

145



FRANÇO FERRARI

LA CELULA VIVA



EDITORIAL UNIVERSITARIA DE BUENOS AIRES

1111-1 2011/9.50



24-4

LA CELULA VIVA

5 CUADERNOS DE EUDEBA

LA CELULA VIVA

Henri Firket



EUDEBA Editorial Universitaria de Buenos Aires

lo de la obra original:  
*cellule vivante*  
des Universitaires de France, Paris, 1962

ducida de la segunda edición actualizada (1964) por  
ALTER A. RAVANELLI

revisión técnica estuvo a cargo de  
ERSCH GERSCHENFELD,  
esor de la Universidad de Buenos Aires

imera edición: diciembre de 1965  
gunda edición: 1967 de 1967

© 1965  
Editorial Universitaria de Buenos Aires - Rivadavia, 1571/73  
Fundada por la Universidad de Buenos Aires  
Hecho el depósito de ley  
IMPRESO EN LA ARGENTINA - PRINTED IN ARGENTINA

## INTRODUCCIÓN

Los seres vivos se caracterizan, entre otras cosas, por una organización o, mejor aún, por toda una jerarquía de organizaciones complejas: en sus moléculas, los átomos son generalmente numerosos y su disposición espacial es complicada. Tales moléculas no están repartidas al azar como por ejemplo en un líquido, sino que muchas de ellas forman estructuras submicroscópicas cuyo detalle se ha llegado a conocer hace algunos años gracias al microscopio electrónico. Estas estructuras, a su vez, se ordenan, según esquemas precisos, en orgánoides (elementos) intracelulares, los que pueden verse mediante un microscopio óptico. Éstos, por su parte, se integran para formar células, obedeciendo a planes bien simples. Así también las células del mismo tipo se agrupan —en la mayor parte de las especies— en tejidos. Varios tejidos diferentes forman órganos, asociados para constituir individuos armónicos.

La *célula* es una de las estructuras esenciales de esta serie de categorías crecientes. En efecto, ella representa la *mínima porción de materia viva que puede vivir completamente aislada y, en particular, que es capaz de reproducirse en forma indefinida*. Su estudio nos permitirá precisar cuál es el mínimo de organización y de mecanismos integrados necesarios para la vida. La célula constituye al mismo tiempo una curiosa transición. Los elementos más pequeños son muy parecidos en todos los seres vivos: muchas moléculas y mecanismos químicos son idénticos en la levadura de cerveza y en el

umano; la estructura de las mitocondrias y la membrana nuclear es muy semejante en la cebolla y la rata. Por el contrario, la organización de los tejidos y la anatomía de los órganos se diversifican según las especies o las variedades. Aunque su configuración general y los elementos constitutivos sean semejantes, las células tienen formas y funciones muy variadas. En la vida construye seres extremadamente complejos. En este aspecto, la célula constituye un campo de partida rico en posibilidades.

Muchas disciplinas biológicas se apoyan en la célula. El problema esencial de la embriología es explicar cómo, por divisiones sucesivas y diferenciación, la célula-huevo da origen a las células de los órganos especializados del adulto. El estudio de la herencia se halla también estrechamente vinculado al de esta unidad viviente; ciertos caracteres hereditarios se vinculan con ella directamente, y cada uno transmite a su descendencia determinadas conformaciones genéticas que determinan los caracteres distintivos del individuo del que forma parte.

Muchos de los procesos patológicos comienzan por alteraciones celulares. En fin, no se pueden comprender numerosos aspectos de la química de los seres vivos sin conocer la disposición espacial de las diversas moléculas en el interior de las células. Independientemente de su interés intrínseco, el estudio de la célula viviente o *citología* ha llegado a ser una especie de plataforma a la que se agregan, de una manera u otra, muchos de los problemas que provocan la curiosidad de los biólogos, ya sean fisiólogos o embriólogos, bioquímicos o genetistas, médicos o químicos.

## CAPITULO I

### HISTORIA DE LA CITOLOGÍA LA TEORÍA CELULAR

Fue un pariente del pintor Vermeer, el admirable microscopista Anton Van Leervernhock (1632-1723), mercader holandés de Delft, quien observó células vivas por primera vez: hematíes de peces, protozoarios, fibras musculares, microbios. Sin embargo, ni él ni sus contemporáneos comprendieron el significado de tales observaciones. El estudio científico de la célula no se inicia hasta los comienzos del siglo XIX, cuando los microscopios llegan a ser instrumentos útiles para la investigación gracias a la eliminación de la aberración cromática y al perfeccionamiento de los métodos de pulimento de las lentes.

En pocos decenios se desarrolla entonces la *teoría celular*, una de las generalizaciones más fructíferas del pensamiento biológico.

En primer lugar se descubrió que todos los tejidos vegetales están formados por pequeñas celdillas, por células<sup>1</sup> yuxtapuestas, reunidas a veces en inmensas cantidades (Brisseau-Mirbel, 1808; Turpin, 1826; Meyen, 1830, etc.). Por otra parte, se vio poco a poco que el contenido de las células tiene tanta importancia como las paredes, e inclusive mayor que ellas. Robert Brown describió una pequeña vesícula más refringente, presente en cada célula de

<sup>1</sup> La palabra *célula* había sido introducida en biolo-

idea, y demostró que este núcleo es un elemento constante (1833). Casi al mismo tiempo, Félix Dujardin se dedicaba a observar en los protozoarios una sustancia viva exterior al núcleo; la llamó *sarcocolla* (nuestro actual *citoplasma*), y descubrió ingenientemente sus propiedades principales (1835). En los animales, las células no tienen una pared bien definida, como en los vegetales, y sus límites son generalmente más difíciles de señalar. Así, las primeras comparaciones hechas entre tejidos vegetales y animales parecieron poco convincentes, a pesar de su carácter profético (Dutrochet, 1824).

En espíritu genial y austero, Teodoro Schwann, inspirado en parte en el botánico Schleiden, estableció de manera irrefutable la relación existente entre ambas clases de células. En ocasión de un discurso en Berlín, en 1837, Schleiden describió con entusiasmo la unidad básica del mundo vegetal: la célula, con su núcleo que sirve para su reproducción. Schwann, que se hallaba a la sazón estudiando con el microscopio los tejidos animales, se dio cuenta de pronto de que tal idea era de aplicación aún más general. En ciertos tejidos animales, en efecto (cármago, por ejemplo), se distinguen muy bien las células separadas, que contienen cada una un núcleo rodeado, más refringente. Schwann logró demostrar claramente que otros tejidos animales, adultos o embrionarios, están constituidos de manera idéntica. Así nació la teoría celular, cuyos comienzos se encuentran en un artículo de Schleiden (1838) y sobre todo en el libro de Schwann *Recherches microscopiques sur la concordance dans la structure et dans la croissance des Animaux et des Plantes* (Investigaciones microscópicas acerca de la coincidencia en la es-

tructurará y el crecimiento de los animales y los vegetales) (1839).

Posteriormente se han discutido mucho los méritos de Schwann y sobre todo los de Schleiden,<sup>2</sup> y se ha sacado a luz la obra de sus precursores. Sin embargo, fueron ellos los primeros en demostrar que tanto vegetales como animales están formados exclusivamente por células y por sustancias producidas por ellas.

Los vegetales —dice Schleiden— son agregados de seres completamente individualizados, independientes y distintos, que son las células mismas. Cada célula tiene una doble existencia; una de ellas particular, que corresponde a su propio desarrollo; ocasional la otra, como parte del vegetal. Schwann, por su parte, escribe: El problema de las propiedades fundamentales de los cuerpos organizados se reduce al de las propiedades individuales de las células... Estos fenómenos pueden reducirse a dos categorías generales. En primer lugar, los que consisten en combinaciones de moléculas que determinan la construcción del cuerpo de la célula. Se los puede denominar fenómenos plásticos. En segundo lugar, los que consisten en transformaciones químicas localizadas (...) en las partículas que constituyen el cuerpo de la célula... Se pueden denominar a estos últimos fenómenos *metabólicos*.

Esta última cita de Schwann es aún más notable porque durante casi un siglo se insistió sobre todo en los fenómenos plásticos (que constituyen lo que nosotros llamamos la morfología) de la célula. Solo desde hace unos treinta años el metabolismo celular ocupa el primer plano en la atención de los investigadores. Además, los fenómenos plásticos y los metabólicos están íntimamente relacionados.

La noción clara que Schwann tenía del carácter y de la universalidad de las células fue una genial anticipación, ya que permitió inclusive dilucidar numerosas irregularidades o excepciones aparentes a su teoría celular. Ésta fue poco a poco extendida a los protozoarios, seres vivos formados por una sola célula, a veces notablemente

<sup>2</sup> Cuyo carácter personal debía de ser, en parte, la causa de la antipatía general que lo rodeó.

y compleja (Von Siebold, 1845); luego a los elementos formados por la reunión de muchas células, y posiblemente a las células nerviosas y a los nervios (teoría neurona, Koelliker, 1889). En 1938, o sea exactamente lo después del nacimiento de esta teoría, se agrega última generalización: Dubos descubre núcleos en crotobios, lo que muestra que son células comparables de los animales o vegetales.

Sin embargo, ni Schleiden ni Schwann tuvieron ideas exactas acerca de las partes constitutivas de las células —hablaban sobre todo del núcleo y de la membrana— y se equivocaron sobre todo al tratar su modo de reproducción. Schwann, por ejemplo, creía que las células animales se formaban dentro de una masa indiferenciada, el citoplasma. En la segunda mitad del siglo XIX se comenzaron a corregir sus puntos de vista. En 1852 y 1855 Remak demostró, mediante un paciente anafitico, que “toda célula animal nace de células emparentadas por divisiones sucesivas”. Rechazó la noción de citoplastema de Schwann, destacando que la misma implicaba una especie de generación espontánea. Estas ideas fueron tenazmente defendidas por el imperioso Virchow, que las extendió a los casos patológicos (1855), empleando un lenguaje violento para atacar la idea de la generación espontánea de las células, que es “o herejía pura, u obra del diablo”.<sup>3</sup> Lanzó un aforismo que lo resume todo: *omnis cellula e cellula*.\*

Por otra parte, Schültze demostró el enorme aumento del sarcoda de los protozoarios descrito por Huxford y la materia que rodea al núcleo en las células de los vegetales y animales pluricelulares.

<sup>3</sup> Fundamentalmente tenía razón, aunque resulte curioso este tipo de argumentación que carece, bien entendido, de valor científico. Una bióloga rusa —que creía inspirarse en el marxismo— defendió, hace algunos años, una opinión absolutamente opuesta, afirmando una generación espontánea de las células en determinadas circunstancias. Extrañamente, su teoría se aproxima a la de Schwann, quien era tradicionalista.

\* “Toda célula proviene de otra célula”. (N. del T.)

Esta sustancia, llamada entonces protoplasma fue considerada como la materia viva por excelencia,<sup>4</sup> la base física de la vida, y se definió en consecuencia la célula como “una pequeña masa de protoplasma provista de núcleo” (1861). Si bien esta concepción tenía la ventaja de atraer la atención hacia la parte de la célula exterior al núcleo, la atmósfera casi mística de que se la rodeaba retardó su estudio sobre verdaderas bases físicas y químicas.

Hacia fines del siglo XIX, las técnicas de la citología descriptiva se estandarizaron y los microscopios alcanzaron el límite teórico de sus posibilidades. En esta época se sitúa el descubrimiento de la mayor parte de los organoides intracelulares de los que hablaremos en este libro: mitocondrias, plástidos, aparato de Golgi, centro celular, etc., así como el descubrimiento del sistema de división celular, ese asombroso mecanismo que es la mitosis (Strasburger, 1875; Fleming, 1878/83).

El descubrimiento de la mitosis y, algunos años después, el de la meiosis, división particular que precede a la formación de los espermatozoides y de los óvulos (Van Beneden, 1883), aportaron las nociones necesarias para el estudio provechoso de los problemas de la herencia (a partir de 1900). Desde 1902, Sutton señaló la identidad del comportamiento de los cromosomas observados por los citólogos y de los ‘factores’ (llamados después “genes”) postulados por los genetistas. Desde entonces, la asociación entre la citología y la genética se hizo cada vez más estrecha y fecunda.

Mientras tanto, con una técnica citológica completa y estandarizada, que incluía siempre la misma serie de manipulaciones (fijación, deshidratación, inclusión, corte, rehidratación, coloración, montaje, cada una de las cuales requería tiempos diversos), se obtenían imágenes muy claras de una especie de momia de la célula admirablemente conservada. Tal técnica traía consigo una

<sup>4</sup> El vocablo “protoplasma” proviene de la teología, en la que servía para designar a Adán, el primer hombre.

ación demasiado exclusiva por la forma, útil solo para ciertos problemas de genética y de morfología de los tejidos. Es necesario, sin embargo, no subestimar esta técnica, que continúa prestando grandes servicios, pero, mientras se la utilice sola, su misma naturaleza excluye casi completamente la posibilidad de observar los fenómenos metabólicos, cuya importancia ya había subrayado. Este hecho separó durante mucho tiempo a la citología de las otras ramas de la biología.

A pesar de ello, el cultivo de tejidos, perfeccionado por Harrison (1907) y sobre todo por el minucioso ingenio de Carrel (1908/12), vino pronto a desmenuzar la contingencia de buen número de detalles. En el cultivo, el aspecto de las células cambió según las condiciones y la intensidad del metabolismo. Este método reintrodujo el interés por las variaciones fisiológicas en el estudio de las células y demostró el interés que tenía el observarlas.

