la unión neuromuscular. Se han identificado algunas de las proteínas que forman esta matriz. Así, por ejemplo, los axones de las motoneuronas secretan en la región de la unión neuromuscular la agrina, la cual desencadenará el ensamblaje de los receptores de acetilcolina y de otras proteínas en la membrana plasmática de la fibra muscular. A la inversa, en esta misma región las fibras musculares secretan una isoforma específica de laminina. Ambas proteínas de la lámina basal son esenciales para la organización de una unión neuromuscular funcional.

laminina dispone de otro receptor transmembrana, el *distroglicano*, el cual, junto a las integrinas, organiza el ensamblaje de la lámina basal.

En la Figura 19-59 se comparan las formas y tamaños de algunas de las moléculas de la matriz extracelular que se tratan en este capítulo.

Las láminas basales realizan diversas funciones

Una lámina basal extraordinariamente gruesa, localizada en el glomérulo renal, actúa como un filtro molecular, regulando el paso de macromoléculas desde la sangre hasta la orina, al medida que ésta se va formando (v. Fig. 19-55). Aparentemente, los proteoglucanos del tipo heparán sulfato son fundamentales para llevar a cabo esta función, ya que cuando las cadenas de GAG son degradadas mediante enzimas específicas, desaparecen las propiedades filtrantes de la lámina basal. La colágena de tipo IV también ha de desempeñar una función, ya que la patología renal humana hereditaria conocida como *síndrome de Alport* es el resultado de mutaciones que afectan a los genes que codifican las cadenas de este tipo de colágena.

La lámina basal también actúa como una barrera selectiva para la migración de las células. Así, por ejemplo, la lámina sobre la que se apoya un epitelio impide que los fibroblastos del tejido conjuntivo establezcan contacto con las células epiteliales. Sin embargo no es obstáculo para el paso de células tales como macrófagos, linfocitos o de

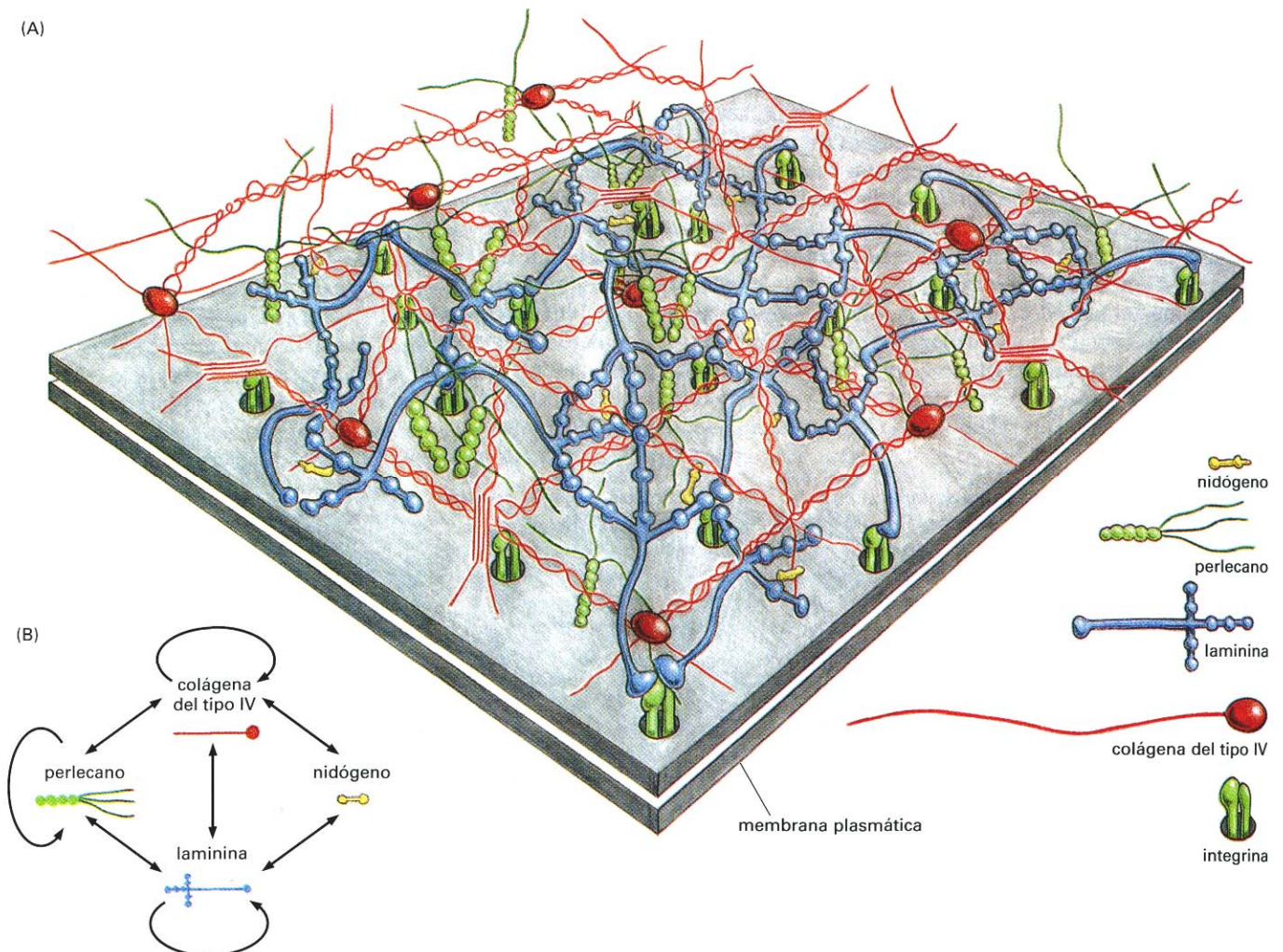


Figura 19-58 Modelo de la estructura molecular de una lámina basal. (A) La lámina basal está formada por interacciones específicas (B) entre las proteínas de colágeno tipo IV, laminina y nidógeno, además del proteoglucano perlecano. En (B) las flechas conectan moléculas que pueden unirse directamente unas con otras. Existen varias isoformas de colágeno de tipo IV y de laminina, cada una de las cuales presenta una distribución tisular específica. Se supone que los receptores transmembrana para la laminina (integrinas y distroglicano, aunque sólo se muestran las primeras) organizan el ensamblaje de la lámina basal en la membrana de la célula. (Basado en H. Cologna-to y RD. Yurchenco Dev. Dynamics 218:213-234, 2000.)

basal está fijada al tejido conjuntivo subyacente mediante unas fibrillas de anclaje especializadas, que están constituidas por moléculas de colágena del tipo VII. El término *membrana basal* se utiliza a menudo para describir el conjunto de lámina basal y esta capa de fibrillas de colágena. En un tipo de enfermedad de la piel, estos anclajes están destruidos o son inexistentes, por lo que la lámina basal se separa del tejido conjuntivo subyacente, lo que provoca la formación de ampollas.

Aunque su composición exacta varía de un tejido a otro e incluso de una región a otra en la misma lámina, la mayoría de láminas basales maduras contienen *colágena de tipo IV*, proteoglucano del tipo heparán sulfato denominado *perlecano* y glucoproteínas como la *laminina* y el *nidógeno* (también llamado *entactina*).

Las colágenas de tipo IV existen en diversas isoformas. Disponen de una estructura más flexible que las colágenas fibrilares, ya que su trímero helicoidal se encuentra interrumpido por 26 regiones que permiten múltiples curvaturas. No son proteolizadas tras su secreción, lo que permite que interactúen a través de los dominios terminales no escindidos generando una red extracelular flexible, plana y multilaminar.

En las primeras etapas del desarrollo, la lámina basal contiene poca colágena de tipo IV, o incluso carece de ella, estando formada principalmente por moléculas de laminina. La **laminina-1** (laminina clásica) es un gran complejo proteico flexible formado por tres largas cadenas polipeptídicas (α , β y γ), dispuestas en forma de cruz y unidas mediante puentes disulfuro (Fig. 19-57). Diversas isoformas de cada uno de los tipos de cadena pueden asociarse en diversas combinaciones, dando lugar a una extensa familia de lamininas. Entre las diferentes cadenas, la laminina-1 es un componente de la mayoría de los heterotrímeros, cuya importancia queda de manifiesto por la muerte que se observa en embriones que carecen de la proteína, los cuales son incapaces de formar una lámina basal. Además, la laminina tiene diferentes dominios funcionales, uno de los cuales presenta alta afinidad por el *perlecano*, otros por el *nidógeno* y al menos dos por el receptor celular para la laminina.

Al igual que la colágena de tipo IV las lamininas pueden autoensamblarse *in vitro*, formando láminas que son el resultado de las interacciones establecidas entre los extremos de sus brazos. Tanto el *perlecano* como el *nidógeno* pueden unirse tanto a la laminina como a la colágena de tipo IV por lo que se supone que son los encargados de conectar las redes de colágena y de laminina (Fig. 19-58). Habitualmente, en los tejidos las lamininas y las colágenas de tipo IV polimerizan mientras se encuentran unidas a los receptores de las células que sintetizaron las proteínas de matriz. La mayoría de estos receptores para colágena IV y para lamininas que se encuentran en la superficie celular son miembros de la familia de las integrinas. Sin embargo, la

Figura 19-57 Estructura de la laminina. (A) Subunidades de una molécula de laminina-1.

Esta glucoproteína multidominio está formada por tres polipéptidos (α , β y γ) que, mediante puentes disulfuro, dan lugar a una estructura asimétrica en forma de cruz. Cada una de las cadenas polipeptídicas está constituida por más de 1500 residuos de aminoácidos. Se han identificado cinco tipos de cadenas α , tres tipos de cadenas β y tres tipos de cadenas γ , las cuales pueden asociarse formando 45 ($5 \times 3 \times 3$) isoformas diferentes de laminina. Algunas de ellas han sido caracterizadas y presentan una distribución tisular característica. (B) Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de transmisión de dos moléculas de fibronectina tras haber sido sombreadas con platino. (B, de J. Engel et al. *J. Mol. Biol.* 150:97-120, 1981. © Academic Press.)

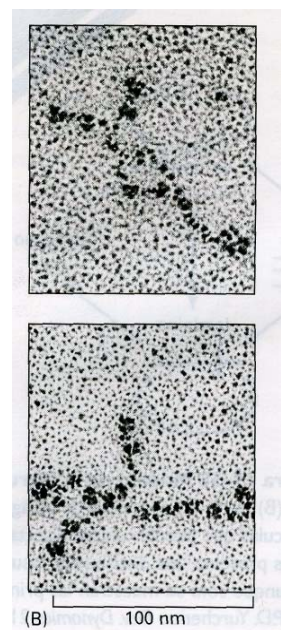
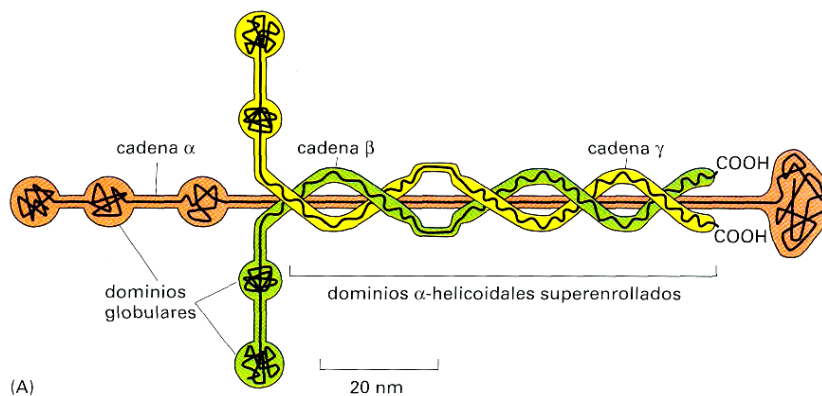




Figura 19-55 Tres modelos de organización de las láminas basales. Las láminas basales (*amarillo*) rodean algunos tipos celulares (como las fibras musculares), se sitúan en la región basal de los epitelios y se interponen entre dos capas epiteliales (tal como sucede en el glomérulo renal). Obsérvese que en esta última estructura ambas capas epiteliales presentan espacios entre ellas de tal manera que la lámina basal es una barrera permeable determinando qué moléculas son las que pasan de la sangre a la orina.

birse mediante la inyección, en el embrión de los anfibios en desarrollo, de diversos ligandos que alteren la capacidad de las células a unirse a la fibronectina.

Se supone que muchas proteínas de matriz también influyen en la orientación de los desplazamientos celulares que ocurren durante el desarrollo. Las *tenascinas* y las *trombospondinas* están compuestas por diversos tipos de cortas secuencias de aminoácidos, que se repiten muchas veces, formando diferentes dominios funcionales, estimulando o inhibiendo la adhesión celular según el tipo celular. De hecho, las interacciones antiadhesivas son tan importantes como las adhesivas en la orientación de la migración celular (v. Capítulo 21).

La lámina basal está compuesta fundamentalmente por colágena de tipo IV, laminina, nidógeno y proteoglucanos del tipo heparán sulfato

Las **láminas basales** están constituidas por una matriz extracelular especializada, que se organiza en capas flexibles y delgadas (40-120 nm de grosor) que subyacen a las superficies y conductos epiteliales. También rodean a las fibras musculares individualmente y a las células de Schwann (las cuales se sitúan alrededor de los axones periféricos de las neuronas formando la vaina de mielina). De esta manera las láminas basales separan estas células y los epitelios del tejido conjuntivo subyacente. En otras localizaciones, tales como el glomérulo renal, las láminas basales se sitúan entre dos capas celulares y actúan como un filtro altamente selectivo (Fig. 19-55). Sin embargo, las láminas basales también pueden determinar la polaridad celular, influir en el metabolismo celular, organizar las proteínas de las membranas plasmáticas adyacentes, estimular la supervivencia, la proliferación o la determinación celulares y actuar como vías específicas para la migración celular.

La lámina basal se sintetiza fundamentalmente por las células que se apoyan en ella (Fig. 19-56). En la lámina basal de algunos epitelios pluriestratificados, la lámina

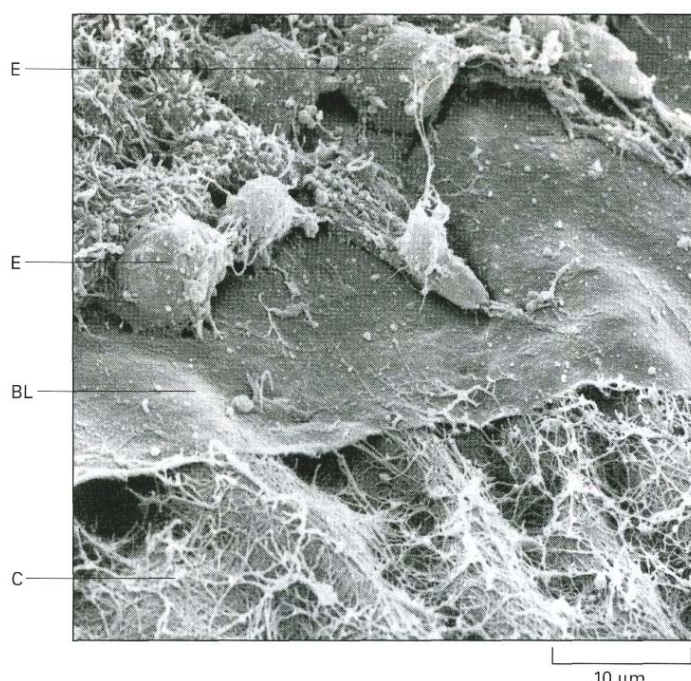


Figura 19-56 Lámina basal de la córnea de un embrión de pollo. En esta imagen, obtenida mediante microscopía electrónica de barrido, se han retirado algunas de las células epiteliales (E) para que quede expuesta la cara superior de la lámina basal (BL). La red de fibrillas de colágena (C) del tejido conjuntivo subyacente interactúa con la cara inferior de la lámina. (Por cortesía de Robert Trelstad.)

La importancia de la fibronectina en el desarrollo animal ha sido demostrada en experimentos de inactivación génica. Así, los ratones que no pueden expresar fibronectina mueren en los primeros estadios de la embriogénesis ya que sus células endoteliales son incapaces de formar vasos sanguíneos funcionales. Se supone que este defecto se debe a las interacciones anómalas que establecen estas células con la matriz extracelular circundante, la cual habitualmente contiene fibronectina.

Los filamentos intracelulares de actina controlan el ensamblaje de las fibrillas de fibronectina extracelulares

Las fibrillas de fibronectina que se forman en o cerca de la superficie de los fibroblastos suelen alinearse con las fibras de estrés intracelulares adyacentes (Fig. 19-54). Son los filamentos de actina intracelulares los que estimulan el ensamblaje de las moléculas de fibronectina una vez secretadas y regulan la orientación de las fibrillas. Cuando las células son tratadas con citocalasina, la cual desorganiza los filamentos, las fibrillas se disocian de la superficie celular (como hacen en la mitosis cuando las células se redondean).

Las interacciones que se establecen en la membrana de los fibroblastos entre las fibrillas extracelulares de fibronectina y los filamentos intracelulares de actina están mediadas en su mayor parte por integrinas. Así es como el citoesqueleto contráctil de actina y miosina tira de la matriz de fibronectina generando fuerzas de tracción. El resultado es el estiramiento de las fibrillas que provoca la exposición de un lugar de unión críptico (no accesible) mediante el que las moléculas de fibronectina pueden unirse directamente unas a otras. Además, este estiramiento expone nuevos lugares de unión a las integrinas. De esta forma el citoesqueleto de actina estimula la polimerización de la fibronectina y el ensamblaje de la matriz.

Las señales extracelulares pueden regular este ensamblaje alterando el citoesqueleto de actina, modificando así la fuerza de tracción de las fibrillas. Muchas otras proteínas de la matriz tienen varias repeticiones semejantes a las repeticiones de fibronectina de tipo III. Es posible que la tracción ejercida sobre estas proteínas también exponga lugares de unión crípticos e influya en su polimerización.

Las glucoproteínas de la matriz intervienen en la orientación de la migración celular

La fibronectina no sólo juega un papel importante en la adhesión de las células a la matriz, sino que también actúa como guía de las migraciones celulares que tienen lugar en los embriones de los vertebrados. Por ejemplo, se han encontrado grandes acúmulos de fibronectina a lo largo de la ruta seguida por las células mesodérmicas en migración durante la gastrulación de los anfibios (v. Capítulo 21). Aunque todas las células de los embriones tempranos pueden unirse a la fibronectina, tan sólo estas células mesodérmicas pueden diseminarse y migrar sobre la fibronectina. La migración puede inhi-

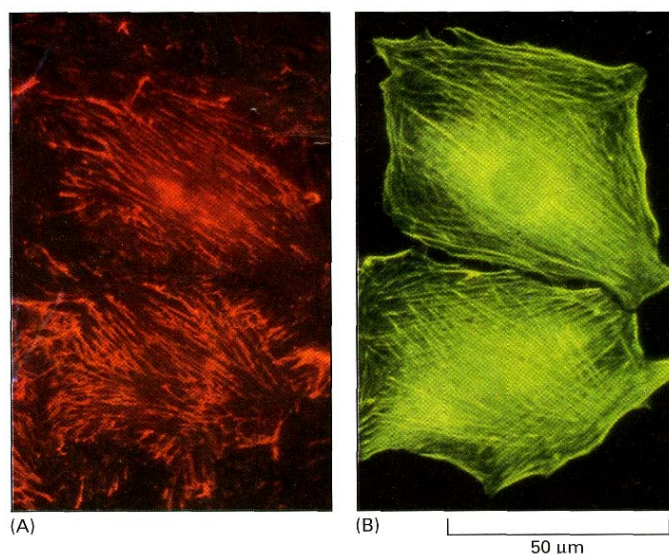


Figura 19-54 Alineamiento de los filamentos de fibronectina extracelular con los haces de filamentos de actina. (A) Se observa la fibronectina de dos fibroblastos de rata cultivados mediante la utilización de anticuerpos específicos unidos a rodamina. (B) Se observa la actina mediante anticuerpos específicos unidos a fluoresceína. (De R.O. Hynes yAT. Destree, *Cell* 15:875-886, 1978. ©Elsevier.)

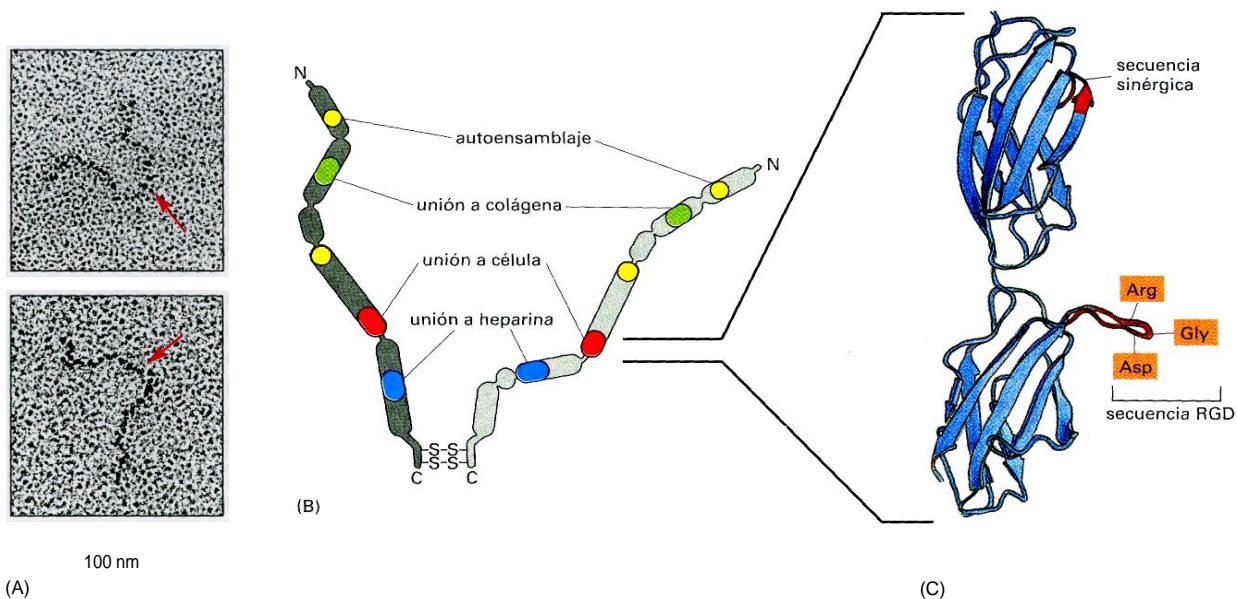


Figura 19-53 Estructura de un dímero de fibronectina.