Las técnicas aplicables a la célula viva eran, al principio de este siglo, poco numerosas y de posibilidades limitadas. Los trabajos de Jolly (1903) sobre los leucocitos de los anfibios, los *films* de Compton (a partir de 1913), de Lewis, de Canti, las técnicas de microdissección de Chambers (1922), y los resultados que continúan siendo fundamen-

tales en la citología se vio revolucionada por la introducción en ella de las preocupaciones químicas. A partir de 1935, los citólogos se interesaron, salvo excepciones, poco o mal de la composición química de las estructuras que estudiaban y, por otro lado, los bioquímicos eran indiferentes a la localización intracelular de las sustancias que aislaban. Algunos años después, un ejemplo notable iba a mostrar la importancia de estos problemas. Los ácidos nucleicos eran considerados como grandes moléculas de dos tipos distintos, de papel mal definido, presentes en los organismos vivos. Métodos de aislamiento poco eficaces y técnicas demasiado groseras habían atribuido el tipo de ácido al mundo animal y otro al vegetal. Los resultados que se iban acumulando volvían cada vez menos satisfactoria. En

1940-41, Brachet y Caspersson demostraron, independientemente, que lo importante era la diferencia de localización en el interior de la célula de estas sustancias, presentes ambas en los vegetales y los animales. Uno de los ácidos, el desoxirribonucleico (que primero se extrajo sobre todo del timo de los mamíferos jóvenes), se encuentra en todos los núcleos celulares, y exclusivamente en éstos. El otro, el ácido ribonucleico (extraído primero de la levadura), se encuentra en los citoplasmas y también en los núcleos, pero repartido de manera diferente. Teniendo en cuenta estas diferentes localizaciones, una fructífera hipótesis acerca del papel biológico de estas sustancias reorientó una gran parte de las investigaciones sobre la síntesis de las proteínas. Ambos ácidos nucleicos hicieron, después de esto, una brillante carrera, como lo demostrarán muchos capítulos de este libro.

A partir de este momento, la distribución intracelular de las sustancias de interés bioquímico esencial se convierte en objeto fundamental de preocupación, para el cual se desarrollan ingeniosos métodos de aislamiento (principalmente el fraccionamiento por centrifugación). Nuevos métodos ópticos (microscopio de contraste de fase, etc.) tornan mucho más accesible la observación de la propia célula viva (especialmente después de 1946/47). Algunos años más tarde, habiendo superado enormes dificultades técnicas (1952), el microscopio electrónico aumenta prodigiosamente el campo de investigación del citólogo: el límite de resolución pasa de 0,2 micrones.<sup>5</sup> a dimensiones más pequeñas.

Este instrumento permite estudiar la materia viviente en un nivel de organización intermedio entre el de las células y el de las moléculas químicas. Poco a poco, nuestras nociones acerca de las estruc-

<sup>5</sup> 1 micrón =  $\mu$  = 0,001 mm.

as morfológicas se traducen también en términos agrupamiento y organización moleculares.

Tales métodos nuevos han visto la luz hace más de 15 años. Sus frutos son inmensos y continúan surgiéndose. Nuestra imagen de la célula ha sufrido una revolución.

## CAPÍTULO II

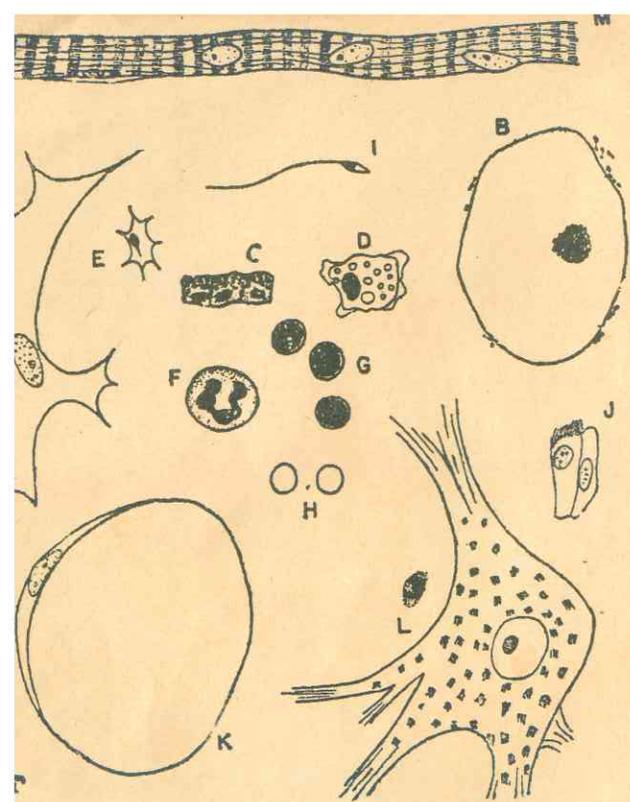
### ESTRUCTURA FUNDAMENTAL DE LAS CÉLULAS COMPOSICIÓN QUÍMICA

Si comparamos el aspecto de diversas células al microscopio, estaremos, a primera vista, bien lejos de encontrar lo que tienen esencialmente de común. Su tamaño, su forma, los detalles más evidentes, todo parecerá diferente.

#### I. Tamaño y estructura de las células

Las bacterias más pequeñas no tienen más de  $1\mu$  de diámetro. Las células más grandes son los huevos de aves (8 cm para la yema, la célula-huevo, del avestruz). Estos casos son extremos, sin duda, y la gran mayoría posee dimensiones del orden de 10 a  $100\mu$ , aunque algunos organismos unicelulares sobrepasen el centímetro. Digamos, de paso, que las células de los animales grandes no son más voluminosas que la de los pequeños: <sup>1</sup> no es más fácil estudiarlas en el elefante que en el ratón. Las dimensiones dependen a veces del grupo zoológico; los anfibios, por ejemplo, tienen células más grandes que los mamíferos. En general, el tamaño de las

<sup>1</sup> Hay excepciones. Las fibras nerviosas son células muy alargadas. Cualquiera que sea la talla de los mamíferos, no hay sino dos longitudes sobre un trayecto nervioso desde la corteza cerebral hasta los músculos de las extremidades.



1. Esquemas de algunos tipos de células humanas. Magnitud uniforme 600 X. Se representa solo los detalles más evidentes. A: fibroblasto (célula conjuntiva); B: célula del epitelio vaginal, rodeada de bacterias no patógenas; C: 3 células del epitelio pigmentario de la retina; D: macrófago rodeado de una membrana ondulante, y contiene vacuolas; E: osteocito en una celdilla ósea; F: leucocito polinuclear de la sangre; G: 3 linfocitos de sangre de núcleo proporcionalmente muy grande; H: glóbulos rojos o hematíes anucleados; I: espermatozoide; J: célula de revestimiento de la trompa uterina, una célula ciliada; K: célula adiposa, cuyo centro está ocupado por una enorme gota grasa; L: cuerpo de una célula ciliada —las prolongaciones solo están esbozadas—; M: porción de fibra muscular estriada, multinucleada.

Se represente el tamaño y el aspecto de los núcleos de A, F y L; las inclusiones citoplasmáticas de C (pigmento), (vacuolas), L (ergastoplasma véase página 43 y M (miofibrillas contráctiles), etcétera. (Con permiso, según Deep, *Histology*, Blakiston Div., McGraw Hill Inc., New York, 1954; *Histología*, El Ateneo, Buenos Aires, 1959.)

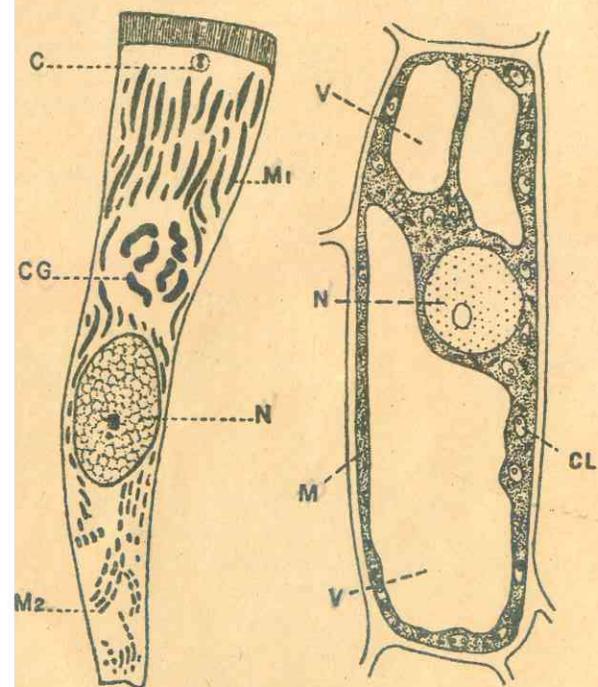
células es característico del tejido al que pertenecen. Otros factores que citaremos más adelante lo hacen variar dentro de ciertos límites (pág. 31).

La figura 1 da una idea de la diversidad de los aspectos exteriores de las células, aun limitándonos a los mamíferos. Su organización interna aparece tan variable como su tamaño y su forma. Desde este punto de vista, las células animales y vegetales se diferencian netamente unas de las otras.

a) *Célula animal.* En una célula animal tipo (fig. 2), una delgada línea exterior limita el *citoplasma*, que rodea completamente al *núcleo* (por lo general central y convexo) y contiene determinados elementos más pequeños, los organoides intracelulares, que se encuentran de manera constante: las *mitocondrias*, dispersadas irregularmente, en general bajo la forma de filamentos o bastoncitos cortos; frecuentemente próximo del núcleo, el *centro celular* está constituido por dos puntos en el límite de la visibilidad, dentro de una estrecha corona de citoplasma transparente; técnicas especiales posteriores a la fijación<sup>2</sup> revelan la presencia del *aparato de Golgi*, conjunto de pequeñas cúpulas en forma de media luna, a veces coronadas por un grano de secreción o una vacuola. A estos elementos constantes pueden agregarse otros, característicos de un tipo celular o de un estado metabólico particular.

b) *Célula vegetal.* A primera vista, una célula vegetal parece muy diferente (fig. 3). Se halla rodeada por una pared más o menos espesa, no viva, semirrígida, formada principalmente de celulosa.

<sup>2</sup> La fijación mata a las células, precipitando las grandes moléculas de proteínas, de lípido y nucleoproteínas, que forman la parte esencial de las estructuras intracelulares. La fijación es buena si no desplaza estas sustancias. Una célula bien fijada conserva un aspecto más próximo al de la normal que la que muere lentamente bajo nuestra mirada. Para todos los tratamientos ulteriores en que se desee conservar la configuración normal, es imprescindible fijar los tejidos.



2. *Célula animal*. Intestino de mamífero. C: centro ar con dos centriolos; CG: complejo de Golgi; M<sub>1</sub>: condrias filamentosas; M<sub>2</sub>: mitocondrias cortas; núcleo con nucleolo. La célula está coronada de un borde absorbente característico del intestino.

3. *Célula vegetal*. Hoja de *Elodea canadensis*. CLs clostos que contienen granos de almidón; M: mitocon-; N: núcleo y nucleolo; V: vacuolas acuosas. La a está rodeada de una pared celulósica. (Según reard, *Cytologie végétale et générale*, Lechevallier, París, 1947.)

En general contiene, en el centro, una *vacuola* acuosa muy grande que empuja a la mayor parte de la masa citoplasmática contra la pared celulósica externa. El núcleo es siempre característico. En el citoplasma volvemos a encontrar mitocondrias, pero nunca aparato de Golgi ni tampoco —en los vegetales superiores— centro celular. Por el contrario, se pueden apreciar *plástidos*, elementos de formas diversas, bastante gruesos, que contienen granos más pequeños y con frecuencia coloreados de verde por clorofilas. Además de estos organoides, se pueden encontrar inclusiones menos constantes: pequeñísimas vacuolas acuosas u oleosas, granos de secreción, pigmentos, cristales, etc.

En realidad, ni la gran vacuola ni la pared celulósica forman parte de la célula viva, aunque de ella deriven. Ambas tienen una función esencial en los vegetales (pág. 71), sin correspondencia en la mayor parte de los animales. Generalizando, se ve que en ambos reinos la célula está formada por un citoplasma que rodea el núcleo y que contiene diversas inclusiones. Las variaciones alrededor de este plan general bien simple pueden ser extremadamente numerosas.

*Excepciones.* En ocasiones, varias células funden su citoplasma en uno solo; en otras, el tabicamiento celular posterior a la división del núcleo no aparece. En este caso, centenares de núcleos pueden estar agrupados o dispersos en un *sincicio* continuo (fibras musculares estriadas, figura 1 M, algas sifonales [siphonales], etc.); parece, sin embargo, que cada núcleo "gobierna" una pequeña porción de citoplasma cuyos límites no son visibles. En otros casos, el núcleo está remplazado por una serie de pequeños granos dispersos en la célula, que contienen las mismas sustancias y ejercen las mismas funciones que el núcleo; es lo que ocurre con las cianofíceas, algas azules bastante primitivas.

Nos encontramos aquí, por primera vez, con excepciones a una regla biológica general. Buen número de las afirmaciones que se encuentran en este libro solo pueden hacerse dejando a un lado tales excepciones. Estaríamos tentados de decir que la existencia de irregularidades es,

que haya paradoja, casi una regla en biología. Si el curso del desarrollo de la ciencia son observadas premente (a veces tales irregularidades tienen una latente tendencia a evidenciarse antes que el caso general), las mismas pueden conducir a falsas interpretaciones. Se convierten, por el contrario, en útiles cuando la reconocido su carácter de excepciones, ya sea consuyendo un material de investigación favorable para el idio de ciertos fenómenos particulares, ya sea obli- do al biólogo a precisar lo que es esencial y lo que contingente en los objetos que estudia. Los ejemplos cedentes ilustran ya este punto.