(A) Imágenes obtenidas mediante microscopía electrónica de transmisión de dímeros de fibronectina individualizados tras haber sido sombreados con platino; las flechas rojas señalan el extremo carboxilo. (B) Las dos cadenas polipeptídicas son similares pero no idénticas (están sintetizadas por el mismo gen pero son el resultado de una maduración diferencial del mRNA) y están unidas por puentes disulfuro localizados próximos al extremo carboxilo. Cada cadena contiene por lo menos 2500 residuos de aminoácido y está plegada en cinco o seis dominios conectados mediante segmentos polipeptídicos flexibles. Cada dominio se especializa en la unión a una molécula determinada o a una célula, como se indica para cinco de ellos. Para simplificar no se muestran todos los lugares de unión (por ejemplo, existen otros lugares de unión a la célula). (C) Estructura tridimensional, determinada por cristalografía de rayos X, de dos repeticiones de fibronectina tipo III, el módulo repetitivo más representado en la fibronectina. Tanto la secuencia Arg-Gly-Asp (RGD) como las secuencias "sinérgicas" indicadas en rojo forman parte del principal lugar de unión a la célula (indicado en azul en B). (A, de J. Engel et al., *J. Mol. Biol.* 150:97-120, 1981. © Academic Press; C, de Daniel J. Leahy, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13:363-393, 1997. © Annual Reviews.)

unión a la célula se pudo identificar una secuencia tripeptídica específica (*Arg-Gly-Asp*, o *RGD*), localizada en una de las repeticiones de tipo III (v. Fig. 19-53C) y que constituía un elemento esencial del sitio de unión. Incluso péptidos muy cortos que contienen esta **secuencia RGD** compiten con la fibronectina por el receptor de las células, bloqueando su adhesión a una matriz de fibronectina. Si estos péptidos se inmovilizan sobre una superficie sólida, se consigue que las células se adhieran a ella.

La secuencia RGD no está restringida a la fibronectina, ya que se halla en diversas proteínas extracelulares, entre ellas *elfibrinógeno*, un factor de la cascada de coagulación. Los péptidos obtenidos del fibrinógeno con esta secuencia han sido de gran utilidad en el desarrollo de fármacos anticoagulantes que mimetizan esos péptidos. Las serpientes usan una estrategia semejante para inducir la hemorragia en sus víctimas, ya que secretan unas proteínas anticoagulantes denominadas *desinte-grinas* que contienen RGD y forman parte de su veneno.

La secuencia RGD es reconocida por varios miembros de la familia de las integrinas, receptores de la superficie celular que reconocen proteínas de la matriz. Sin embargo, cada receptor reconoce un grupo reducido de moléculas de la matriz, lo cual indica que la fuerte unión al receptor requiere algo más que la secuencia RGD.

La fibronectina existe en forma soluble y fibrilar

Hay muchas isoformas de fibronectina. Una, la denominada *fibronectina plasmática*, es soluble y circula por la sangre y otros fluidos donde parece incrementar la coagulación de la sangre, la cicatrización y la fagocitosis. El resto se organizan en la superficie celular depositándose en la matriz extracelular como *fibrillas de fibronectina* muy insolubles, con dímeros que presentan enlaces disulfuro adicionales.

A diferencia de las moléculas de colágena fibrilar, las cuales se autoensamblan *in vitro*, las moléculas de fibronectina sólo se organizan en fibrillas en la superficie de ciertas células. Ello es debido a que para su formación son necesarias proteínas complementarias, especialmente las integrinas que reconocen la propia fibronectina. En los fibroblastos, las fibrillas de fibronectina se asocian con las integrinas en regiones de la membrana denominadas *adhesiones fibrilares*, distinguiéndose de las adhesiones focales en que son más alargadas y se asocian con otros tipos de proteínas de anclaje intracelular. Las fibrillas que se localizan en asociación con la superficie celular se hallan muy estiradas y sometidas a fuerzas de tracción. Estas fuerzas son ejercidas por las propias células y resultan esenciales para la formación de las fibrillas (v. más adelante). Por otra parte, algunas de las proteínas de secreción tienen como función impedir el ensamblaje de la fibronectina en lugares inapropiados. Así, la *uteroglobina* se une a la fibronectina impidiendo la formación de fibrillas en el riñón. Los ratones con mutaciones en el gen que codifica esta proteína tienen acúmulos insolubles de fibronectina en sus riñones.

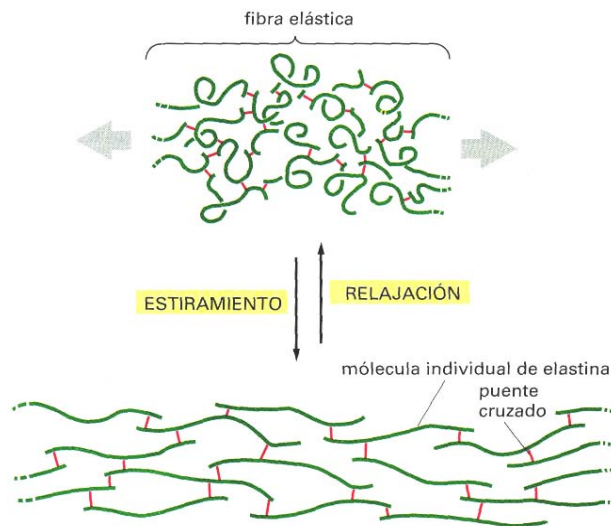


Figura 19-52 Estiramiento de una red de moléculas de elastina. Las moléculas de elastina están unidas entre sí mediante enlaces covalentes (rojo) dando lugar a una red entrecruzada. En este modelo cada molécula de elastina puede expandirse y contraerse como una espiral aleatoria, de modo que el conjunto de la red también puede hacerlo, asemejándose así a una banda elástica.

En las fibras elásticas, el núcleo de la elastina está rodeado por una envoltura de *micro fibrillas*, cada una con un diámetro de unos 10 nm. Éstas constan de varias glucoproteínas distintas, entre ellas la glucoproteína *fibrilina*, que interacciona con la elastina y parece desempeñar un papel esencial en el mantenimiento de la integridad de las fibras elásticas. Algunas mutaciones del gen de la fibrilina dan lugar al *síndrome de Marfan*, que afecta a los tejidos conjuntivos ricos en fibras elásticas. En los individuos afectados por la forma más grave, la aorta es propensa al desgarro. Se cree que las micro fibrillas intervienen en el ensamblaje de las fibras elásticas, ya que durante el desarrollo de los tejidos aparecen antes que la elastina y parece que forman un entramado sobre el cual son depositadas las moléculas de elastina una vez secretadas. A medida que la elastina se va depositando, las microfibrillas se desplazan hacia la periferia de la fibra en crecimiento.

La fibronectina es una proteína extracelular adhesiva que interviene en el anclaje de la célula a la matriz

La matriz extracelular contiene una serie de proteínas que presentan varios dominios, cada uno con lugares de unión específicos para otras macromoléculas de la matriz y para receptores de la superficie celular. Estas proteínas facilitan tanto la organización de la matriz como el anclaje de las células a la matriz. La primera en ser bien caracterizada fue la **fibronectina**, una glucoproteína presente en todos los vertebrados. Es un dímero compuesto por dos subunidades muy largas unidas mediante un par de enlaces disulfuro situados cerca del extremo carboxilo. Cada subunidad está organizada en una serie de dominios funcionalmente distintos, separados por regiones polipeptídicas flexibles (Fig. 19-53A y B). Estos dominios están compuestos por módulos más pequeños que, al repetirse secuencialmente y estar codificados por un exón diferente, sugieren que el gen de la fibronectina se originó por duplicaciones exónicas múltiples. Todas las formas de fibronectina están codificadas por un solo y largo gen que contiene unos 50 exones. La transcripción produce una única y enorme molécula de mRNA que madurará alternativamente dando lugar a las diferentes isoformas de fibronectina. El módulo principal es la **repetición de fibronectina de tipo III**, que interacciona con las integrinas y está compuesto por unos 90 residuos de aminoácidos, repitiéndose al menos 15 veces en cada subunidad. Es uno de los dominios proteicos más frecuentes en los vertebrados.

Una manera de analizar una proteína compleja multifuncional como la fibronectina es fragmentar la molécula y determinar individualmente la función de cada uno de sus dominios. Cuando la fibronectina se trata con bajas concentraciones de una enzima proteolítica, la cadena polipeptídica se escinde por las regiones de conexión entre los dominios y éstos se mantienen intactos. De esta forma se puede observar que un dominio se une a la colágena, otro a la heparina, otro más a receptores específicos de superficie de varios tipos celulares y así sucesivamente (v. Fig. 19-53B). Además, mediante la utilización de péptidos sintéticos correspondientes al dominio de

mando una estrecha banda de fibras alineadas que conectan ambos explantes (Fig. 19-50), sobre la que migrarán las células de estos explantes. Así, los fibroblastos ejercen una influencia sobre la alineación de las fibras de colágena y, a su vez, éstas afectan a la distribución de los fibroblastos. Probablemente, en el organismo los fibroblastos influyen en la generación de un ordenamiento de largo alcance sobre la matriz extracelular. La formación de tendones y ligamentos, por ejemplo, puede constituir un buen ejemplo de aquella influencia.

La elastina confiere a los tejidos su elasticidad

Muchos tejidos de vertebrados, para ejercer su función han de ser elásticos y resistentes simultáneamente. Una red de **fibras elásticas** en su matriz extracelular les confiere la elasticidad necesaria para recobrar su conformación inicial tras una deformación transitoria (Fig. 19-51). Las fibras elásticas son al menos cinco veces más extensibles que una cinta elástica con la misma sección transversal. Intercaladas con las fibras elásticas hay largas fibras de colágena inelásticas, que limitan la capacidad de extensión, impidiendo el desgarro tisular.

El componente principal de las fibras elásticas es la **elastina**, una proteína muy hidrofóbica (de unos 750 residuos de aminoácidos de largo) muy rica en prolina y glicina. No está glucosilada, presenta un bajo contenido en hidroxiprolina y carece de hidroxilisina. El precursor de la elastina, la *tropoelastina*, es secretada en forma soluble al espacio extracelular, ensamblándose formando las fibras elásticas en regiones próximas a la membrana plasmática, generalmente en invaginaciones de la superficie celular. Tras su secreción, las moléculas de tropoelastina forman numerosos enlaces cruzados, dando lugar a una extensa red de filamentos y láminas de elastina. Dichos enlaces se forman entre residuos de usina, mediante el mismo mecanismo por el que se forman en las moléculas de colágena.

La molécula de elastina está constituida en su mayor parte por dos tipos de segmentos, cortos y codificados por exones diferentes, que se alternan a lo largo de la cadena polipeptídica: los segmentos hidrofóbicos, responsables de las propiedades elásticas de la molécula, y los segmentos en hélice α , ricos en alanina y usina, que forman los enlaces cruzados entre moléculas adyacentes. Sin embargo, no está clara cuál es su conformación en las fibras elásticas ni cómo su estructura les confiere las propiedades elásticas. Desde una cierta perspectiva, la cadena polipeptídica de elastina se asemeja a las cadenas poliméricas de las gomas en que ambas adoptan una conformación de "enrollamiento al azar", y es precisamente esta estructura la que permite a la red de elastina estirarse y contraerse como una goma elástica (Fig. 19-52).

La elastina es la proteína mayoritaria de la matriz extracelular de las arterias, representando hasta el 50% del peso seco de la mayor de ellas, la aorta. Determinadas mutaciones en el gen que codifica la elastina en humanos y en roedores causan el estrechamiento de las arterias debido a una excesiva proliferación de las fibras musculares lisas que residen en la pared del vaso. Aparentemente se requiere la presencia de fibras de elastina para restringir la proliferación de estas células.

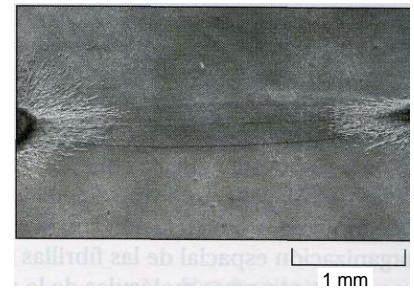


Figura 19-50 Las células modelan la matriz extracelular. Esta fotografía obtenida mediante microscopía óptica muestra la región situada entre dos fragmentos del corazón embrionario de pollo (el cual es rico tanto en fibroblastos como en fibras musculares) que han sido cultivados sobre un gel de colágena durante cuatro días. Entre los explantes se ha formado un denso tracto de fibras de colágena alineadas, probablemente como resultado de la fuerza de tracción ejercida por los fibroblastos sobre éstas. (De D. Stopack y A.K. Harris, *Dev. Biol.* 90:383-398, 1982. ©Academic Press.)

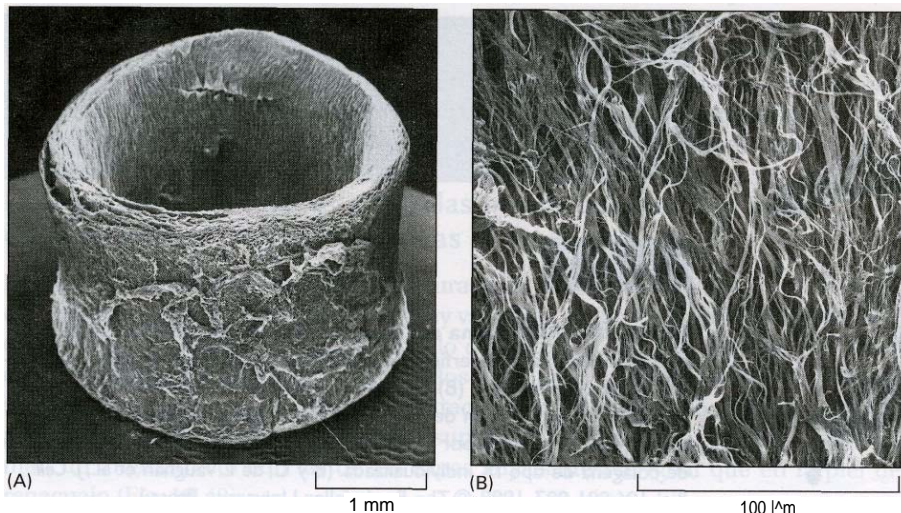


Figura 19-51 Fibras elásticas. Estas fotografías obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido muestran (A) un segmento de la aorta de perro a bajo aumento y (B) una ampliificación que muestra la densa red de fibras elásticas, orientadas longitudinalmente y localizadas en la túnica adventicia del mismo vaso sanguíneo. El resto de componentes han sido digeridos por medio de enzimas y ácido fórmico. (De K.S. Haas, S.J. Phillips, A.J. Comerota y J.W. White, *Anat Rec.* 230:86-96, 1991. © Wiley-Liss, Inc.)

Las propias células del tejido conjuntivo determinan el tamaño y la organización de las fibrillas de colágena. Las células pueden expresar uno o más de los genes que codifican los diferentes tipos moleculares de procolágena fibrilar. Sin embargo, incluso fibrillas compuestas por una misma mezcla de moléculas de colágena fibrilar presentan diferentes organizaciones en los diversos tejidos. ¿Cómo se consigue? Parte de la respuesta radica en que las células pueden regular la disposición de las moléculas de colágena, una vez secretadas, mediante la formación de fibrillas directoras que están en íntima relación con la membrana plasmática (v. Fig. 19-46). Además, la organización espacial de las fibrillas de colágena refleja al menos en parte sus interacciones con otras moléculas de la matriz, por lo que las células pueden controlar esta organización secretando, junto con las colágenas fibrilares, diferentes tipos y cantidades de otras macromoléculas de la matriz.

Se cree que las **colágenas asociadas a fibrillas**, como los tipos IX y XII, son muy importantes en este sentido y difieren de las colágenas fibrilares en varios puntos:

1. Su estructura trimérica helicoidal está interrumpida por uno o dos cortos dominios no helicoidales, lo que les aporta mayor flexibilidad que la de las moléculas de colágena fibrilares.
2. No son procesadas proteolíticamente, reteniendo así sus propéptidos.
3. Una vez en el espacio extracelular, no se agregan entre sí formando fibrillas, sino que se unen, siguiendo un patrón periódico, a la superficie de fibrillas formadas por colágenas fibrilares. Las moléculas del tipo IX se unen a fibrillas de colágena del tipo II en el cartílago, en la córnea y en el humor vitreo del ojo (Fig. 19-49), mientras que las moléculas del tipo XII se unen a fibrillas que contienen colágena del tipo I y que se encuentran tanto en tendones como en otros tejidos. Se cree que las colágenas asociadas a fibrillas median las interacciones que establecen éstas entre sí y con otras macromoléculas de la matriz, siendo éste el papel que desempeñan en la organización fibrilar de la matriz.

Las células ayudan a organizar las fibrillas de colágena que secretan al ejercer fuerzas de tracción en la matriz

Las células interaccionan con la matriz extracelular tanto mecánica como químicamente, lo que comporta importantes efectos sobre la arquitectura tisular. Así, actúan sobre las fibrillas de colágena que han secretado, ejerciendo tracciones y desplazándose sobre ellas, lo que provoca su compactación -formando láminas- y su estiramiento -lo que facilita la formación de fibras-. Cuando los fibroblastos son cultivados en una placa en la que se ha depositado una matriz gelificada de fibrillas de colágena distribuidas al azar, las células tiran de la matriz, ejerciendo tracción sobre la colágena situada a su alrededor, lo cual hace que el gel se contraiga hasta alcanzar un volumen que es una pequeña fracción del que poseían. Con un mecanismo similar, un grupo de fibroblastos se rodea de una cápsula de fibras de colágena, que se empaquetan densamente y están orientadas en circunferencia.

Cuando dos pequeños fragmentos de tejido embrionario que contienen fibroblastos se colocan separados sobre un gel de colágena, éste tiende a organizarse for-

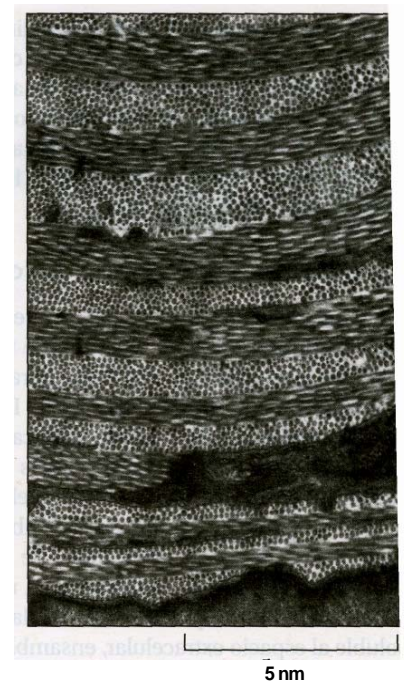


Figura 19-48 Fibrillas de colágena de la piel de renacuajo. La imagen obtenida mediante microscopía electrónica de transmisión muestra el ordenamiento multilaminar de las fibrillas. Las sucesivas capas de fibrillas se orientan siguiendo ángulos rectos. Este tipo de organización también se encuentra en el hueso maduro y en la córnea. (Por cortesía de Jerome Gross.)

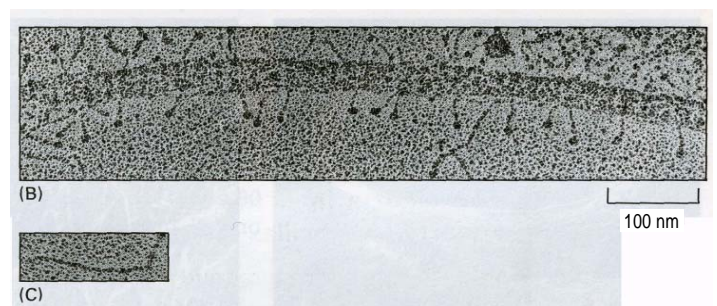
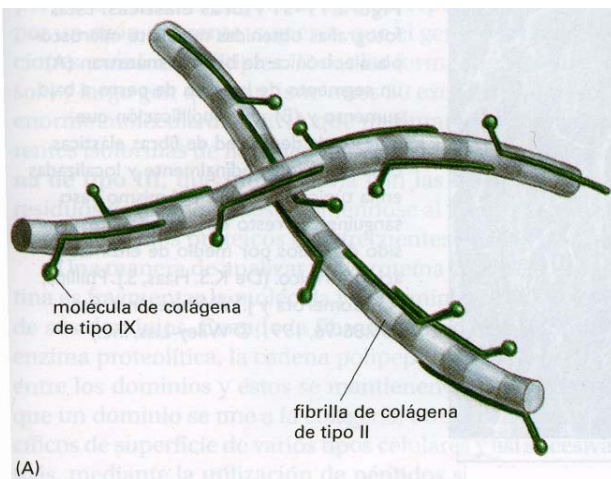


Figura 19-49 Colágena del tipo IX. (A) Las moléculas de colágena de tipo IX se unen a la superficie de una fibrilla de colágena de tipo II siguiendo un patrón periódico. (B) Micrografía electrónica obtenida mediante el sombreado por rotación de una fibrilla de colágena de tipo II del cartílago que se halla recubierta por moléculas de colágena de tipo IX. (C) Molécula de colágena de tipo IX individualizada. (B y C, de L.Vaughan et al., *Ce// B/o*. 106:991-997, 1988.©The Rockefeller University Press.)

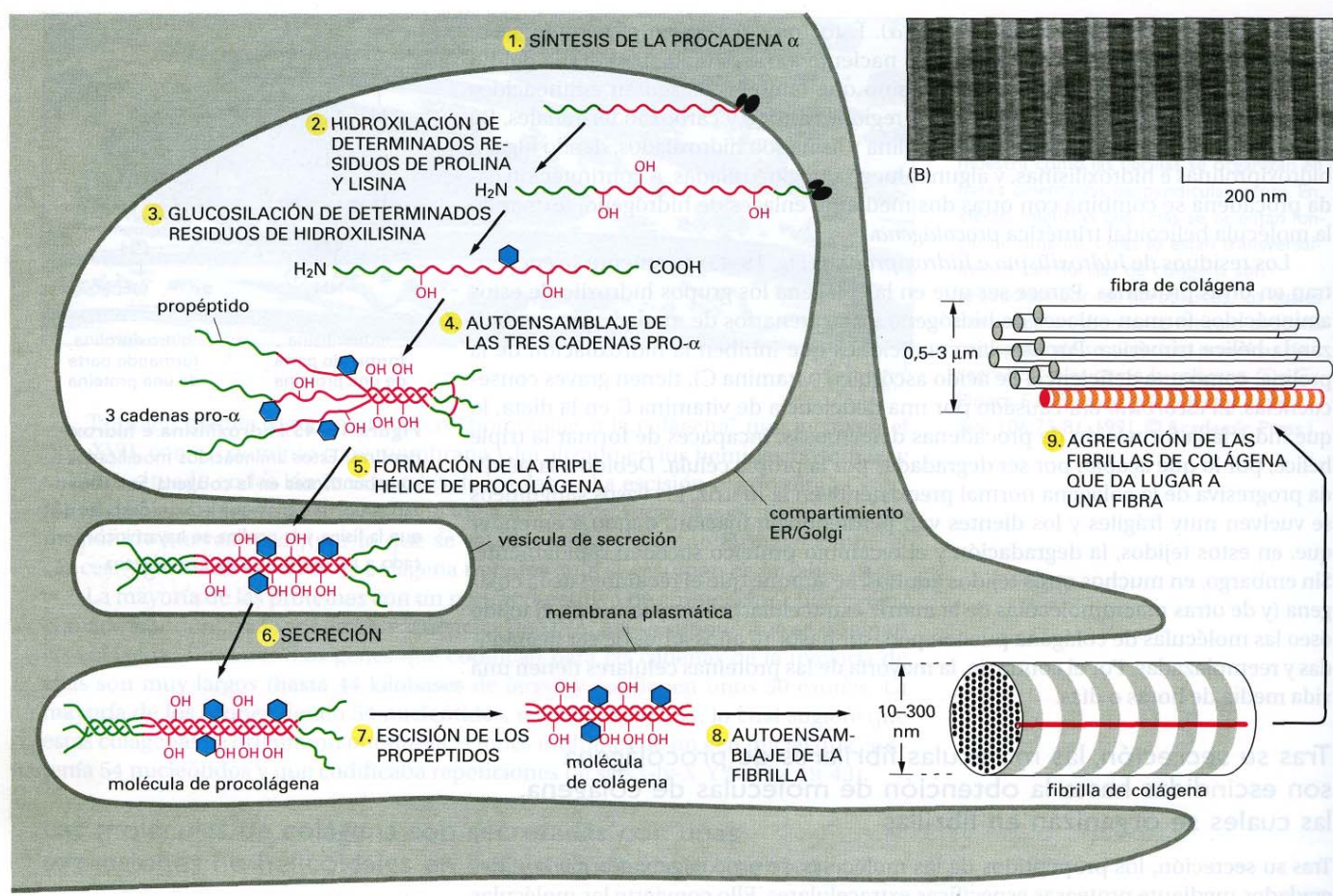


Figura 19-47 Procesos intra- y extracelulares implicados en la formación de una fibrilla de colágeno. (A) Obsérvese que las fibrillas de colágeno se ensamblan en el espacio extracelular contenido en una gran invaginación de la membrana plasmática. A modo de ejemplo se muestra cómo las fibrillas pueden formar estructuras ordenadas en el espacio extracelular al ensamblarse y formar grandes fibras de colágeno, las cuales son estructuras observables mediante el microscopio óptico. No se muestran los enlaces cruzados que estabilizan los agregados extracelulares. (B) Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de transmisión de una fibrilla de colágena contrastada negativamente en la que se puede observar su típico aspecto estriado. (B, por cortesía de Robert Horne.)