## II. Interdependencia del núcleo y del citoplasma

La teoría celular proclama que la célula es la s pequeña porción de materia viva que puede ir de manera independiente. Nada lo prueba or que las experiencias de separación del núcleo el citoplasma. La mayor parte de los conoci- ntos adquiridos en este campo han sido obteni- ndo investigando organismos unicelulares y huevos relativamente gran tamaño. Por microdissección, puede expulsar el núcleo de estas células, e inclu- r mudarlo de una a otra.

En primer lugar, diremos que el núcleo aislado una ameba o de un blastómero embrionario, *sto en contacto con el medio exterior* —aunque y brevemente—, sufre inmediatamente da- rreversibles. Tales modificaciones no son por eneral visibles, y su aspecto puede ser casi nor- . Pero cuando se lo reintroduce en el citoplasma na ameba, no ejerce función alguna, y la célula onsidera como un cuerpo extraño y lo expulsa. se conoce ninguna fórmula de "citoplasma arti- l" en el cual tal núcleo podría conservar todas propiedades.

Si bien el núcleo no puede permanecer normal a del citoplasma, éste, generalmente mucho más minoso, no tiene necesidad de aquél sino de una era menos inmediata. Sin embargo, aunque has de sus funciones puedan persistir durante

días, o hasta meses, el citoplasma anucleado está condenado a la degeneración y la muerte.

Una ameba anucleada cambia su tipo de movimien- to en menos de un minuto. El animal se redondea y se desprende de su base de sostén. Sus pseudopodios<sup>3</sup> se acor- tan, evaginándose e invaginándose al azar. Sus despla- zamientos son también mucho más limitados. Su vacuola pulsátil continúa funcionando, pero le es paulatinamente casi imposible cumplir con su función nutricia. A veces, puede todavía ingerir una presa, pero no digerirla. Es incapaz de utilizar sus reservas de glucógeno, como lo hace una ameba nucleada normal desprovista de alimento. Al cabo de unos pocos días, se reducen muchas de sus acti- vidades de síntesis. Se consumen, asimismo, ciertas enzi- mas y su ARN. En cambio, su respiración permanece intacta durante más de ocho días. La ameba en tales con- diciones muere al cabo de 2 semanas a partir de su enu- cleación.

Si se la provee de un núcleo (teniendo mucho cuida- do de que el mismo pase de la ameba dadora a la recep- tora sin tomar contacto con el medio exterior), inclusive varios días después de la enucleación, en pocos segundos se restablecen "dramáticamente" su actividad normal y sus movimientos. El animal puede nuevamente digerir sus presas, dividirse activamente, etc.

Los citoplasmas anucleados de diversas algas parecen conservar más funciones que los de los animales. En la *Spirogyra* continúan los movimientos hialoplásmicos y la fotosíntesis. La *Acetabularia* (enorme especie unicelular cuyas elegantes umbelas pueden verse sobre los fondos menos profundos del Mediterráneo) puede sobrevivir anucleada muchos meses, y hasta es posible la aparición temporaria de una cierta regeneración. Esta especie ha sido muy utilizada, en estos últimos años, para el estudio de las relaciones núcleo-citoplasmáticas. Parece, en efec- to, que su citoplasma acumula reservas de sustancias producidas por el núcleo (sobre todo ARN), lo que retarda los efectos inevitables de la enucleación.

Tales experiencias, que no pueden realizarse sino en células voluminosas, corren el riesgo de darnos una ima- gen relativamente excepcional. La superficie de intercam- bio entre ambas partes de la célula se halla en ellas mucho más reducida por unidad de volumen, que en las

<sup>3</sup> Varios términos descriptivos o químicos de este párrafo serán explicados más adelante. El lector puede contentarse aquí con seguir la idea general de lo ex- puesto.

élulas de tamaño más corriente. Es probable que la acción del núcleo sobre el citoplasma sea menos inmediata que muchas de las funciones citoplasmáticas hayan adquirido una cierta autonomía que no deben tener necesariamente en las células más pequeñas. Esto es, efectivamente, lo que prueba la experiencia. Un fragmento nucleado de citoplasmas de vertebrado superior en cultivo no sobrevive sino desde unas pocas horas hasta una semana, aunque es difícil determinar en qué momento se modifica su metabolismo.

### III. Composición química

La vida normal de la célula es el resultado de la interacción armónica de los organoides intracelulares que más adelante estudiaremos con mayor detalle. Sus funciones son tan especializadas como diferentes sus formas. Tales funciones dependen de la composición química, y sería imposible identificarlas sobre la base de una pura descripción morfológica. En efecto, todos los fenómenos observados en las células se reducen, cuando se trata de analizarlos profundamente, a transformaciones metabólicas de sustancias químicas. No podemos examinar aquí todas las moléculas que se encuentran en los seres vivos. La mayor parte de ellas son relativamente pequeñas, solubles en agua, y se difunden con facilidad. Con frecuencia no sabemos si en las células varía la concentración de esta sustancia de un lugar a otro. Cuatro categorías de moléculas, en general de gran tamaño, forman lo esencial de las estructuras celulares. Son, sobre todo, *proteínas* y *ácidos nucleicos*, así como *lípidos* y *glúcidos*.

A nuestros fines bastará decir que los *lípidos* son grasas y los *glúcidos*, azúcares más o menos polimerizados.<sup>4</sup> Una *proteína* es una enorme molécula formada por la unión, en largas cadenas, de elementos más pequeños llamados aminoácidos, de los que se encuentran en los

<sup>4</sup> Se dice que un cuerpo químico está 'polimerizado' cuando está formado por una molécula más pequeña y simple que se repite un gran número de veces.

ácido fosfórico — azúcar — base púrica o pirimídica

Los nucleótidos se unen entre sí por intermedio de su ácido fosfórico o de su azúcar.

Hay dos grandes categorías de ácidos nucleicos: el ácido desoxirribonucleico, designado por la sigla ADN, y el ácido ribonucleico, o ARN. El cuadro de la pág. 24 da esquemáticamente sus caracteres diferenciales más elementales. Cada uno contiene cuatro clases de bases, de las cuales tres son comunes a los dos tipos. Se diferencian esencialmente por su azúcar y por una base pirimídica. Tienen localizaciones y funciones diferentes en la célula.

La secuencia de las bases en los nucleótidos sucesivos tiene —como la de los aminoácidos para las proteínas— una gran importancia, y existen en consecuencia, muchas

seres vivos aproximadamente 20 especies diferentes. Las propiedades de las diversas proteínas están determinadas por las de los aminoácidos que contienen y el orden en que se encuentran colocados. Se puede comparar, desde este punto de vista, a estas inmensas moléculas con las palabras que formamos con las letras del alfabeto. El sentido de tales palabras depende a la vez de las letras que las compongan y del orden en que se hallen. A diferencia de las palabras, que rara vez pasan de las 15 ó 20 letras, la mayor parte de estas sustancias contienen varios centenares de aminoácidos. Se ha demostrado que una modificación que actúe sobre uno solo de ellos puede modificar completamente las propiedades de una proteína. Sin embargo, es una tarea tan ardua el establecer el orden exacto de ubicación de los aminoácidos, que no ha podido ser llevada sino en un pequeño número de casos bien simples. Los caracteres de las proteínas son notablemente variados. Algunas son solubles, como las de la clara de huevo; otras, completamente insolubles como la seda. Muchas de ellas son *enzimas* (fermentos), que aceleran en enormes proporciones ciertas reacciones químicas. Entre otras cosas, es esta aceleración la que permite a las células la producción de las complicadas moléculas que caracterizan la vida: sin tal aceleración, la mayor parte de las reacciones son tan lentas que prácticamente su efecto es inobservable. No se podrían imaginar los seres vivos sin la presencia de las enzimas.

Los *ácidos nucleicos* son también enormes moléculas formadas por la repetición de un gran número de elementos similares. Cada elemento o nucleótido está formado de tres moléculas simples:

moléculas diferentes de ADN o de ARN en la misma célula.

C U A D R O

|                       | ácido desoxirribonucleico<br>ADN                      | ácido ribonucleico<br>ARN           |
|-----------------------|---|-------------------------------------|
| azúcar .....          | Desoxirribosa   | d-ribosa                            |
| bases .....           | Adenina, guanina, citosina, timina más o menos 15.000 | Adenina, guanina, citosina, uracilo |
| número de nucleótidos |   | 50 a 1.000                          |

Para comprender la célula viva, comenzaremos a analizar sus elementos constitutivos, describiendo su forma, su composición particular y lo que sabe de su papel. Luego de este análisis, intentaremos una síntesis describiendo la célula integrada, y las partes funcionan todas evidentemente, en esta coordinación. De paso, trataremos una de las funciones más importantes de las células y una de las más características de la materia viviente: su reproducción.



CAPÍTULO III

EL NÚCLEO

El núcleo es la estructura intracelular que fue identificada primero. Es también la más universal y, probablemente, la más importante. No se origina nunca a expensas del citoplasma, sino de otro núcleo. En el momento de la división celular sufre modificaciones considerables y se reduce esencialmente a muchos filamentos, llamados *cromosomas*, cuyo número y forma son característicos de cada especie. Los cromosomas se reparten en dos grupos idénticos, uno para cada célula hija, y reconstituyen un núcleo. Los detalles de este proceso, llamado *mitosis*, son tan dignos de ser destacados, tan complicados y tan importantes para la célula que les consagramos todo un capítulo (capítulo VI).

La mayor parte de las células no tienen más que un solo núcleo. Aunque a veces presenta la forma de herradura o es polilobulado, especialmente en las células que se deforman con rapidez (leucocito neutrófilo) (fig. 1, F), en la inmensa mayoría de los casos el núcleo es elipsoidal o esférico. En todos los casos, está completamente rodeado de citoplasma.

Observamos un núcleo vivo por medio de un microscopio de contraste de fase <sup>1</sup> (fig. 4). Está ro-

<sup>1</sup> Este microscopio aumenta, por un artificio óptico, el contraste entre objetos cuyos índices de refracción son muy vecinos y que no serían visibles nítidamente en un microscopio común. Tal es el caso de casi todas las estructuras intracelulares.

deado de una *membrana nuclear*, delgada pero nítida, que lo separa del citoplasma. El interior del núcleo contiene generalmente una o dos masas den-

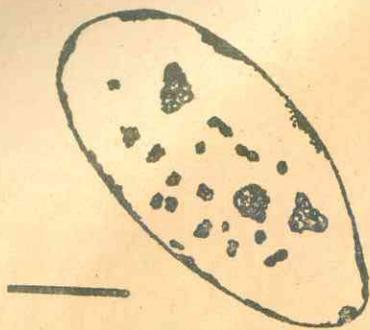


Fig. 4. Núcleo "in vivo". Célula conjuntiva de tritón —batación urodelo semejante a la salamandra— en cultivo. Se ven 3 nucleolos y muchas masas de heterocromatina. El resto se ha representado el citoplasma. El trazo negro corresponde a una longitud de 10  $\mu$ . (Según una foto de Boss, *Exp. Cell. Res.*, 7, 215, 1954.)

s, muy refringentes: el o los *nucleolos*. Además de éstos, existen algunas masas irregulares de *heterocromatina* (o *nucleolos nucleínicos*) dispersas en un medio ópticamente homogéneo. Estas masas de *heterocromatina* constituyen la porción más condensada de la *cromatina*, difusa en todo el resto del núcleo.

Aunque el ojo no pueda percibirlo, mediante tomas cinematográficas muy aceleradas se ha demostrado que un núcleo esférico de toda una serie de células (nerviosas, epiteliales) rota muy lentamente sobre sí mismo dentro del citoplasma. Estos movimientos son irregulares. Un núcleo da, por ejemplo, dos o tres rotaciones en un sentido, lo que dura alrededor de una media hora, se detiene unos minutos, da prácticamente una rotación en el otro sentido, y así sucesivamente. Esto sugiere la existencia de intercambios complejos con el citoplasma, variable de un núcleo a otro.

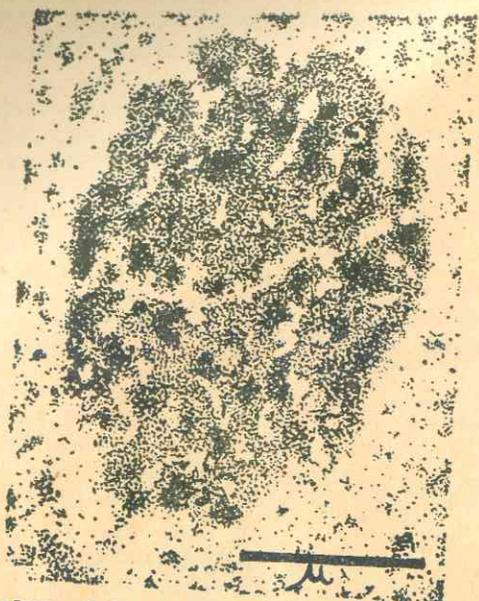
## I. Los nucleolos

Casi todos los núcleos poseen uno o varios nucleolos, siempre muy visibles, ya que constituyen la porción más refringente de la célula. Algunos son esféricos, otros cambian de forma, como se puede apreciar en fotos sucesivas de la misma célula viva, tomadas con algunos minutos de intervalo (fig. 15). A veces se aproximan a la membrana nuclear, entrando en contacto con ella mediante una prolongación, alejándose luego nuevamente. Tales movimientos son signos de su intensa actividad. Su mayor refringencia se debe al hecho de que contienen poca agua. Se ha calculado que su concentración en materia seca puede llegar de 40 a 80%, cifra extraordinariamente elevada. La célula total, en efecto, no contiene sino de 10 a 25% de materia seca, siendo agua el resto.