pío, en el tendón de Aquiles, donde el mantenimiento de la tensión es crucial, la colágena residente presenta numerosos enlaces cruzados.

Dado el gran número de pasos enzimáticos implicados en la formación de la fibrilla de colágeno (Fig. 19-47), no es sorprendente que haya muchas enfermedades genéticas que afecten a su formación. Mutaciones que afectan a la colágena de tipo I causan *osteogénesis imperfecta*, caracterizada por huesos débiles que fácilmente se fracturan. Por su parte, las mutaciones que afectan a la colágena de tipo II causan *condrodismplasias*, que se caracterizan por un cartílago anormal que conduce a deformidades en huesos y articulaciones. Finalmente, las mutaciones que afectan a la colágena de tipo III causan el *síndrome de Ehlers-Danlos*, caracterizado por la fragilidad de la piel y de los vasos sanguíneos, y por articulaciones hipermóviles.

Las colágenas asociadas a fibrillas intervienen en la organización de las fibrillas

Las fibrillas de colágeno forman estructuras que resisten las fuerzas de tracción. Su diámetro en los diferentes tejidos son muy variables: en la piel de los mamíferos están organizadas como un cesto de mimbre, lo que permite la oposición a las tracciones ejercidas desde múltiples direcciones. En los tendones lo están en haces paralelos que se alinean a lo largo del eje principal de tracción. En el tejido óseo adulto y en la córnea se disponen en láminas delgadas y superpuestas paralelas una a otra, pero forman un ángulo recto con las de las capas adyacentes, al igual que en la piel del renacuajo (Fig. 19-48).

ma de grandes precursores (*procadenas a*). Éstos no sólo tienen el péptido señal necesario para transportar el polipéptido naciente a través de la membrana del ER localizado en la región amino terminal, sino que también presentan aminoácidos adicionales (*propéptidos*), situados en las regiones amino y carboxilo terminales. En la luz del ER determinados residuos de prolina y Usina son hidroxilados, dando lugar a hidroxiprolinas e hidroxilisinas, y algunas luego son glucosiladas. A continuación cada procadena se combina con otras dos mediante enlaces de hidrógeno, formando la molécula helicoidal trimérica *procolágena*.

Los residuos de *hidroxilisina* e *hidroxiprolina* (Fig. 19-45) raramente se encuentran en otras proteínas. Parece ser que en la colágena los grupos hidroxilo de estos aminoácidos forman enlaces de hidrógeno intracatenarios de manera que estabilizan la hélice trimérica. Por eso, las condiciones que inhiben la hidroxilación de la prolina, como una deficiencia de ácido ascórbico (vitamina C), tienen graves consecuencias. El *escorbuto* era causado por una deficiencia de vitamina C en la dieta, lo que inducía la formación de procadenas defectuosas, incapaces de formar la triple hélice, por lo que acababan por ser degradadas por la propia célula. Debido a la pérdida progresiva de la colágena normal preexistente en la matriz, los vasos sanguíneos se vuelven muy frágiles y los dientes van perdiendo su fijación, dando a entender que, en estos tejidos, la degradación y el recambio proteico suceden rápidamente. Sin embargo, en muchos otros tejidos adultos, se supone que el recambio de la colágena (y de otras macromoléculas de la matriz extracelular) es muy lento. En el tejido óseo las moléculas de colágena pueden persistir hasta 10 años antes de ser degradadas y reemplazadas. Por el contrario, la mayoría de las proteínas celulares tienen una vida media de horas o días.

Tras su secreción, las moléculas fibrilares de procolágena son escindidas hasta la obtención de moléculas de colágena, las cuales se organizan en fibrillas

Tras su secreción, los propéptidos de las moléculas de procolágena fibrilar son degradados mediante proteasas específicas extracelulares. Ello convierte las moléculas de procolágena en moléculas de colágena, las cuales se asocian en el espacio extracelular formando **fibrillas de colágena**. Los propéptidos tienen al menos dos funciones. Primero, dirigen la formación intracelular del trímero de colágena. Segundo, y debido a que tan sólo son eliminados tras su secreción, impiden la formación intracelular de las grandes fibrillas de colágena, lo cual sería catastrófico.

La formación de fibrillas está dirigida, en parte, por la tendencia de las moléculas de colágena a autoensamblarse, ya que son más de 1000 veces más insolubles que las de procolágena. Las fibrillas empiezan a formarse cerca de la superficie celular, a menudo en invaginaciones de la membrana plasmática formadas por la fusión de las vesículas secretoras con la membrana. Así pues, el citoesqueleto cortical puede influir en el lugar, en la velocidad y la orientación del ensamblaje fibrilar.

Cuando se observan mediante el microscopio electrónico, las fibrillas de colágena presentan unas características estrías transversales espaciadas cada 67 nm, que son el reflejo del empaquetamiento escalonado y periódico de moléculas de colágena individuales en la fibrilla. Después de formarse en el espacio extracelular, las fibrillas se refuerzan mediante el establecimiento de enlaces covalentes entre los residuos de lisina de las moléculas de colágena constituyentes (Fig. 19-46). Este tipo de enlace covalente sólo se ha encontrado en la colágena y en la elastina. Si se bloquea la formación de los enlaces cruzados, la tensión de las fibrillas disminuye drásticamente, lo que provoca la fragilidad de los tejidos que incorporan colágena y la pérdida de continuidad en estructuras como la piel, los tendones y los vasos sanguíneos. La extensión y el tipo de enlaces cruzados varían de un tejido a otro. Por ejem-

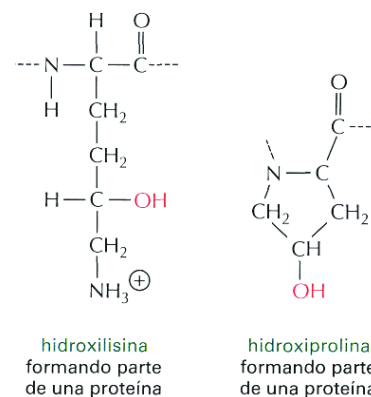
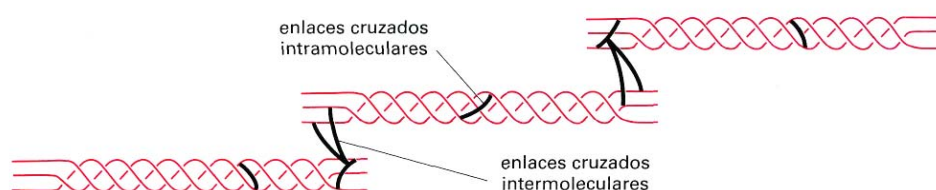


Figura 19-45 Hidroxilisina e hidroxiprolina. Estos aminoácidos modificados son abundantes en la colágena. Son sintetizados por enzimas que actúan después de que la Usina y la prolina se hayan incorporado a las moléculas de procolágena.

Figura 19-46 Enlaces cruzados que se forman entre cadenas laterales de lisina modificadas en el seno de las fibrillas de colágena. Los enlaces cruzados covalentes tanto intramoleculares como intermoleculares se forman siguiendo una serie de pasos. En primer lugar, algunos residuos de lisina y de hidroxilisina son desaminados por la enzima extra-celular lisil oxidasa, lo que da lugar a grupos aldehído altamente reactivos. Estos grupos reaccionan espontáneamente formando enlaces covalentes entre sí o con otros residuos, de lisina o hidroxilisina. La mayoría de los enlaces se forman entre los cortos segmentos no helicoidales de los extremos de la molécula de colágena.



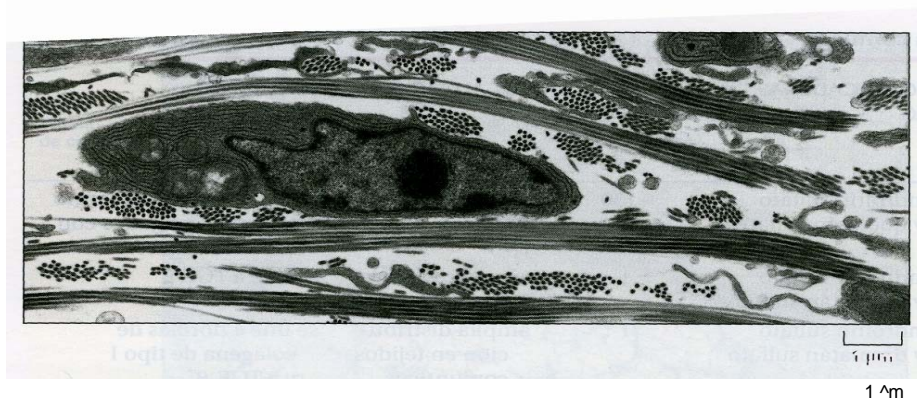


Figura 19-44 Fibroblastos rodeados por fibrillas de colágena en el tejido conjuntivo de la piel de un embrión de pollo. En esta fotografía obtenida por microscopía electrónica de transmisión se muestra cómo las fibrillas se organizan en haces orientados perpendicularmente. En efecto, mientras que unas se orientan longitudinalmente, otras lo están transversalmente. Las fibrillas de colágena son producidas por los fibroblastos, los cuales contienen un abundante retículo endoplasmático donde se sintetizan proteínas de secreción tales como la colágena. (De C. Ploetz, E.I. Zycband y D.E. Birk. *Struct Biol.* 106:73-81, 1991. ©Academic Press.)

También existen algunas proteínas "homologas a la colágena" que incluyen el tipo XVII, con un dominio transmembrana y localizado en los hemidesmosomas, y el XVIII, situado en las láminas basales de los vasos. La escisión del dominio C-terminal de esta colágena de tipo XVIII da lugar a la *endostatina*, la cual bloquea la formación de nuevos vasos, por lo que se está investigando como fármaco contra el cáncer. Algunos de los tipos de colágena tratados aquí se resumen en la Tabla 19-5.

La mayoría de las proteínas con un patrón repetitivo de aminoácidos han evolucionado por duplicaciones en las secuencias de DNA. Así se supone que se originan las colágenas fibrilares. Los genes que codifican para las cadenas de la mayoría de ellas son muy largos (hasta 44 kilobases de largo) y contienen unos 50 exones. La mayoría de los exones tienen 54 nucleótidos, o múltiplos de 54, lo cual sugiere que estas colágenas se originaron por duplicaciones múltiples de un gen inicial que contenía 54 nucleótidos y que codificaba repeticiones de seis Gly-X-Y (v. Fig. 19-43).