En los nucleolos existe ácido ribonucleico (ARN) en una concentración por lo general relativamente considerable (3 a 7%). Debido a toda una serie de circunstancias, el nucleolo puede perder más o menos su ARN, y se ve entonces que éste es absorbido por un elemento más permanente, proteico, el *nucleolonema*. La estructura en esponja o en filamento apelonado del nucleolonema se ve claramente con el microscopio electrónico (fig. 5). El nucleolonema contiene ácido ribonucleico en forma de granos de 15 a 18  $m\mu^2$  de diámetro y también otro ARN filamentosos, más fino. Los nucleolos se hallan rodeados de una costra de cromatina que puede penetrar en su interior por hendiduras profundas: es la *cromatina asociada* al nucleolo.

La actividad de los nucleolos y la labilidad de sus ARN están bien demostradas por la velocidad de renovación de estas moléculas.

<sup>2</sup> El milimicrón o  $m\mu$  = 0,001  $\mu$  = 10 Angstroms.



5. Nucleolo visto con el microscopio electrónico. Corte rafino. Aspecto en esponja del nucleolonema. El trazo horizontal corresponde a 1  $\mu$ . (Según Bernhard y colab., *Exp. Cell. Res.*, 9, 88, 1955.)

Esta renovación puede estudiarse mediante la incorporación de precursores marcados: se provee a las células una sustancia de la cual se sirven normalmente para sintetizar el constituyente que se quiere estudiar, pero reemplazando previamente esta pequeña molécula mediante el remplazo de uno de sus átomos por medio de un isótopo radiactivo. Las células no pueden distinguir entre la sustancia marcada y la que habitualmente utilizan e incorporan esta última a las grandes moléculas que sintetizan, las que, a su vez, se vuelven radiactivas. Se puede medir la radiactividad obtenida después de haber aislado químicamente los constituyentes que se desean estudiar o localizarla por autorradiografía.<sup>3</sup>

Después de fijarlas, se ponen las células en contacto con una emulsión fotográfica que solo será impresionada únicamente en los lugares donde la radiactividad

Si se provee a las células, durante algunos minutos, de un precursor de los ARN (uridina marcada, por ejemplo, un compuesto de uracilo y ribosa, ver fig. 24), el ennegrecimiento del *film* radioautográfico es más intenso a nivel de los nucleolos y la mayor radiactividad se encontrará en el ARN que se aísla. La síntesis de esta sustancia es, pues, rápida, y como su cantidad total no aumenta continuamente, debe admitirse que ha desaparecido una cantidad igual a la producida. El ARN eliminado no es destruido en el mismo lugar: cuando la célula vive durante varias horas después del contacto con el precursor, se ve disminuir la radiactividad del nucleolo (y del resto del núcleo) y reaparecer en el citoplasma. Hay, pues, un desplazamiento del ARN hacia este último.

Los nucleolos se hallan muy desarrollados en las células donde se realiza una importante síntesis de proteínas y su desarrollo es pobre o inexistente en las que no se produce dicha síntesis. Son grandes en las células glandulares en actividad; faltan en los nuevos en segmentación mientras no hay crecimiento, pero reaparecen justo antes del momento en que los embriones comienzan a crecer y sus proteínas se diversifican. Los movimientos observados en los nucleolos serían un signo visible de su actividad.

## II. La cromatina

La cromatina se encuentra irregularmente repartida en el resto del núcleo. En ciertas células, sobre todo embrionarias, se halla muy dispersa. Otras células de función especializada muestran una buena parte de su cromatina concentrada en

esté presente. Este método permite una localización muy precisa, sobre todo desde que se utiliza el tritio, un isótopo del hidrógeno, como marcador. Ver, por ejemplo, la figura 26.

masas densas de heterocromatina, a menudo ubicadas contra la membrana nuclear. Desgraciadamente, la mayor parte de los métodos de fijación preciptúan esta precipitación en bloques irregulares y la imagen entonces obtenida no corresponde más a la distribución de este material en el núcleo vivo.

Cualquiera que sea su distribución, toda la cromatina se transforma en cromosomas en el momento de la división celular. Su constituyente principal es el ácido desoxirribonucleico o ADN, que está presente en todos los núcleos (o en los cuerpos que lo emplazan) y en ninguna otra parte. Todas las células vivas lo contienen, inclusive las bacterias y algunos virus. Como veremos, es quizá la molécula biológica más importante que existe. Volveremos a esto al hablar de los cromosomas (pág. 111).

El ácido desoxirribonucleico se puede colorear por una reacción química específica, la reacción de Feulgen. Midiendo fotométricamente la intensidad de esta reacción en un núcleo, se puede determinar la concentración del ácido. Combinando con una medida de volumen el valor obtenido, se calcula la cantidad de ADN presente en el núcleo. Este método permitió demostrar que en los tejidos de un organismo adulto en que las células han cesado de dividirse todos los núcleos contienen la misma cantidad de ADN.

Esto significa que los núcleos de los linfocitos humanos, que miden alrededor de  $100 \mu^3$ , tienen tanto ADN como los de las células epidérmicas, cuyo volumen alcanza los  $250 \mu^3$ , o los de las neuronas, a veces mucho grandes aún (hasta  $3.000 \mu^3$ ). Para el hombre y otros mamíferos, hay aproximadamente un  $6,5 \times 10^{-12}$  g de ADN por núcleo. Es probablemente la más pequeña cantidad de una sustancia cualquiera que podemos razonablemente medir.

Existen excepciones a la regla. En el hígado de mamíferos, por ejemplo, se encuentran tres especies de núcleos. La mayor parte tiene  $6,5 \times 10^{-12}$  g de ADN, otros poseen 13 de las tales unidades, y otros pocos casi 26. La variación es regular: ciertos

núcleos han duplicado su cantidad de ADN, otros la han cuadruplicado. Por el contrario, los espermatozoides no contienen sino la mitad de la cantidad habitual, o sea  $3,3 \times 10^{-12}$  g. Para facilitar la comparación entre especies, se considera la cantidad presente en los espermatozoides como unidad de medida, y se dice que los mismos contienen 1 C (complemento) de ADN. La mayor parte de las demás células de los mamíferos tienen 2 C, algunas 4 C, e inclusive 8 C.

Naturalmente, se han relacionado estas cantidades con lo que se sabe del número de cromosomas de las mismas células (aunque tal número no pueda ser contado sino en el momento de una división). La mayor parte contiene  $2n$  cromosomas, siendo  $n$  un número característico de la especie (en el hombre,  $n = 23$ ). Algunas células del hígado contienen  $4n$  o aun  $8n$ , en tanto que los espermatozoides y los óvulos no poseen sino  $n$ . Por lo tanto, la cantidad de una sustancia química bien determinada, el ácido desoxirribonucleico, guarda una estrecha relación con el número de cromosomas.

Tal número, y por consiguiente el tenor de ADN, determina en muchos casos el tamaño del núcleo y el de toda la célula. Mediante artificios técnicos, se pueden producir experimentalmente renacuajos de anfibios que tengan solo  $n$  cromosomas y 1 C de ADN y las células que los forman se denominan *haploides*. Los volúmenes nucleares y celulares se hallan paralelamente reducidos con relación a los de los individuos normales, *diploides* (con  $2n$  cromosomas). Inversamente, el alga *Spirogyra*, normalmente haploide, puede formar filamentos diploides, en los que el tamaño de las células se duplica.

Si se provee a células de tejidos adultos en que prácticamente no haya divisiones celulares de precursores radiactivos del ADN (por ejemplo, timidina, compuesto de timina y desoxirribosa, ver pág. 24), tales precursores no se incorporan al núcleo, y por lo tanto no se ha sintetizado ADN. Dado que su

cantidad permanece constante, tampoco hay destrucción. El comportamiento de esta sustancia es, una vez más, excepcional. Se sabe que Heráclito decía que todo fluye, que todo se transforma a cada instante. Se ha encontrado una magnífica aplicación de su principio en las moléculas biológicas. Las mismas se gastan, en cierta forma, se destruyen continuamente y son remplazadas por otras idénticas, nuevamente sintetizadas. Ya tuvimos un ejemplo con el ARN del nucleolo. Todas las moléculas sufren una transformación más o menos rápida, todas salvo el ADN.

El ADN está estrechamente asociado en el núcleo a las histonas, proteínas básicas de composición bastante simple, que rodean a sus moléculas en forma de manguito. La cantidad de histonas presentes en el núcleo es casi tan constante como la de ADN, y su renovación es prácticamente tan escasa como la del ácido. Las nucleoproteínas formadas por asociación con ellas son, además, insolubles. El calcio se liga químicamente con ellas.

Como lo veremos detalladamente más adelante (pág. 111), este ADN estable constituye lo esencial de los "genes", factores de la herencia presentes en los cromosomas. Asimismo, en las bacterias y bacteriófagos se ha podido demostrar una acción genética directa del ADN. Este ácido, extraído y purificado de una raza de neumococos, agregado a un cultivo de otra raza, le confiere ciertos caracteres de la primera. Por otra parte, esta última raza transmite tales caracteres indefinidamente a su descendencia, lo que significa que se ha modificado su herencia. Actualmente se busca extender este género de experiencias a organismos superiores, pero el problema técnico es mucho más complicado. Más adelante expondremos otros argumentos en favor del papel genérico del ADN.

Al ADN estable, constante y genético, se agrega quizá una pequeña cantidad de ADN que se ha llamado metabólico, menos estable, menos constante y que lleva poca o ninguna información genética.

La cromatina sexual es una pequeña masa densa de carácter especial. En las células de los individuos hembras de los mamíferos<sup>4</sup> se puede reconocer un pequeño gránulo de cromatina, ausente en los machos correspondientes (fig. 6). El sexo puede así ser determinado en células que no tienen relación alguna con la vida sexual, tales como los leucocitos de la sangre o las células de los ganglios nerviosos.

La cromatina sexual se explicaría por la diferencia de comportamiento de los heterocromosomas (ver pág. 105).

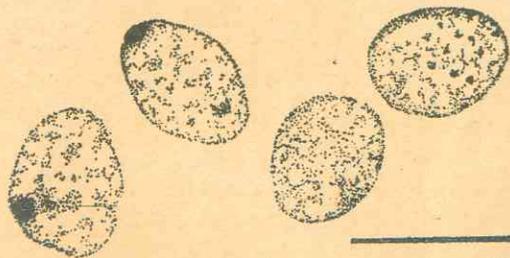


FIG. 6. Cromatina sexual. Núcleos de anexos fetales de embriones humanos. Reacción de Feulgen. Los citoplasmas y nucleolos que no contienen ADN no son visibles. A la izquierda, 2 núcleos femeninos con la cromatina sexual; a la derecha, 2 núcleos masculinos. El trazo negro corresponde a 10  $\mu$ . (Según Klinger y Schwarzacher, *J. biophys. biochem. Cytol.*, 8, 345, 1960.)

La cromatina contiene asimismo una cantidad bastante grande de ARN, que contrariamente al ADN se renueva bastante rápidamente, sobre todo en las zonas donde la cromatina es poco densa. Este ARN es en buena parte diferente de los que se encuentran en el nucleolo, pero, como ellos, es cedi-

<sup>4</sup> Desde largo tiempo se conoce ya una cromatina sexual en los vegetales. La noción de cromatina sexual es más reciente en los mamíferos. Actualmente se trata de extenderla a los restantes vertebrados, pero su problema es diferente.

do al citoplasma. Veremos más adelante lo que se sabe del papel de los diferentes ácidos nucleicos (pág. 114).

### III. Otros constituyentes del núcleo

Los importantes conocimientos adquiridos en los últimos 20 años relativos a las nucleoproteínas no deben cegarnos acerca de nuestra ignorancia sobre los restantes constituyentes químicos de los núcleos.

Se puede aislar gran número de ellos triturando órganos en condiciones controladas que liberan el contenido citoplasmático, centrifugando luego el homogenado obtenido. Los núcleos, no lesionados por este tratamiento, y que tienen, por lo general, un elevado peso específico, se sedimentan en el fondo de los tubos. Ciertos inconvenientes técnicos pueden conspirar contra el método, pero el mismo ha permitido ver, sin embargo, que la composición de los núcleos difiere según las funciones de las células de las que son extraídos. Los de los ovocitos son muy pobres en proteínas, pero los de las células muy especializadas del hígado son mucho más ricos en ellas. Se han identificado diversas enzimas que intervienen en el metabolismo de los nucleósidos y de las nucleoproteínas. Por el contrario, los fermentos relacionados con la respiración y con los sistemas energéticos de la célula se hallan completamente ausentes en el núcleo. Por lo menos una coenzima<sup>5</sup> importante para numerosas actividades citoplasmáticas se sintetiza en los núcleos: el difosfopiriducleótido.

### IV. Membrana nuclear

La membrana nuclear aparece, generalmente, como una delgada línea continua que separa el núcleo del citoplasma. Presenta a veces espesamiento

<sup>5</sup> Una coenzima es una molécula no proteica, dializable (por lo tanto de escaso tamaño), cuya asociación en la parte proteica de determinadas enzimas es indispensable para el funcionamiento de estas últimas.

locales. La microdissección<sup>6</sup> muestra que la membrana constituye una pared resistente y elástica, oponiéndose al paso de una microaguja. Si se aspira el contenido nuclear, la membrana se pliega. Si se la desgarrar, el contenido se expande en el citoplasma. La membrana nuclear desaparece generalmente en el momento de la división celular y reaparece una vez concluida ésta.