Las moléculas de colágena son secretadas con unas extensiones no helicoidales en cada uno de los extremos

Cada una de las cadenas polipeptídicas de colágena es sintetizada por los ribosomas unidos a membrana y translocada al lumen del retículo endoplasmático (ER) en for-

TABLA 19-5 Algunos tipos de colágena y sus propiedades

	TIPO	FÓRMULA MOLECULAR	FORMA POLIMERIZADA	DISTRIBUCIÓN TISULAR
Formadora de fibrillas (fibrilar)	I	$[\alpha 1(I)]_2\alpha 2(I)$	fibrilla	hueso, piel, tendones, ligamentos, córnea, órganos internos (supone el 90% de la colágena del organismo)
	II	$[\alpha 1(II)]_3$	fibrilla	cartílago, disco intervertebral, notocorda, humor vítreo del ojo
	III	$[\alpha 1(III)]_3$	fibrilla	piel, vasos sanguíneos, órganos internos
	V	$[\alpha 1(V)]_2\alpha 2(V)$ y $\alpha 1(V)\alpha 2(V)\alpha 3(V)$	fibrilla (con tipo I)	como el tipo I
Asociada a fibrillas	XI	$\alpha 1(XI)\alpha 2(IX)\alpha 3(XI)$	fibrilla (con tipo II)	como el tipo II
	IX	$\alpha 1(IX)\alpha 2(IX)\alpha 3(IX)$	asociación lateral con fibrillas del tipo II	cartílago
	XII	$[\alpha 1(XII)]_3$	asociación lateral con fibrillas del tipo I	tendones, ligamentos, algunos otros tejidos
Formadora de redes	IV	$[\alpha 1(IV)]_2\alpha 2(IV)$	red laminar	láminas basales
	VII	$[\alpha 1(VII)]_3$	fibrillas de anclaje	subyacente a los epitelios escamosos estratificados
Transmembrana	XVII	$[\alpha 1(XVII)]_3$	desconocida	hemidesmosomas
Otras	XVIII	$[\alpha 1(XVIII)]_3$	desconocida	lámina basal en torno a los vasos sanguíneos

Obsérvese que los tipos I, IV, V, IX y XI están compuestos por dos o tres tipos de cadenas, mientras que los tipos II, III, VII, XII, XVII y XVIII están compuestos únicamente por un solo tipo de cadena α específica para cada uno de ellos. Solamente se muestran once tipos de colágena, aunque hasta ahora se han identificado unos 20 y alrededor de 25 tipos de cadenas α .

TABLA 19-4 Algunos proteoglucanos comunes

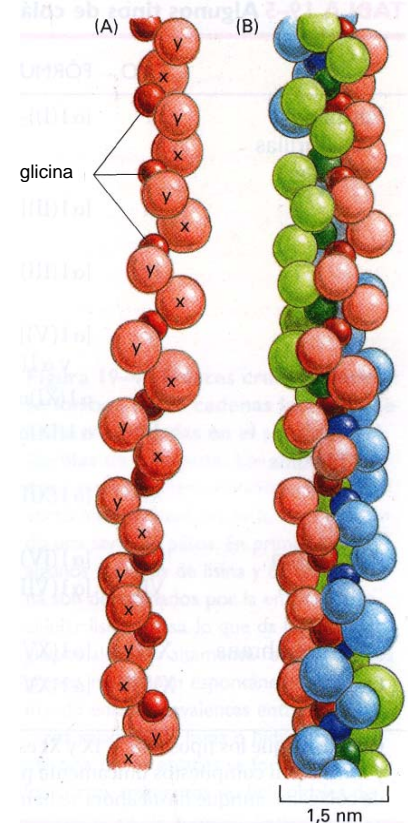
PROTEOGLUCANO	PESO MOL. APROX. DE LA PROTEÍNA CENTRAL	TIPO DE CADENAS GAG	NÚMERO DE CADENAS GAG	LOCALIZACIÓN	FUNCIONES
Agrecano	210.000	condroitín sulfato y queratán sulfato	~130	cartílago	soporte mecánico; forma grandes agregados con el ácido hialurónico
Betaglucano	36.000	condroitín sulfato y dermatán sulfato	1	superficie celular y matriz	se une a TGF- β
Decorina	40.000	condroitín sulfato y dermatán sulfato	1	amplia distribución en tejidos conjuntivos	se une a fibrillas de colágena de tipo I y a TGF- β
Perlecano	600.000	heparán sulfato	2-15	láminas basales	función estructural y filtradora en lámina basal
Sindecano-1	32.000	condroitín sulfato y heparán sulfato	1-3	superficie de células epiteliales	adhesión celular; se une a FGF y a otros factores de crecimiento
Dally (en <i>Drosophila</i>)	60.000	heparán sulfato	1-3	superficie celular	correceptor para las proteínas de señalización Wingless y Decapentaplegic

ño, la abundante presencia de glicina favorece un denso empaquetamiento de las tres cadenas α , necesario para la formación de la superhélice de colágena (v. Fig. 19-43).

Se han identificado unas 25 cadenas ct distintas, cada una codificada por un gen diferente, expresándose diversas combinaciones de estos genes en los diferentes tejidos. Aunque, en principio, se pueden formar más de 10.000 tipos de moléculas de colágena de triple hélice a partir de estas 25 cadenas α , sólo se han identificado unos 20. Los principales tipos localizados en el tejido conjuntivo son los tipos I, II, III, Vy XI, siendo el tipo I el principal de la piel y de los huesos y el más abundante. Éstas constituyen las **colágenas fibrilares**, o colágenas formadoras de fibrillas, cuya estructura fibrosa se ilustra en la Figura 19-43. Una vez secretados al espacio extracelular, se organizan en unos polímeros muy ordenados denominados *fibrillas de colágena*. Son estructuras delgadas (entre 10 y 300 nm de diámetro), que en tejidos maduros llegan a medir varios cientos de micrómetros, pudiéndose distinguir fácilmente con el microscopio electrónico (Fig. 19-44; v. también Fig. 19-42). Habitualmente, las fibrillas de colágena se agregan formando haces, con diámetros de algunos micrómetros, por lo que pueden observarse con el microscopio óptico como *fibras de colágena*.

Los tipos IX y XII son las **colágenas asociadas a fibrillas**, que decoran la superficie de las fibrillas de colágena. Se supone que unen las fibrillas entre sí y a otros componentes de la matriz extracelular. Los tipos IV y VII son las **colágenas formadoras de redes**. Así, las moléculas de tipo IV se unen en una especie de lámina o red que constituye un elemento esencial de la lámina basal madura, mientras que las moléculas del tipo VII forman dímeros que se ensamblan formando estructuras especializadas denominadas *fibras de anclaje*. Estas fibras intervienen en la fijación de la lámina basal de los epitelios pluriestratificados al tejido conjuntivo subyacente.

Figura 19-43 Estructura de una molécula de colágena. (A) Modelo de una región de una cadena de colágena en la que cada aminoácido está representado por una esfera. La cadena contiene alrededor de 1000 residuos de aminoácido y está estructurada como una hélice levógira de tres residuos de aminoácido por vuelta, de los que el tercero es una glicina. Por lo tanto, cada cadena está constituida por secuencias Gly-X-Y, donde X e Y pueden ser cualquier aminoácido (aunque habitualmente X es una prolina e Y una hidroxiprolina). (B) Modelo de una zona de la molécula de colágena en la que las tres cadenas, cada una de ellas representada en un color distinto, están enrolladas entre sí dando lugar a una triple hélice. La glicina es el único aminoácido lo suficientemente pequeño para ocupar la pequeña región central de la triple hélice. Sólo se muestra una pequeña parte de la molécula, ya que su longitud total es de unos 300 nm de longitud. (Esquema realizado a partir del modelo propuesto por B.L.Trus.)



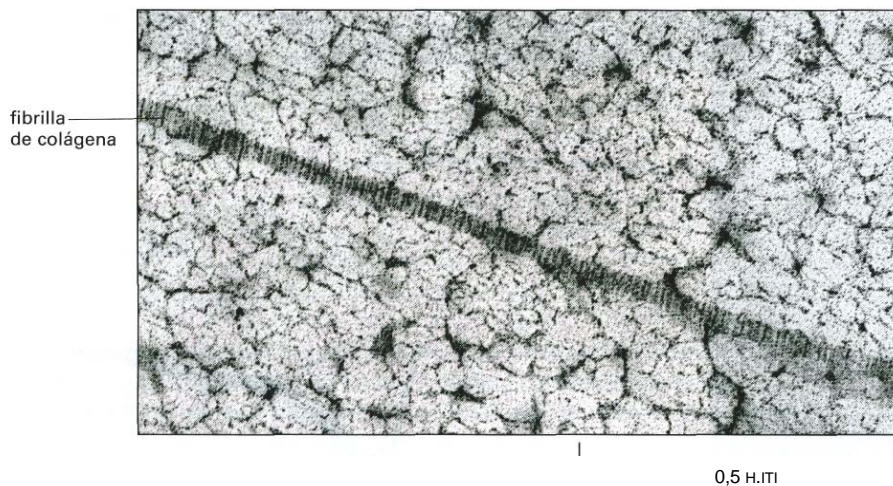


Figura 19-42 Proteoglicanos de la matriz extracelular del cartílago de rata. El tejido fue congelado rápidamente a -196°C y posteriormente fijado y contrastado en estas condiciones (método denominado de congelación-sustitución), evitando así el colapso de las cadenas de GAG. En esta fotografía, obtenida mediante microscopía electrónica de transmisión, las moléculas de proteoglicanos pueden observarse como una fina red filamentosa que contiene una fibrilla de colágena, en la que pueden distinguirse bandas. Las regiones más contrastadas de los proteoglicanos corresponden a las proteínas centrales, mientras que las que muestran una menor intensidad corresponden a las cadenas de glucosaminoglucanos. (Reproducido de E.B. Hunziker y R.K. Shenk, *Cell* 98:277-282, 1985 © Rockefeller University Press.)

señalización. Además, algunos de los receptores convencionales disponen de una o más cadenas de GAG, por lo que también son proteoglicanos.

Entre los proteoglicanos de membrana mejor caracterizados se encuentran los *sindecanos*, los cuales presentan una proteína central transmembrana. La región extracelular de estos proteoglicanos transmembrana presenta hasta tres cadenas de condroitín sulfato y heparán sulfato, mientras que parece que su dominio intracelular interactúa con la acuna del citoesqueleto cortical de la célula.

Los sindecanos se encuentran en la superficie de muchos tipos celulares, incluyendo fibroblastos y células epiteliales, donde actúan como receptores para proteínas de la matriz. En los fibroblastos, los sindecanos también se encuentran en las adhesiones focales, donde modulan la actividad de las integrinas al interaccionar con la fibronectina en la superficie celular, y con el citoesqueleto y con otras proteínas de señalización en el interior de la célula. Por otra parte, los sindecanos también se unen a los FGF, presentándolos a los receptores de FGF de la misma célula. De un modo parecido, otro proteoglicano de membrana, denominado *betaglicano*, se une al TGF- β presentándolo a sus receptores específicos.

La importancia de los proteoglicanos como correceptores se pone de manifiesto por los severos defectos en el desarrollo que aparecen cuando los proteoglicanos están inactivados debido a una mutación. Por ejemplo, en *Drosophila* la señalización por la proteína señal secretada *Wingless* depende de la unión de esta proteína a un correceptor específico de proteoglicano heparán sulfato de la célula diana denominado *Daily*. En las moscas mutantes deficientes en *Daily*, la señalización *Wingless* no se produce y los efectos severos en el desarrollo que se producen son similares a los que se presentan debido a mutaciones en el propio gen *wingless*. En algunos tejidos, la inactivación de *Daily* también inhibe la señalización mediante una proteína secretada de la familia TGF- β denominada *Decapentaplegic (DPP)*.

Algunos de los proteoglicanos tratados se resumen en la Tabla 19-4.

Las colágenas son las principales proteínas de la matriz extracelular

Las **colágenas** constituyen una familia de proteínas fibrilares que se encuentran en todos los animales pluricelulares. Son secretadas por las células del tejido conjuntivo, así como por otros tipos celulares. Son los componentes más abundantes de la piel y de los huesos, por lo que son las proteínas más abundantes de los mamíferos, constituyendo el 25% de la masa total de proteína en estos animales.

Las características fundamentales de las moléculas de colágena son su longitud, su rigidez y su estructura helicoidal trimérica, en la cual tres polipéptidos de colágena, denominados *cadenas α* , se enrollan sobre sí mismos formando una superhélice filiforme (Fig. 19-43). Las colágenas son muy ricas en prolina y glicina, las cuales son importantes en la formación de la hélice trimérica. Gracias a su estructura anular, la prolina estabiliza la conformación helicoidal en cada una de las cadenas, mientras que la glicina se encuentra espaciada regularmente, cada tres residuos de aminoácido, a lo largo de la región central de las cadenas α . Al ser el aminoácido más peque-

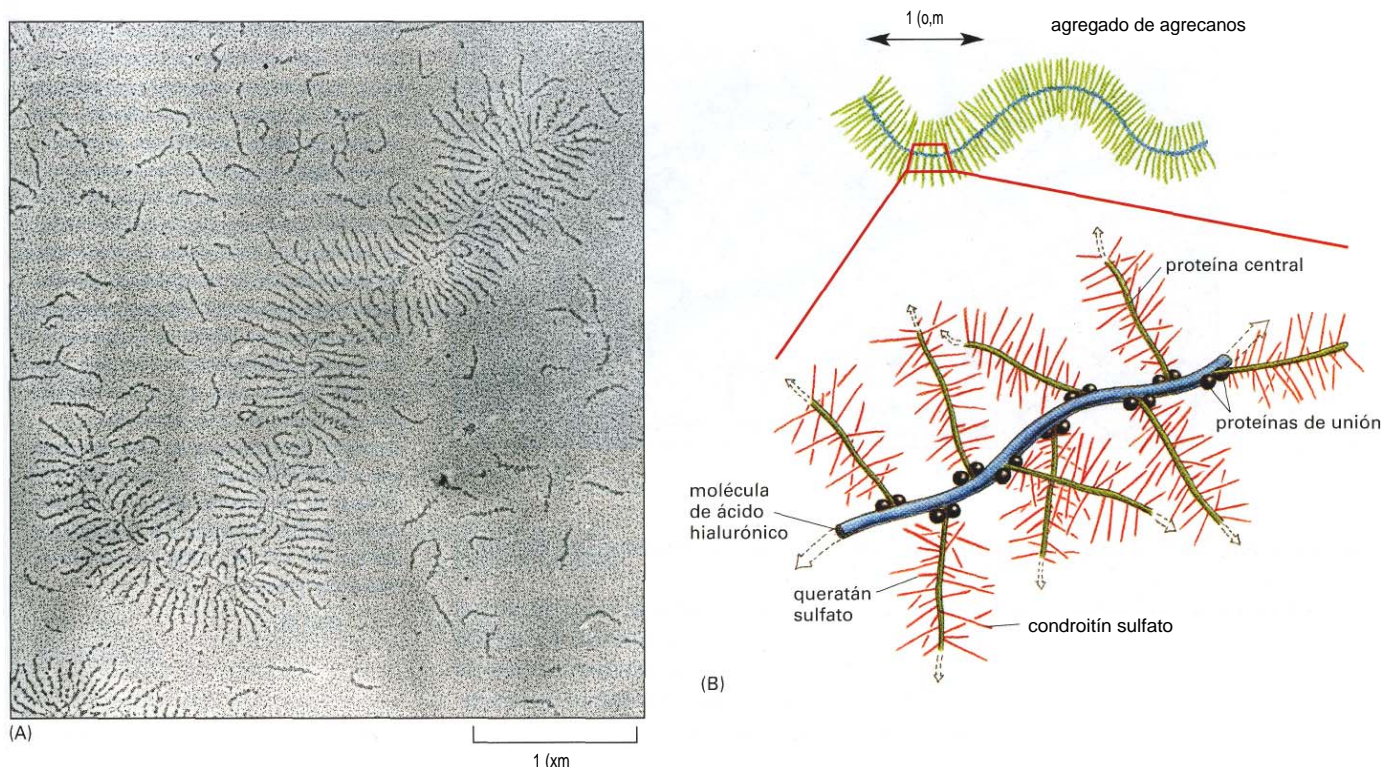


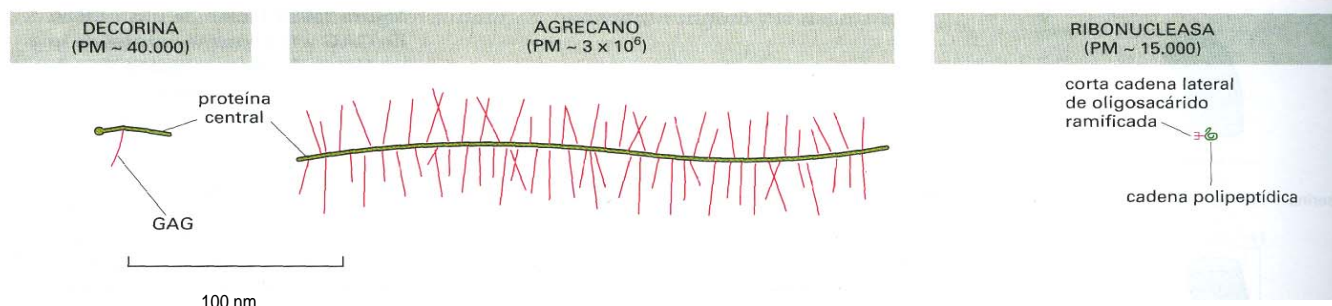
Figura 19-41 Agregado de agrecanos de cartílago fetal bovino. (A) Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de transmisión de un agregado de agrecanos que ha sido sombreado con platino. Pueden observarse también muchas moléculas libres del proteo-glucano. (B) Esquema del enorme agregado de agrecanos mostrado en (A). Está constituido por unos 100 monómeros de agrecano (cada uno de los cuales es como el mostrado en la Figura 19-40) unidos de forma no covalente a una cadena de ácido hialurónico a través de dos proteínas de unión. Éstas, a su vez, se unen tanto a la proteína central del proteoglucano como a la cadena de ácido hialurónico, estabilizando así el agregado. Las proteínas de unión son miembros de una familia de proteínas de unión al ácido hialurónico, algunas de las cuales se expresan en la superficie celular. El peso molecular de un complejo como éste es de 10^8 daltons o más y ocupa un volumen equivalente al de una bacteria, que es aproximadamente de unos $2 \times 10^{-12} \text{ cm}^3$. (A, por cortesía de Lawrence Rosenberg.)

En la matriz extracelular, las cadenas de GAG presentan un alto grado de organización

Los GAG y los proteoglucanos se asocian formando enormes complejos poliméricos en la matriz extracelular. Así por ejemplo, en el espacio extracelular las moléculas de *agrecano* -el principal proteoglucano del cartílago (v. Fig. 19-40)- se ensamblan con ácido hialurónico formando agregados tan grandes como una bacteria (Fig. 19-41). Los GAG y los proteoglucanos también se asocian con proteínas fibrosas de la matriz, como la colágena, y con redes proteicas como la lámina basal, formando estructuras muy complejas. La decorina -la cual se une a fibrillas de colágena- es imprescindible para la formación de las propias fibras: los ratones que no pueden sintetizarla presentan una piel frágil que ha perdido tensión. Por otra parte, la organización de las moléculas de proteoglucanos en tejidos vivos es muy difícil de determinar. Dado que son muy solubles en agua, son eliminadas de la matriz extracelular cuando los fragmentos de los tejidos se exponen a soluciones acuosas durante la fijación. Además, cambios en el pH, o en las condiciones iónicas u osmóticas, pueden alterar drásticamente su conformación. Así pues, para poderlas visualizar en los tejidos han de usarse métodos especiales (Fig. 19-42).

Los proteoglucanos localizados en la superficie celular actúan como correceptores

No todos los proteoglucanos son componentes de la matriz extracelular que han sido secretados. Algunos son componentes integrales de las membranas plasmáticas y tienen su proteína central insertada en la bicapa lipídica, o unida a ésta con un anclaje de glucosilfosfatidilinositol (GPI). Algunos actúan como *correceptores* que colaboran con los receptores de la superficie celular, tanto en la unión celular a la matriz extracelular como iniciando la respuesta de las células a algunas proteínas de



estas secuencias también son extremadamente diversas. No existe una característica estructural común que distinga de manera clara las proteínas centrales de otras proteínas, sino que muchas de ellas tienen uno o más dominios que son homólogos a los encontrados en otras proteínas de la matriz extracelular o de la membrana plasmática. Así pues, quizá sea mejor considerar los proteoglicanos como un grupo diverso de glucoproteínas muy glucosiladas cuyas funciones dependen tanto de su proteína central como de sus cadenas de GAG.

Los proteoglicanos pueden regular las actividades de las proteínas secretadas

Dadas la abundancia y la heterogeneidad estructural de los proteoglicanos, parece improbable que su función en la matriz extracelular se vea limitada a generar un espacio hidratado alrededor y entre las células. Por ejemplo, sus cadenas de GAG pueden formar geles de poro y densidad de carga variables, por lo que podrían intervenir como filtro selectivo en la regulación del tráfico de moléculas y de células, seleccionándolas en función de su tamaño, de su carga o de ambas cosas a la vez. Existen pruebas de que el proteoglicano del tipo heparán sulfato denominado *perlecano* ejerce esta función en la lámina basal de los glomérulos renales, la cual filtra las moléculas que pasan a la orina desde el torrente sanguíneo (v. más adelante).

Se supone que los proteoglicanos desempeñan un papel importante en la señalización química entre las células, ya que se unen a diversas moléculas de señalización, pudiendo aumentar o disminuir su actividad señalizadora. Así, por ejemplo, el *factor de crecimiento fibroblástico (FGF)*, que estimula la proliferación de varios tipos celulares, se une a las cadenas de heparán sulfato de proteoglicanos, las cuales inducen la oligomerización del factor, facilitando así la activación de sus receptores, que son tirosinas quinasa transmembrana (v. Figura 15-50B). En la mayoría de los casos, las moléculas de señalización se unen a las cadenas de los GAG de los proteoglicanos, pero esto no siempre sucede así. En efecto, algunos miembros de la familia del *factor de crecimiento transformante* β (*TGF- β*) se unen a las proteínas centrales de varios proteoglicanos de la matriz, incluyendo la decorina. En este caso, la unión a la decorina inhibe la actividad del TGF- β .

Los proteoglicanos también se unen y regulan las actividades de otros tipos de proteínas de secreción, como enzimas proteolíticas (proteasas) y sus inhibidores. La unión a un proteoglicano podría controlar la actividad de una proteína por alguno de mecanismos: (1) podría inmovilizar la proteína cerca del lugar donde ésta se secreta, restringiendo el alcance de su acción; (2) podría bloquear estéricamente la actividad de la proteína; (3) podría proporcionar una reserva de proteína para su liberación posterior; (4) podría proteger a las proteínas frente a degradaciones proteolíticas, prolongando su acción, y (5) podría alterar o concentrar la proteína haciendo más efectiva su exposición a los receptores de superficie celular.