El microscopio electrónico muestra que está formada por dos hojas separadas por una hendidura de espesor variable (espacio perinuclear), que oscila entre 10 y 100 m $\mu$  (fig. 7). La hoja externa se halla a menudo en relación con un sistema de dobles membranas, llamado *retículo endoplásmico*, situado en el citoplasma (ver pág. 43). En múltiples

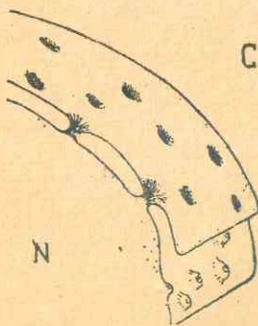


FIG. 7. Membrana nuclear. Esquema de acuerdo con electromicrografías. C: citoplasma; N: interior del núcleo. (Simplificado, según Hagueneau y Bernhard, *Cáncer*, 42, 537, 1955.)

lugares ambas hojas se unen y se abren poros (de 30 a 100 m $\mu$ ) en la pared, poniendo en comunicación al citoplasma con el interior del núcleo. Hay alrededor de 40 a 80 poros por micrón cuadrado. La membrana nuclear tiene la misma estructura en célula

<sup>6</sup> Los micromanipuladores son aparatos cuyo principio es parecido al de los pantógrafos. Transmiten los movimientos de la mano, reduciendo su amplitud, a microinstrumentos ubicados bajo el microscopio.

las de orígenes muy diversos: vegetales, protozoarios, insectos, ovocitos de diversos grupos zoológicos y muchos tejidos de aves y de mamíferos. En la membrana nuclear se hallarían asociados proteínas y lípidos.

Tales detalles de estructura y de composición determinan la permeabilidad de la membrana nuclear. Permiten ciertos intercambios entre el núcleo y el citoplasma, e impiden sin duda otros. Aunque la información a este respecto sea pobre, parece que la membrana nuclear no solo es permeable a diversas moléculas pequeñas, sino también a proteínas (ribonucleasa, histonas, hemoglobina, etc.).

Ciertas funciones de los núcleos pueden ser puestas en evidencia por las experiencias de enucleación (pág. 21). El núcleo no controla ni la respiración ni la fotosíntesis, pero es indispensable para la coordinación de ciertas actividades, especialmente para la alimentación, en los protozoarios. El núcleo es necesario para la síntesis de proteínas y, en especial, para las que acompañan la morfogénesis y la regeneración. Tiene igualmente, sin duda, un papel fundamental en la división celular. El papel genético —fundamental— del núcleo y la forma en la cual transfiere sus informaciones al citoplasma serán encarados más adelante (págs. 113-117).

## CAPÍTULO IV

### EL CITOPLASMA

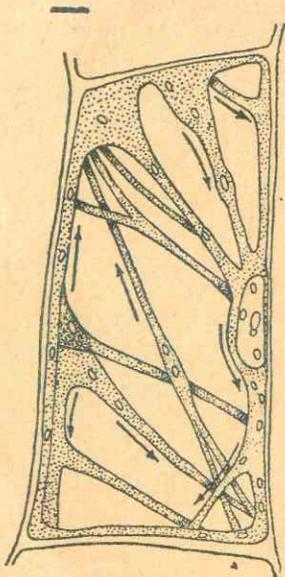
El citoplasma rodea completamente al núcleo. Los numerosos organoides que incluyen poseen características que los diferencian del medio en que se encuentran. Estudiaremos sucesivamente el citoplasma fundamental, o *hialoplasma*, y luego las estructuras e inclusiones que contiene.

#### I. El hialoplasma

Se puede definir al hialoplasma como la parte del citoplasma viviente en que —con el mayor aumento del microscopio óptico— no se distingue ninguna estructura o inclusión. Esta definición, que depende del empleo de una cierta técnica, es evidentemente arbitraria. Pero en la práctica resulta útil.

A pesar de su carencia de "estructura", el hialoplasma es una de las porciones más importantes de la célula. Es asiento de la mayor parte de las síntesis (anabolismo) y de las degradaciones (catabolismo) de las grandes moléculas. Es en él, asimismo, donde se realizan la mayor parte de las reacciones que caracterizan al metabolismo intermedio, esa especie de "bolsa de intercambios" en que las diversas moléculas se transforman unas en otras de acuerdo con las necesidades.

1. *Movimientos del hialoplasma.* A esta actividad metabólica corresponden movimientos visibles del hialoplasma de numerosas células vegetales. Mucho más rápidos que los movimientos de los leucocitos o de los nucleolos, descritos en el capítulo precedente. Es fascinante observar al microscopio las corrientes incesantes que recorren el citoplasma de la *Chlamydomonas* o de la *Elodea canadensis*, por ejemplo, en nuestros estanques. Estos movimientos de ciclosis arrastran a las mitocondrias, los plástidos



3. *Ciclosis* en una célula de pelo epidérmico de Bryonia (cucurbitácea). Las flechas indican la dirección del movimiento. A la derecha, el núcleo. El trazo negro = 10  $\mu$ . (Según Dangeard, *op. cit.*, 1947.)

vacuolas, a veces al núcleo mismo, en un incesante desplazamiento. Si el citoplasma no está rodeado en una capa única adherida a la membrana celular, se pueden ver igualmente las corrientes

en las trabéculas citoplasmáticas que atraviesan la vacuola (fig. 8). El flujo puede hacerse más lento, detenerse, luego invertirse, y las trabéculas citoplasmáticas mismas pueden cambiar de forma y de lugar, hincharse o adelgazarse y desaparecer, mientras se forman otras nuevas. Normalmente, la ciclosis no se detiene por completo sino con la muerte de la célula, aunque se la puede suspender mediante diversos procedimientos experimentales. La ciclosis es tanto más marcada cuanto menor sea la viscosidad del hialoplasma. En ocasiones, sirven de estimulantes una excitación química o la luz.

La ciclosis, que parece rápida al microscopio, es en realidad un movimiento lento: 50  $\mu$ /s, lo que equivale a 18 cm/h. Los cálculos muestran que es extremadamente pequeña la energía necesaria para producirla. Una consumición de 0,005 mg de azúcar bastaría para mantenerla durante un año en una célula grande del alga *Nitella*.

Parecidos movimientos se observan en ciertos protozoarios, pero no en las células animales, cuya viscosidad es demasiado elevada. Sin embargo, inclusive en estas células los elementos figurados del citoplasma se mueven a veces pasivamente, lo que indica la existencia de corrientes muy lentas.

2. *Movimientos ameboides.* Diversos protozoarios —naturalmente entre ellos las amebas, que dieron nombre a estos movimientos—, los leucocitos e histiocitos de los vertebrados, los huevos de las esponjas, los citoplasmas de las mixomicetas (especie de hongos saprófitos de citoplasmas plurinucleados) y algunos espermatozoides de forma atípica se desplazan activamente por medio de movimientos ameboides. Muchas otras células lo hacen ocasionalmente. La velocidad se expresa por micrones o fracciones de micrón por segundo.

Este fenómeno ha sido mejor estudiado en la ameba. Para ser eficientes requieren un soporte sólido. Toda la célula se halla rodeada por una delgada membrana de hialoplasma totalmente desprovisto

de inclusiones, y probablemente muy fluido. En un momento dado, la célula se ensancha localmente y se extiende sobre el soporte. Se forma un *seudopodio* cuya parte frontal está constituida por esta membrana y cuyas paredes laterales se hallan formadas por citoplasma cortical relativamente rígido. Esta corteza rodea una porción central llamada endo-

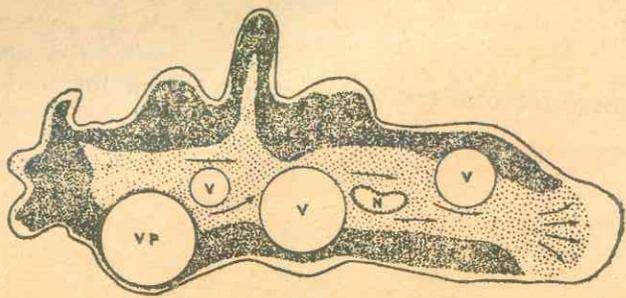


Fig. 9. Movimientos ameboides. Esquema de una ameba. En el animal vivo no hay diferencia de aspecto entre el endoplasma —punteado— y el córtex —más oscuro en el dibujo—. Solo el examen del desplazamiento de las inclusiones permite diferenciarlos. N: núcleo; V: vacuolas digestivas; VP: vacuola pulsátil, cf. página 72. (Simplificado, según Mast, *J. Morphol.*, 41, 357, 1926.)

plasma, de viscosidad variable, donde se puede seguir el desplazamiento de las inclusiones. En el extremo del pseudopodio, el tubo cortical se interrumpe y el endoplasma fluye literalmente a través de él, para extenderse bajo la membrana hialina (fig. 9). Se ha comparado este movimiento al de las gotas en cima de un chorro de agua. Los autores no se ponen de acuerdo para decidir si el endoplasma es empujado en la parte posterior del animal o si se retrae en la parte delantera en lo que correspondería a la porción lateral de la zona del chorro de agua<sup>1</sup>. El pseudopodio, adherido al soporte, no camina de lugar, pero se ensancha y toda la masa de la

célula se centra sobre él, lo que lo hace desaparecer. En algún otro lugar de la superficie nace un nuevo pseudopodio, alrededor del cual la célula se extiende. La dirección de los movimientos varía así a cada momento. Tales movimientos pueden orientarse de acuerdo con una atracción o de orden químico (quimiotactismo) o físico. En este caso, la célula avanza en zig-zag hacia su objeto.

Aunque no hayan podido ser estudiados con tanto detalle, los desplazamientos de otros tipos celulares se producen probablemente por un mecanismo análogo.

3. *Heterogeneidad físico-química del hialoplasma*. Si bien el hialoplasma parece vacío al microscopio óptico y no presenta ninguna "estructura" granulosa o reticulada, los microscopios especiales revelan, sin embargo, su heterogeneidad. En fondo oscuro<sup>2</sup> se ven, en muchos citoplasmas vegetales y en las amebas, partículas submicroscópicas que "danzan" por movimiento browniano<sup>3</sup>, el microscopio de luz polarizada revela que, en muchos sitios, el hialoplasma debe contener moléculas orientadas paralelamente.

El estudio físico-químico del citoplasma es extremadamente difícil. En ocasiones el citoplasma es apenas dos veces más viscoso que el agua pura. Sin esta fluidez, la ciclosis vegetal sería imposible. Otros citoplasmas son no solamente 20 ó 30 veces más

<sup>2</sup> El microscopio de fondo oscuro o *ultramicroscopio* ilumina los preparados por medio de haces de luz muy oblicuos (laterales) que no llegan directamente al ojo del observador. Si tales rayos se difractan en partículas más pequeñas que el límite teórico de visibilidad ( $0,2 \mu$ ), éstas se tornan visibles sobre fondo oscuro, aunque no se pueda determinar su forma.

<sup>3</sup> El movimiento browniano, descubierto por Brown en 1828 sobre granos de polen, no está de ninguna manera ligado solo a la materia viviente. Todas las moléculas se desplazan y se entrec chocan al azar, gracias a su energía térmica. En un medio fluido, partículas muy pequeñas ( $1 \mu$  o menos), chocadas así de todos lados, se agitan en su lugar de manera desordenada.

<sup>1</sup> Dicho de otra manera, no se sabe si la ameba tiene atracción delantera o trasera.

viscosos que el agua, sino que son también elásticos. Si se introduce un grano microscópico de acero imantado en una célula conjuntiva de un vertebrado y se crea un campo magnético en los alrededores de la célula, el gránulo se desplaza, pero retoma prácticamente su posición inicial cuando desaparece el campo magnético. La elasticidad, puesta así en evidencia, implica una rigidez y una tensión incompatibles con el estado líquido.

Tales experiencias demuestran que el citoplasma es más complejo que una simple solución acuosa de las sustancias que contiene. Tiene las características de un *sistema coloidal*: por más fluido que sea, no puede atravesar las membranas dializantes, que dejan pasar fácilmente moléculas bastante pequeñas, llamadas cristaloides (sales, aminoácidos, glúcidos simples, etc.).

En un sistema coloidal hay por lo menos dos fases de diferentes composición química y propiedades físicas. Una de ellas se halla dispersa en la otra bajo la forma de pequeñas gotas o partículas de 1  $\mu$  a 100  $\mu$  (de formas a veces muy alargadas). La dispersión de una fase en micelas submicroscópicas dentro de otra trae consigo un enorme aumento de la superficie de intercambio. Esto influye sobre toda una serie de propiedades (solubilidad, viscosidad, presión osmótica, repartición de las cargas eléctricas, intercambios entre las fases, etc.).

Los citoplasmas viscosos y elásticos tienen las propiedades de un *gel*, es decir, que sus dos fases parecen continuas, dándoles una cierta rigidez. De acuerdo con las circunstancias, el mismo hialoplasma puede tener una organización diferente, y pasar del estado de gel, relativamente sólido, al estado de *sol*, más líquido. Pequeñas modificaciones de temperatura, de concentración del H (acidez) o de las sales pueden provocar esta transformación por relajamiento de uniones químicas relativamente poco energéticas (fuerzas de Van der Waals) entre las partículas de una fase dispersa.

4. *Estructura submicroscópica. Reticulo endoplasmático y ergastoplasma.* El microscopio electrónico ha permitido confirmar las conclusiones arriba señaladas y apreciar más concretamente a qué corresponden. Las estructuras que revela en cortes ultrafinos (0,1  $\mu$  menos) el citoplasma fijado se comprueban en una gran variedad de células.