Se cree que los proteoglicanos actúan de todas estas maneras colaborando en la regulación de las actividades de las proteínas de secreción. Un ejemplo del último modo de acción lo proporcionan las respuestas inflamatorias, durante las cuales los proteoglicanos heparán sulfato mantienen inmovilizados atrayentes quimiotácticos denominados *quimioquinas* (v. Capítulo 24) en la superficie del endotelio vascular próximo al lugar inflamado. De esta manera, las quimioquinas se mantienen en esa posición durante largos períodos de tiempo, estimulando la migración de los leucocitos desde la sangre hacia el tejido inflamado.

Figura 19-40 Ejemplos de un proteoglicano pequeño (decorina) y uno de gran tamaño (agrecano) que pueden localizarse en la matriz extracelular.

Se han comparado con una glucoproteína típica de secreción, la ribonucleasa B pancreática. Los tres están dibujados a escala. Las proteínas centrales del agrecano y de la decorina tienen cadenas de oligosacáridos y cadenas de GAG, pero éstas no se representan en la figura. El agrecano está constituido típicamente por unas 100 cadenas de condroitín sulfato y unas 30 cadenas de queratán sulfato unidas a una proteína central rica en serina de aproximadamente 3000 aminoácidos. La decorina "decora" la superficie de las fibrillas de colágena, de ahí su nombre.

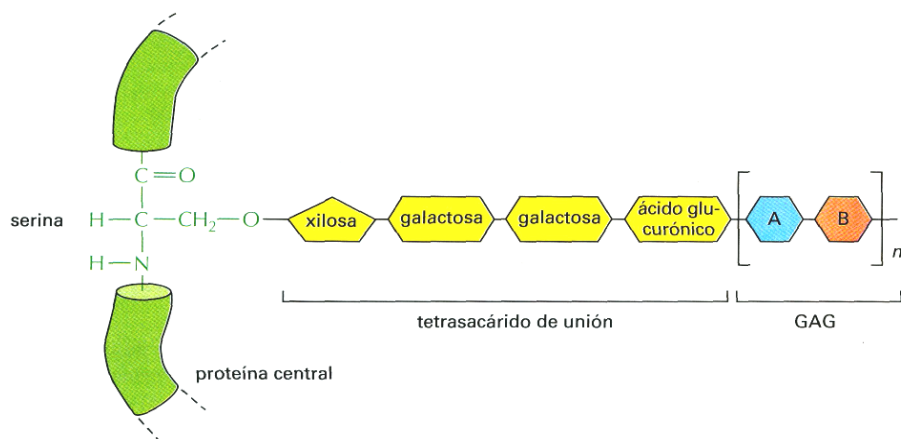


Figura 19-39 Unión de una cadena de GAG a la proteína central de una molécula de proteoglicano. En primer lugar se establece un enlace específico entre un tetrasacárido y un residuo de serina. En la mayoría de los casos no está claro cómo se selecciona el residuo de serina, pero parece que es más importante la conformación local de la proteína que una determinada secuencia de aminoácidos. A continuación se sintetiza el resto de la cadena de GAG, constituida principalmente por la repetición de un disacárido, que se va añadiendo resto a resto. En los condroitín sulfatos, el disacárido está compuesto por ácido o-glucurónico y N-acetil-o-galactosamina; en los heparán sulfatos es D-glucosamina (o ácido L-idurónico) y N-acetil-D-glucosamina; en el queratán sulfato es o-galactosa y N-acetil-D-glucosamina.

las por el que las células pueden migrar fácilmente. Ello sucede en la formación del corazón, la córnea y otros órganos. Cuando finaliza la migración celular, su exceso es degradado por la *hialuronidasa*. Este ácido se sintetiza en grandes cantidades durante la cicatrización y también es un constituyente importante de los fluidos articulares, donde actúa como un lubricante.

Muchas de las funciones del ácido hialurónico dependen de las interacciones específicas que establece con otras moléculas, entre las que se encuentran proteínas y proteoglicanos. Algunas de estas moléculas son constituyentes habituales de la matriz extracelular, mientras que otras son componentes integrales de la superficie celular.

Los proteoglicanos están compuestos por cadenas de GAG unidas covalentemente a una proteína central

Salvo el ácido hialurónico, los demás GAG están unidos covalentemente a una proteína, constituyendo **proteoglicanos**, sintetizados por la mayoría de células animales. La cadena polipeptídica de los proteoglicanos o *proteína central* es sintetizada por ribosomas unidos a membrana, acumulándose en la luz del retículo endoplasmático; la unión de las cadenas de polisacárido a la proteína central tiene lugar sobre todo en el complejo de Golgi. Primero, se une un *tetrasacárido de unión* específico a un resto de serina de la proteína central, el cual actúa como un cebador del crecimiento de la cadena de polisacárido y luego se añaden uno a uno los residuos glucídicos mediante glucosiltransferasas específicas (Fig. 19-39). Mientras permanece en el complejo de Golgi, muchos de sus residuos glucídicos son modificados covalentemente mediante una serie de reacciones secuenciales y coordinadas. Así, mediante epimerización se altera la configuración de los sustituyentes en torno a determinados átomos de carbono de la molécula glucídica, y mediante sulfatación se incrementa la carga negativa.

En general, los proteoglicanos se diferencian fácilmente de otras glucoproteínas por la naturaleza, la cantidad y la organización de sus cadenas glucídicas laterales de las que, por definición, al menos una ellas ha de ser un GAG. Las glucoproteínas contienen entre un 1% y un 60% en peso de carbohidratos en forma de numerosas cadenas ramificadas de oligosacáridos relativamente cortas, mientras que los proteoglicanos contienen hasta un 95%, generalmente en forma de una larga cadena de GAG no ramificada, formada por unos 80 residuos glucídicos. Como ejemplo, el proteoglicano *agrecano*, componente principal del cartílago, tiene una masa de alrededor de 3×10^6 daltons y está compuesto por más de 100 cadenas de GAG. Sin embargo, otros proteoglicanos son mucho más pequeños, teniendo tan sólo de 1 a 10 cadenas de GAG, como la *decorina*, que es secretada por los fibroblastos y tiene una sola cadena de GAG (Fig. 19-40).

En principio, los proteoglicanos poseen una heterogeneidad potencial casi ilimitada. Cada tipo de proteína central varía mucho en cuanto al número y al tipo de cadenas de GAG que se unen a ella. Además, en cada GAG el patrón repetitivo de los disacáridos puede ser modificado por una compleja distribución de grupos sulfato. La heterogeneidad de estos GAG dificulta la identificación y clasificación de los proteoglicanos en función de sus azúcares. Las secuencias de muchas proteínas centrales han sido determinadas mediante técnicas de DNA recombinante, observándose que

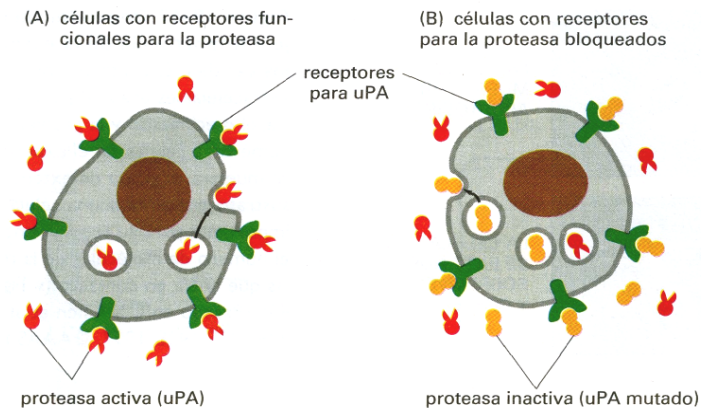


Figura 19-63 La importancia que tiene el hecho de que las proteasas estén unidas a un receptor de la superficie celular. (A) Las células cancerosas de próstata humana sintetizan y secretan uPA, una serina proteasa que se une a receptores proteicos específicos localizados en la superficie celular. (B) Las mismas células han sido transfectadas con DNA que sobreexpresa una forma inactiva de uPA, la cual se une a los receptores e impide que la proteasa activa se una a la superficie celular. Ambos tipos de células secretan uPA activo, crecen rápidamente y producen tumores cuando son inyectados en animales experimentales. Sin embargo, las células de (A) provocan una metástasis general, mientras que esto no sucede con las células (B). Para poder metastatizar por vía sanguínea, las células tumorales han de migrar a través de la lámina basal y de otras matrices extracelulares que van encontrándose dentro o fuera de la sangre. Por tanto este experimento sugiere que, para poder facilitar la migración a través de la matriz, las proteasas han de estar unidas a la superficie celular.

minógeno, un precursor inactivo muy abundante en el plasma sanguíneo. Es escindido localmente por proteasas (*activadores del plasminógeno*), dando lugar a la serina proteasa *plasmina*, la cual ayuda a disolver los coágulos sanguíneos. El *activador del plasminógeno de tipo tisular (tPA)* es administrado a pacientes que acaban de sufrir un infarto cardíaco o un proceso trombótico, facilitando la disolución del coágulo arterial para restaurar el flujo sanguíneo.

Confinamiento por receptores de la superficie celular: muchas células disponen de receptores que reconocen las proteasas, de manera que las enzimas se pueden confinar en los lugares que son necesarias. Un buen ejemplo es el *activador del plasminógeno de tipo uroquinasa (uPA)*. Se encuentra unido a su receptor en el extremo en crecimiento del axón o en el frente de avance de algunas células migratorias, donde actúa en la abertura de la vía de migración. El uPA unido a su receptor también favorece la metástasis de algunas células cancerosas (Fig. 19-63).

Secreción de inhibidores: la actividad de las proteasas puede ser confinada a determinadas áreas mediante la secreción de inhibidores, como los *inhibidores tisulares de metaloproteasas (TIMP)* y las *serpinas* (inhibidores de serinas proteasa). Estos inhibidores son específicos de determinadas proteasas y se unen fuertemente a la enzima activa bloqueando su actividad. Una idea atractiva es que los inhibidores sean secretados por células situadas en la periferia de las áreas de degradación activa con el fin de proteger aquellas regiones de la matriz que no se encuentran implicadas directamente. Asimismo, estos inhibidores también pueden proteger aquellas proteínas de superficie celular que sean necesarias para la adhesión o la migración. La sobreexpresión de TIMP inhibe la migración de algunos tipos celulares.

Resumen

Las células del tejido conjuntivo se hallan embebidas en una matriz extracelular, la cual las une e influye en su desarrollo, su polaridad y su comportamiento. Contiene diversas proteínas fibrilares intercaladas en el interior de un gel hidratado compuesto por una red de cadenas de glucosamínoglucanos (GAG).

Los GAG son un grupo heterogéneo de largas cadenas de polisacáridos cargados negativamente, los cuales (salvo el ácido hialurónico) se unen covalentemente a una proteína dando lugar a moléculas de proteoglucanos. Éstos ocupan un gran volumen y forman geles hidratados en el espacio extracelular. También están presentes en la superficie celular, donde desempeñan funciones de correceptores facilitando la respuesta celular frente a señales proteicas solubles.

Las proteínas fardadoras de fibras estiran la matriz y le dan forma. También proporcionan superficies a las que las células se puedan adherir. Las moléculas de elastina forman una extensa red de fibras y láminas con capacidad para estirarse y retraerse, dando elasticidad a la matriz. Las colágenas fibrilares (tipos I, II, III, V, XI) están formadas por trímeros helicoidales que se agregan formando largas fibrillas en el espacio extracelular. A su vez, estas fibrillas pueden ensamblarse formando diversas matrices muy ordenadas. Las moléculas de colágena asociadas a fibras, como los tipos IX, XII, decoran la superficie de las fibras de colágena e influyen en las interacciones que establecen las fibras entre, sí y con otros componentes de la matriz.