El retículo endoplásmico aparece en los cortes bajo la forma de contornos redondeados, ovals o alargados, que presentan a veces bifurcaciones. Comparando un número elevado de estas imágenes planas, se pueden reconstruir las estructuras tridimensionales presentes en el citoplasma. Las mismas son vesículas más o menos aplanadas, sacos o tubos. Sus diámetros van desde 50 a 300  $\mu$ , con zonas más anchas. La sustancia que los llena es escasamente densa y homogénea al microscopio electrónico. Más o menos abundantes, tales imágenes se encuentran en todas las células examinadas, animales o vegetales, salvo en los hematíes.

En los citoplasmas ricos en ácido ribonucleico, como los páncreas, por ejemplo, se encuentra una forma particular del retículo endoplásmico: el *ergastoplasma*, en el que se enfrentan dos membranas paralelas que delimitan una hendidura llena de sustancia homogénea. Estas dobles membranas no son ya lisas: sobre su cara externa se alinean granos muy densos de 13 a 15  $\mu$  (fig. 10); otros se reparten, a veces abundantemente, en el espacio entre dos hendiduras vecinas, aunque nunca en el interior de ellas.

A menudo el retículo endoplásmico se halla en continuidad con la membrana nuclear y se abre en el espacio perinuclear. Asimismo, se encuentra en relación con repliegues o fosas que penetran en el citoplasma a partir de la membrana nuclear, y en ciertos vegetales también se relaciona con extensas vacuolas. Casi todos los autores consideran al re-



Fig. 10. *Ergastoplasma* al microscopio electrónico. Corte ultrafino de una célula del páncreas. Las dobles membranas aparecen como contornos más o menos paralelos, revestidos exteriormente por granos muy opacos. Tales dobles membranas delimitan cavidades a las cuales se observa a veces relacionarse entre sí. En la parte inferior, el área limitada por un arco de círculo es una porción del núcleo. El trazo negro = 1  $\mu$ . Aumento 27.000 X. Según Palade, *J. biophys. biochem. Cytol.*, 2, suplem., 85, 1956.)

El retículo endoplásmico como un sistema continuo de canales y vesículas aplanadas y comunicantes que se extiende desde la superficie de la célula hasta la membrana nuclear.

Antes de tratar acerca del papel de estas formaciones, es necesario formularse una desagradable pregunta: ¿existen realmente? Si bien los microscopistas electrónicos no tienen duda alguna con respecto a la realidad de estas estructuras evidenciadas por sus fotografías mediante una perfección técnica y una precisión admirables, los citólogos de otras disciplinas son generalmente algo más reservados, aun cuando su cortesía les impida expresar sus dudas ante los detalles revelados por aquéllos. La técnica del microscopio electrónico exige, en efecto, que los especímenes a examinar sean fijados, deshidratados, incluidos y luego sometidos al corte del micrótopo. La

observación se realiza en condiciones de alto vacío. Se está lejos de la célula viviente. Algunos investigadores subrayan que los errores en los que habían sucumbido no pocos de los citólogos de los últimos veinte años del siglo XIX, que estudiaban solo células fijadas y coloreadas, amenazan de nuevo a los electrónicos. Si el progreso de las técnicas ópticas permitió finalmente controlar las observaciones de los clásicos sobre la célula viva, y a veces corregirlas, tal posibilidad está descartada con respecto a las observaciones obtenidas por intermedio del microscopio electrónico.

Semejante pesimismo es injustificado. Distintas fijaciones, e inclusive tratamientos preliminares sin fijación (congelación-deseccación), muestran las mismas dobles membranas con la misma disposición y tamaño. Por el contrario, estas estructuras son muy frágiles. Si la fijación no llega rápidamente a las células cuando aún están realmente vivas, no se las observa. Estas dos comprobaciones tornan altamente improbable la hipótesis de que un estadio de la técnica haya producido artificialmente tales imágenes. Por otra parte, los resultados obtenidos con el microscopio electrónico son exactamente los que el estudio físico-químico indirecto del citoplasma hacía prever: dos fases, el interior y el exterior de las membranas del retículo. Según los lugares, un sistema fluido y una fase muy dispersa (retículo poco abundante), o, si no, un sistema bastante rígido con la fase dispersa formando una red continua en él (retículo abundante, bajo la forma de vesículas anastomosadas). Allí donde el microscopio electrónico muestra membranas paralelas, el microscopio de luz polarizada, aplicado a la célula viva, revela una birrefringencia, que indica la existencia de elementos paralelamente dispuestos. En algunos casos, en fin, se ha podido observar el retículo endoplásmico *in vivo* con el microscopio de contraste de fase. El conjunto de todos estos argumentos basta para admitir como reales las estructuras submicroscópicas del hialoplasma.

5. *Funciones del ergastoplasma. Los microsomas.* El papel que se puede atribuir al retículo endoplásmico depende de la naturaleza química de las sustancias que contiene. Este problema es aclarado por un método totalmente diferente, la ultracentrifugación. Hemos visto que de homogeneizar el tejido y centrifugar las células con una aceleración relativamente débil, los núcleos se sedimentan. Un centrifugado más rápido del sobrenadante produce un depósito de las mitocondrias. A una velocidad ma-

yor aún se obtiene un residuo formado por un sedimento fino, que se ha denominado *microsoma*. Observado en el microscopio electrónico, este depósito se ve formado por pequeñas vesículas submicroscópicas, limitadas por una membrana de 4 a 5 mμ de espesor, y generalmente acompañadas por granos muy densos de 15 mμ de diámetro (fig. 11). Es evidente su analogía con el ergastoplasma.

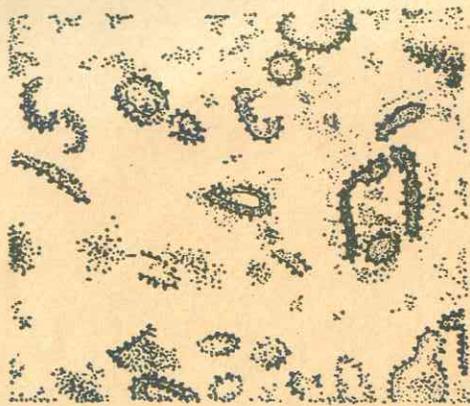


Fig. 11. *Microsomas* vistos al microscopio electrónico. Luego de una homogeneización y centrifugación del hígado, se ha fijado el residuo de microsomas y se lo ha cortado en cortes ultrafinos. Se observan membranas, a veces rotas, revestidas de granos bien negros, los ribosomas. Compárese con la figura precedente. Aumento 40.000 X. (Según Palade y Siekevitz, *J. biophys. biochem. Cytol.*, 2, 171, 1956.)

La cantidad de microsomas que se puede recoger varía de acuerdo con el tipo celular, y es aproximadamente proporcional a la importancia del retículo ergastoplásmico. Los microsomas, que no existen en la célula intacta, son, por lo tanto, fragmentos del retículo separados por el tratamiento bastante severo a que se ha sometido a la célula.

Los microsomas contienen la mayor parte del ácido ribonucleico del citoplasma. Por centrifugaciones sucesivas, cada vez a velocidades mayores, se

obtienen fracciones cada vez más ricas en ARN, que corresponden finalmente a los gránulos asociados a las membranas. Estos *ribosomas* están constituidos por ribonucleoproteínas casi puras y son el lugar donde se realiza la síntesis de proteínas en el citoplasma. Aislados, los microsomas y, mejor aún, los ribosomas incorporan aminoácidos marcados a una velocidad mayor que cualquiera de los demás elementos celulares. Estas síntesis dejan de realizarse si se extrae el ácido ribonucleico. Pero los ribosomas no funcionan eficientemente si no se les agrega un cierto número de moléculas, de las cuales volveremos a hablar más adelante (pág. 115). Un ribosoma dado no está especializado y puede fabricar una u otra proteína de acuerdo con el "programa" que le es impuesto. Para llevar a cabo una misma síntesis, se han podido reemplazar los ribosomas de bacterias por ribosomas de rata.

El ARN de los ribosomas tiene cierta estabilidad y se renueva más lentamente que otras fracciones. Dada su similitud de aspecto y el parecido de su composición química con bases nitrogenadas, se sugiere que los gruesos gránulos descritos en los nucleolos son los precursores de los ribosomas citoplasmáticos.

En las células en las cuales ocurre una síntesis proteica los ribosomas se reúnen en grupos de media o una docena, a veces ligados por un fino filamento, y funcionan juntos. Estos grupos se denominan *polirribosomas*. En otros casos, las sustancias producidas se acumulan en las cavidades del ergastoplasma que se ensanchan.

## II. Los organoides citoplasmáticos

Ya hemos señalado la diversidad y la variabilidad de los organoides de una célula a otra. Algunos no están presentes sino en ciertos tejidos, o inclusive en uno solo. Otros se encuentran en todos los citoplasmas, o en la mayor parte. Estos son, eviden-

temente, los más importantes y serán los únicos que trataremos aquí.

Algunos de estos organoides son modificaciones locales del hialoplasma. Participan siempre activamente en el funcionamiento del conjunto. Según las condiciones metabólicas, pueden aumentar o disminuir, aparecer o desaparecer. Otros están dotados de continuidad genética, es decir, que se reproducen a sí mismos, no pudiendo existir en una célula que no posea un "modelo" o un precursor bien determinado de ellos. Mantienen intercambios con el hialoplasma, pero son netamente independientes del mismo.

Esta distinción es teóricamente importante, aunque es difícil comprobarla en forma práctica, ya que es imposible afirmar la presencia constante o, por el contrario, la desaparición total y la regeneración de elementos tan pequeños.

1. *El complejo de Golgi.* En 1828, Camillo Golgi, inventor de elegantes técnicas para la visualización de las células nerviosas y de sus más finas ramificaciones, vio, en células ganglionares de lechuga y de gato, un complejo retículo de canalículos anastomosados que se extendía en una buena parte del citoplasma. Este retículo se había hecho visible por una impregnación metálica —cromo-argéntica—, en condiciones bien definidas. Golgi lo denominó "aparato reticular interno". Por procedimientos similares, en la mayor parte de las células animales se evidenció una estructura análoga, generalmente menos extendida y menos compleja. Sin embargo, salvo excepciones, este aparato no es visible *in vivo*. Desde su descubrimiento este organoide se ha visto rodeado de las más apasionadas controversias. Se le han consagrado muchos trabajos de resultados que se contradicen y en los que se ha volcado una buena dosis de apasionamiento.

En efecto, las estructuras descritas bajo los nombres diversos de aparato reticular interno, aparato o cuerpo de Golgi, dictiosomas, zona o complejo de Golgi, etc., no corresponden siempre al mismo organoide. Es preciso distinguir tres casos distintos.

En las células nerviosas, en las que se descubrió el "aparato" de Golgi y en las que el mismo alcanza dimensiones considerables, este retículo es —por una suerte de ironía— parcialmente artificial y no corresponde a ninguna estructura única de la célula viviente. Se trata en especial de un precipitado metálico errático que une las verdaderas estructuras golgianas al ergastoplasma, que posee una particular disposición en el tejido nervioso (cuerpos de Nissl).

En cambio, en las células germinativas del testículo de numerosas especies se ve muy bien, *in vivo*, la existencia de algunas laminillas en arco de círculo o cupuliformes, que presentan a veces una vacuola en su concavidad. La existencia real de tales *dictiosomas* de Golgi no ofrece ninguna duda.

En fin, en la mayor parte de las demás células, mediante las técnicas especiales de Golgi, se observan imágenes de dictiosomas aplanados o en forma de cuarto creciente lunar, en ocasiones ligados entre sí, casi siempre cerca del núcleo (fig. 12). En las mejores condiciones, *in vivo* se puede a veces adivinar en este sitio una estructura especial, aunque las fotografías no sean muy convincentes. Es, sin embargo, indudable que existe en tal lugar una pequeña zona de citoplasma que contiene lípidos algo particulares en asociación con proteínas, especialmente enzimas (fosfatasa). La célula viva concentra en esta región sustancias que puede tomar del medio. Mediante diversas reacciones se consigue evidenciar esta zona particular. Su riqueza en lípidos le da una densidad menor que la del hialoplasma vecino. Cuando se centrifuga una célula entera, el complejo de Golgi se dirige al polo centrípeto bajo la forma de una pequeña gotita grasa.

Con el microscopio electrónico se observan, en el lugar ocupado por el complejo de Golgi, pequeños sacos muy aplanados, apilados unos sobre otros y limitados por membranas lisas (fig. 13). Grupos de 2 a 6 sacos que corresponden cada uno a un dictiosoma, se encuentran tanto en las células testicula-

res, en que el complejo es visible *in vivo*, como en los demás tejidos, en que es necesario emplear técnicas especiales para evidenciarlo claramente. El mi-

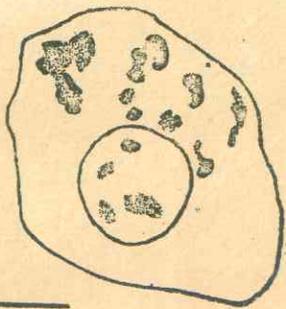


Fig. 12. Complejo de Golgi. Impregnación cromo-argéntica. Hígado de salamandra. Siempre se encuentran asociados dos elementos, los dictiosomas —en negro— y una porción más difusa adherida a ellos, en cuyo lugar aparecen vacuolas. La línea horizontal = 10  $\mu$ . (Según Pollister, *Quart. J. Micr. Sci.*, 81, 235, 1939.)

croscopio electrónico demuestra así la identidad de estos organoides en diversos tipos celulares y justifica definitivamente el empleo de una designación común. Si bien las membranas se semejan a la del retículo endoplásmico (lo que sugiere, además, que los dictiosomas podrían derivarse de él, o bien constituir una porción modificada), los espacios que delimitan tales membranas son más estrechos y los sáculos se apretan unos contra otros. Presentan ensanchamientos en sus extremidades, pudiéndose apreciar generalmente todos los estadios intermedios entre ellos, ciertas vacuolas y granos de secreción mucho más gruesos.

Mientras que las técnicas clásicas no habían revelado nada semejante al complejo de Golgi en los vegetales, el microscopio electrónico muestra en ellos dictiosomas notablemente idénticos a los de las células animales. La figura que hemos escogido (fig. 13) proviene precisamente de un trabajo de citología vegetal. Este organoide tiene,

por lo tanto, una existencia mucho más general de lo que se había supuesto, y el interés por el mismo ha renacido.

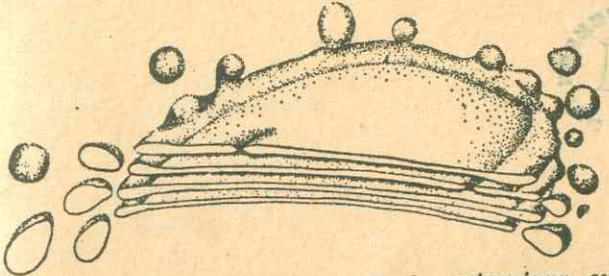


Fig. 13. Dictiosoma; diagrama de la estructura submicroscópica. Célula vegetal. El conjunto del dibujo corresponde a uno de los pequeños trazos negros de la figura precedente. Las fotografías obtenidas en el microscopio electrónico presentan imágenes parecidas al corte de la sección. En la periferia de los sacos aplanados se destacan algunas vesículas. (Según Buvat, *Ann. Sci. Nat.*, 19, 123, 1958).

Cerca de los dictiosomas o en contacto con ellos, el microscopio electrónico muestra la existencia de vacuolas que contienen una sustancia más densa. Poco a poco, los mismos toman el aspecto de gránulos de secreción rodeados por una membrana. En realidad, el material de estos gránulos constituidos por proteínas proviene del ergastoplasma, pero se concentra en la región del Golgi. Aun en las células no glandulares diversas sustancias, en particular lípidos, se concentran en esta zona para ser luego eliminadas. Esta acumulación de lípidos es responsable de la coloración particular del complejo de Golgi. Se ha comparado al Golgi con las vacuolas pulsátiles de los protozoarios (pág. 72). Tanto el uno como las otras constituirían esencialmente órganos de secreción.

2. Las mitocondrias. Las mitocondrias o condriosomas<sup>4</sup> son los organoides citoplasmáticos que

<sup>4</sup> La terminología de las mitocondrias es inútilmen-

presentan mayor ubicuidad. Se las encuentra en todos los tipos celulares animales y vegetales y, quizás, en algunas bacterias. Pueden ser bien evidenciadas *in vivo* mediante el microscopio de fondo oscuro, o mejor aún por el contraste de fase, que permite filmar sus movimientos. Las mismas se colorean en forma electiva en verde azulado, supravitalmente si se agrega una solución muy diluida de Verde Jano; en el citoplasma, este colorante se reduce a una leucobase incolora, y se reoxida en las mitocondrias. Estas dos observaciones destacan dos de las propiedades principales de los condriosomas: que son móviles y que son centros de oxidaciones.

La abundancia de mitocondrias varía según el tipo celular. Un linfocito no contiene sino unas pocas, pequeñas y dispersas. En una célula de los túbulos renales, el conjunto de las mitocondrias o *condrioma* puede constituir casi un quinto del volumen total. Su forma también es variable. Generalmente son bastoncitos cortos de 2 a 3  $\mu$  de largo y medio micrón de ancho; pero se encuentran bastoncitos más largos, filamentos alargados y ondulantes, granos aislados o reunidos en rosario, esferitas, etc. Parece que estos diversos aspectos de las mitocondrias se hallan en relación con la mayor o menor actividad de la célula. En determinados casos —hígado, fibroblastos, etc.— se puede ver, además, cómo estos elementos se transforman unos en los otros de acuerdo con la intensidad del metabolismo. La forma filamentososa modifica considerablemente la relación entre la superficie y el volumen, así como también las condiciones de los intercambios, muy activos, con el citoplasma vecino. Las mitocondrias están rodeadas de una membrana semipermeable, que condiciona tales intercambios. Invisible en la célula viva, dicha membrana determina notablemente el comportamiento osmótico de las mitocondrias aisladas de la célula y colocadas en soluciones más o menos

te pesada. Nosotros emplearemos sobre todo este término claro, que tiene el mérito de la prioridad.

concentradas de sacarosa. Los condriosomas se hinchan por entrada de agua si estas soluciones son diluidas y se retraen, por el contrario, si las mismas son hipertónicas.

*Movimientos.* Cuando se filma en cámara acelerada fibroblastos en un cultivo de tejidos, para que las modificaciones se vuelvan más rápidas y más visibles, se ve que los movimientos más rápidos son los de los condriosomas. Arrastrados pasivamente por lentos desplazamientos del hialoplasma, presentan también deformaciones activas. Son frecuentes en este caso las curvaturas, las rupturas, la reuniónes de dos elementos separados, las apariciones de

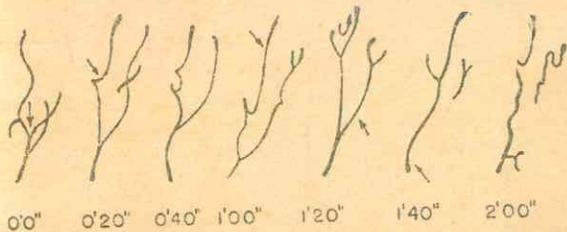


FIG. 14. *Movimientos de las mitocondrias.* Fibroblasto en cultivo. Dibujos sucesivos de la misma porción de citoplasma calcados según las imágenes de un film (de 20 en 20 segundos). Las flechas indican los lugares que van a modificarse. (Según Frederic y Chevremont, *Arch. Biol.*, 63, 109, 1952.)

ramificaciones laterales (fig. 14). Si bien estas modificaciones son relativamente rápidas, raramente pueden observarse a simple vista. Gracias a sus continuos cambios de lugar y de forma, el condrioma puede relacionarse sucesivamente con la totalidad de los puntos del citoplasma. En otros tejidos, en los que el condrioma se halla limitado a ciertas porciones de la célula, tales movimientos parecen ser mucho más restringidos.

La cámara puede igualmente captar *in vivo* los intercambios de las mitocondrias con otros elementos celulares. Se las ve palidecer, como si perdiesen una parte de su sustancia en provecho del hialo-

plasma circundante. Reunidas con frecuencia alrededor del núcleo, las mitocondrias entran repetidamente en contacto con la membrana nuclear, que a veces se engruesa temporariamente en tales sitios. En determinados casos, esta unión se realiza exactamente en frente de un nucleolo, que envía igualmente una prolongación hacia la membrana nu-

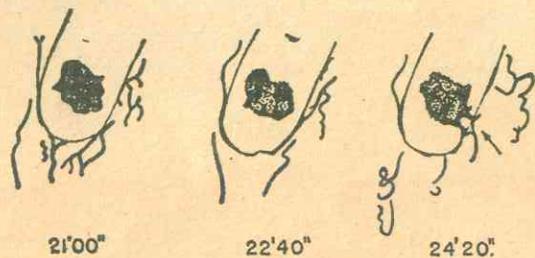


FIG. 15. Mitocondrias, membrana nuclear y nucleolo. Igual técnica que en la figura 14. Las mitocondrias se adhieren a la membrana —aquí en forma de U—. Deformaciones del nucleolo. (Según Frederic, *Arch. Biol.*, 69, 169, 1958.)

clear. A la vista de tales imágenes, se impone la idea de un intercambio material de sustancia entre las mitocondrias y los nucleolos (fig. 15).

**Estructura submicroscópica.** Vista al microscopio electrónico, la estructura interna de las mitocondrias es muy característica y muy parecida en todas las células examinadas, animales o vegetales (fig. 16). La membrana que las rodea es doble y aparece en las fotografías bajo la forma de dos líneas opacas a los electrones, separadas por un espacio menos denso. Interiormente, el organoide está subdividido por medio de tabiques incompletos, igualmente dobles, las *crestas mitocondriales*, generalmente transversales, a veces tubulares o longitudinales. La matriz es bastante homogénea, aunque contiene, en determinados casos, algunos granos opacos de 20 ó 30  $m\mu$  de diámetro, de naturaleza desconocida.

En realidad no hay más que dos membranas: una externa y una interna con numerosos repliegues. La sustancia de las mitocondrias se encuentra así repartida en dos partes, una a cada lado de la membrana interna. El material situado entre las dos membranas parece menos abundante, pero puede volverse proporcionalmente más importante en circunstancias excepcionales.

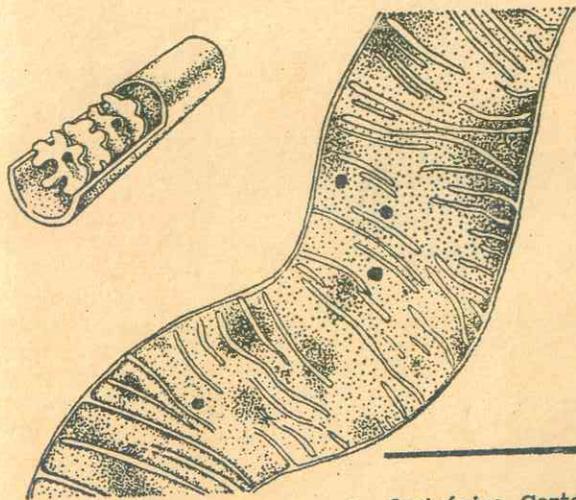


FIG. 16. Mitocondria al microscopio electrónico. Corte longitudinal ultrafino; páncreas. El conjunto del dibujo corresponde a una porción de filamento en las dos figuras precedentes. Doble membrana periférica. Las crestas mitocondriales, cortadas transversalmente, se presentan bajo la forma de dobles líneas transversales. El trazo negro corresponde a  $\frac{1}{2}$  micrón. Aumento: 52.000 X. En el ángulo superior izquierdo, reconstrucción de una mitocondria vista en perspectiva. Aquí las crestas mitocondriales aparecen como tabiques incompletos de borde irregular. (Según Sjöstrand, *Intern. Rev. Cytol.*, 5, 455, 1956.)

**Composición química y función.** Tal como sucedió con respecto a otros elementos celulares, el aislamiento por ultracentrifugación nos ha brindado numerosas informaciones sobre este problema.

El condrioma es bastante rico en lípidos (25% del peso seco), pero éstos se hallan "enmascarados", y se ha supuesto que los mismos se hallan localiza-

dos entre dos delgadas capas de proteínas y todo el conjunto constituye las capas descritas más arriba. Al lado de las proteínas, que por lo general fermentan, se encuentran numerosas coenzimas y vitaminas. El número de las diferentes enzimas encontradas en las mitocondrias es particularmente elevado, y su actividad es muy grande.

Esquematisando, podemos decir que las reacciones más importantes catalizadas por tales enzimas son de tres órdenes:

1. La transferencia de un electrón de una molécula orgánica al oxígeno, por una serie de intermediarios. Estas reacciones son oxidaciones y su sucesión constituye en realidad la *respiración celular*. Tales oxidaciones proveen energía. A la acción de un fermento de este grupo, la citocromo-oxidasa, se atribuye la recoloración del Verde Jano.

2. Las reacciones del ciclo de los ácidos tricarbóxicos (*ciclo de Krebs*) ocurren, en gran parte, en las mitocondrias. Este ciclo hace sufrir a las moléculas de ácidos orgánicos —derivados de los glúcidos— una serie compleja de transformaciones que las vuelven a su estado inicial. Como saldo del ciclo, una molécula de ácido pirúvico ( $\text{CH}_3 \text{CO COOH}$ ) es oxidada completamente en  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . La desaparición del ácido pirúvico también suministra energía.

3. La producción de ligaduras fosfato de alta energía (*fosforilaciones oxidativas*). La misma se produce por la síntesis de ácido adenil trifosfórico (ATP), molécula que contiene tres ácidos fosfóricos ubicados uno al lado del otro. Esta reacción absorbe una cantidad considerable de energía, provista por los sistemas precedentes.

Con el fin de localizar mejor estas reacciones complejas en las mitocondrias, se fragmentan éstas de manera diversa, buscando a la vez las estructuras reconocibles y las actividades químicas que persisten. La interpretación es, sin duda, difícil. La citocromo-oxidasa está probablemente ligada a la membrana externa, mientras que las fosforilaciones oxidativas se realizarían en las crestas mitocondriales. Cada la eficacia del sistema, parecería aún que las moléculas de las distintas enzimas que intervie-

nen en una cadena de reacciones no pueden estar dispersadas al azar en la mitocondria, sino que están dispuestas sobre las crestas una junto a otra en un cierto orden preciso. Ciertos tratamientos especiales han permitido observar sobre las crestas, con el microscopio electrónico, filas regulares de granulaciones (fig. 17). Cada una de ellas no incluiría más que una enzima y su secuencia sería igual a la correspondiente en la serie de reacciones identificadas por los bioquímicos.

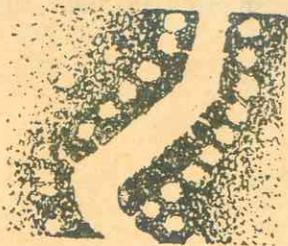


Fig. 17. Cresta mitocondrial al microscopio electrónico. Coloración negativa. Se ha agregado a la preparación una sal de tungsteno que se ha depositado en torno a las estructuras, con lo cual las mismas aparecen como imágenes invertidas, pero con mucho mayor detalle que habitualmente. A lo largo de la cresta mitocondrial se alinean pequeñas masas (probablemente enzimas) que se unen a la cresta por tallos muy delgados. Aumento: 384.000 X. (Según Parsons, *J. Cell. Biol.*, 16, 620, 1963.)

Se ha podido decir que, en los animales, el condrioma representa la *central eléctrica que aporta a la célula la energía necesaria para su funcionamiento*. El condrioma extrae esa energía de la respiración y de la degradación del ácido pirúvico y la almacena notablemente en el ATP, que pasa al citoplasma y se convierte allí en dador de fosfato, cediendo su energía a buen número de reacciones anabólicas. Esta función de las mitocondrias solo puede ejercerse plenamente si el medio le da los elementos que le faltan, sobre todo coenzimas: las

fosforilaciones oxidativas no se llevan a cabo en las mitocondrias aisladas si no se las provee de estos complementos. Se comprende entonces la importancia de los intercambios con el hialoplasma y el núcleo.

Proveyendo así la energía y los metabolitos esenciales, el condrioma interviene indirectamente en la mayoría de las síntesis ligadas al crecimiento, la secreción o la neoformación de otros elementos celulares. Estos fenómenos se encuentran acompañados generalmente de imágenes de su hiperactividad. Pero su intervención no es directa, contrariamente a lo que se creía no hace mucho. Debemos establecer claramente dos excepciones: las mitocondrias se transforman a veces en plaquetas vitelinas en los huevos y en ciertos elementos de piezas intermedias de los espermatozoides.

*Origen y evolución.* El origen de las mitocondrias no está claramente establecido. En toda una serie de circunstancias (entre otras, la mitosis, página 79), se describe una desaparición del condrioma o, por el contrario, una neoformación que no parece hacerse a partir de las mitocondrias preexistentes. Pero el microscopio electrónico ha demostrado que la desaparición no es total. Mas otras observaciones abogan en favor de una autorreproducción. Es notable que no solo el ovo-cito, sino también el espermatozoide aporta mitocondrias al embrión. En las amebas anucleadas la función respiratoria se mantiene muy bien, lo que sugiere una gran independencia con respecto al núcleo. En un caso, al menos, ciertos factores ligados a las mitocondrias están dotados de continuidad genética: por diversos procedimientos se pueden modificar las pequeñas mitocondrias de la levadura de cerveza y hacerles perder sus enzimas respiratorias; esta ausencia se perpetúa en su descendencia, aunque los núcleos no se hallan afectados.

Este problema se complica más aún por la identificación de dos tipos de partículas emparentadas con las mitocondrias. Ciertos filamentos análogos, pero mucho más delgados o formados por pequeños elementos homogéneos densos que parecen adquirir una estructura mitocondrial, aparecen en el microscopio electrónico en células de tumores o de hígado en regeneración. Este *ultracondrioma*, que sería el origen de las verdaderas mitocondrias, es demasiado pequeño como para ser visto mediante

microscopio óptico. Por otra parte, por centrifugación diferencial se aíslan los *lisosomas*, que el microscopio óptico no distingue del resto de la población mitocondrial. Estos lisosomas son muy ricos en ciertas enzimas hidrolizantes, pero su membrana es impermeable a las sustancias que estas enzimas pueden hidrolizar y eso les impide ser activas. Serían formas de eliminación o degeneración. En el microscopio electrónico se los observa con una estructura más simple que la de las verdaderas mitocondrias.

3. *Los plástidos.* Junto con las mitocondrias, otros organoides, los *plástidos*, proveen de energía a las células vegetales. Se conocen varias especies de plástidos, ya sea coloreados o no. Nos ocuparemos solo de los más importantes, los *cloroplastos*, a los que las clorofilas dan su color verde. A nivel de los cloroplastos se realiza la fotosíntesis, es decir, la síntesis de los glúcidos gracias a la energía luminosa.

En las algas puede no haber más que algunas grandes placas o láminas verdes (cromatóforos) por célula, cuya forma es característica del género. En los vegetales superiores, los cloroplastos son más numerosos y más pequeños, pero con todo siguen siendo los mayores organoides intracitoplasmáticos. Su tamaño es de 2 a 3  $\mu$  por 5 ó 6  $\mu$ . Generalmente tienen forma de disco, de esfera o de huso (fig. 3). No son homogéneos, de acuerdo con lo que se ve en la célula viva. Se distingue un *estroma*, que rodea a un medio centenar de pequeños elementos más densos, los *grana*, sobre los que se sitúa la clorofila. Los cloroplastos están rodeados de una membrana que tiene propiedades osmóticas, como la de las mitocondrias.

Su estructura submicroscópica es característica. Cada gránulo es una columna de pequeños discos apilados (una quincena o más), ahuecados y limitados por una membrana de 6,5  $m\mu$ . Un retículo de laminillas más delgadas atraviesa todo el estroma y se adhiere a los discos, conectando a los grana entre sí (fig. 18).

Según ciertos autores, la estructura laminar de los grana sería el signo de una alternancia de capas proteicas y lipídicas. Las moléculas de clorofila (cuya parte principal es una especie de placa cuadrada) estarían dispuestas entre éstas formando un sandwich. Las mismas estarían dispuestas, por lo tanto, todas en un plano paralelo al eje mayor del cloroplasto. En las capas lipídicas existen otros pigmentos amarillos, anaranjados o rojos, los carotenos (emparentados con la vitamina A), responsables del color de numerosos frutos y flores. En las hojas su color está normalmente oculto por la clorofila, aunque se ve en otoño, cuando desaparecen los pigmentos verdes.

Parece que la estructura del cloroplasto se halla en relación con la absorción de la luz. En muchos vegetales, su cara ancha es perpendicular a la dirección incidente de los rayos luminosos cuando los

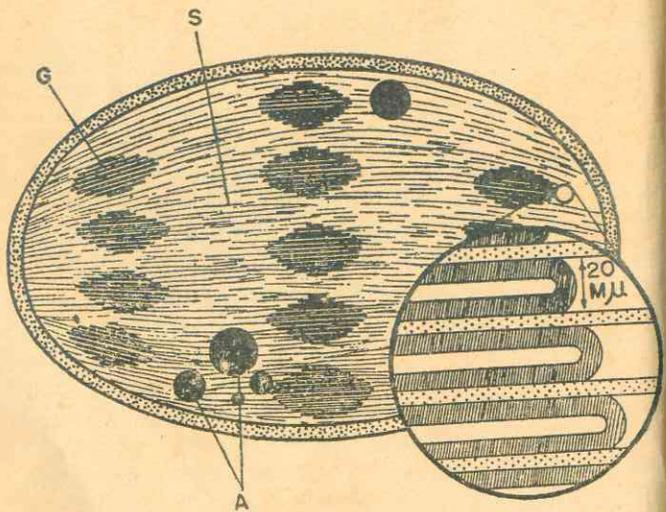


Fig. 18. Esquema de la estructura del cloroplasto. De 3 a 5  $\mu$  en su diámetro mayor, está limitado por una doble membrana y contiene grana (G) más o menos regularmente dispuestos, ligados por un estroma laminar (E) en A, inclusiones lipídicas. En el círculo inferior derecho el borde de un gránulo a gran aumento, que muestra las relaciones entre los discos (rayados) y las laminillas de estroma (punteadas). (Modificado, según Muhletahler Intern. Rev. Cytology, 4, 197, 1955.)

mismos se hallan a la sombra, lo que permite un máximo aprovechamiento de los fotones. En luz viva, por el contrario, los cloroplastos orientan su borde agudo hacia la luz, lo que evita quizá los efectos destructores de una intensidad demasiado fuerte.

En ciertos plástidos se ven corpúsculos densos, esféricos, rodeados por una vaina de granos de almidón, los *pirenoides*. En estas zonas especializadas el almidón se sintetiza o bien se acumula.

Los cloroplastos, inclusive aislados, son capaces de una fotosíntesis completa. Como se sabe, las reacciones de fotosíntesis son las más importantes para el mantenimiento de la vida sobre la tierra. En efecto, los animales son incapaces de sintetizar completamente los hidratos de carbono y dependen enteramente de los vegetales para provisionarse de estas sustancias.

Sin entrar en detalles, se distinguen las tres etapas principales siguientes: descomposición del agua ( $H_2O$ ), reacción catalizada por las clorofilas, que absorben energía luminosa. Con el hidrógeno producido, se reduce el anhídrido carbónico ( $CO_2$ ) y sus átomos de carbono se ligan uno a otro para formar ácidos tricarbónicos (de 3 átomos de carbono). Se forma en seguida un gran número de sustancias, y sobre todo de azúcares de 6 átomos de carbono. Ulteriormente, los azúcares pueden polimerizarse en almidón. Las primeras reacciones se acompañan de fosforilaciones (entre otras, producción de ATP.<sup>50</sup>)

Se sabe desde hace mucho que los plástidos derivan siempre de otros plástidos y no pueden formarse *de novo* a partir de otros constituyentes celulares. Sobre todo en los vegetales inferiores, se puede observar su división directamente al microscopio y seguir su traslado de una célula a otra. Si una célula ha perdido sus cloroplastos (bajo la acción de la es-

<sup>5</sup> Los vegetales tienen, por lo tanto, dos fuentes de energía: los plástidos y las mitocondrias. Para aquéllos bastan la luz y el  $CO_2$ ; pero no actúan en la noche y no se encuentran sino en la superficie en órganos delgados. Las mitocondrias requieren derivados de la glucosa y generalmente oxígeno, pero pueden permanecer activas sin interrupción.

reptomycin, por ejemplo) no puede en ningún caso restituirlos, y su descendencia permanecerá desprovista de ellos. Esto no significa que los cloroplastos sean siempre necesariamente completos. En los vegetales superiores (fanerógamas), se observa, sobre todo, la transmisión de proplástidos, muy pequeños, generalmente incoloros, a veces difíciles de distinguir de las mitocondrias con el microscopio ordinario. Bajo la influencia de la luz, los proplástidos adquieren la estructura laminar característica y sintetizan las clorofilas.

Los plástidos —o sus precursores— contienen un cierto número de informaciones relativas a su estructura y su funcionamiento, que transmiten a su descendencia. Esta herencia es independiente de la que tiene por base al núcleo y que sigue las leyes mendelianas. Sin embargo, algunos genes cromosómicos pueden influir sobre la estructura de los plástidos.

¿A qué sustancias se hallan ligadas las informaciones hereditarias que llevan estos organoides citoplasmáticos? Se encuentran en ellos los dos tipos de ácidos nucleicos. Su ADN (muy poco abundante) parece tener una composición de bases diferente a la del ADN nuclear.

4. *El centro celular y los órganos vibrátiles.* El centro celular es una de las estructuras más pequeñas y más difíciles de estudiar. Se lo encuentra en casi todas las células, salvo en las de los vegetales superiores. Está compuesto de uno o dos *centriolos*, que aparecen como puntos o bastoncitos cortos de 0,1 a 0,3  $\mu$ , rodeados de una pequeña masa de hialoplasma desprovisto de inclusiones y limitada a veces exteriormente, el *centrosoma*. El conjunto está situado en las vecindades del núcleo, o en un polo de la célula (fig. 2). Elementos de tan pequeño tamaño no hubieran atraído particularmente la atención si no fuesen el punto de partida de estructuras mucho más importantes: al comienzo de la división de las células animales se establece alrededor del centrosoma una organización radiada, que se extiende

más o menos lejos en el citoplasma. Los centriolos se separan y forman los polos de dos ásteres que producen el huso característico de la división celular. Este *aparato acromático*, que provoca la separación y el desplazamiento de los cromosomas, será estudiado con la mitosis (pág. 86). La disposición radiada puede persistir más o menos entre dos divisiones, lo que vuelve al centro celular muy visible. Por otra parte, a partir de los centriolos nacen los organoides vibrátiles de ciertos tipos celulares, filamentos dotados de movimientos rápidos. En ambos casos, estos derivados de los centros se mueven o se contraen activamente.

El centrosoma no es más que una pequeña zona del citoplasma, más rígida, que puede hacer rebotar la aguja del micromanipulador. Observados con el microscopio electrónico, su aspecto es marcadamente geométrico (fig. 19). Cada centriolo es una especie de cilindro hueco de 0,15  $\mu$  de ancho por 0,3 a 0,5  $\mu$  de largo, limitado por nueve grupos de tres bastoncillos (o tubos) paralelos. Cuando los cor-

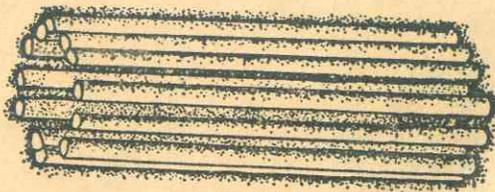


FIG. 19. Centriolo, reconstrucción de acuerdo con fotografías tomadas con microscopio electrónico. Está formado de 9 elementos, de alrededor de 300  $m\mu$  de largo y 20  $m\mu$  de diámetro, que delimitan un cilindro hueco. Cada elemento es, en realidad, triple (3 de ellos aparecen dobles en este dibujo), pero esta reconstrucción se hizo antes que se estableciera este punto. Ver figura 20. (Según de Harven y Bernhard, *Z. Zellf.*, 45, 378, 1956.)

tes ultrafinos empleados en la microscopía electrónica seccionan a la vez los dos centriolos, se ve que los ejes mayores son perpendiculares entre sí. Cua-

tro cuerpos satélites rodean a cada centriolo y están unidos a él. De estos satélites partirán las fibras fusales del aparato acromático.

**Flagelos y ciliias.** Dos tipos de elementos vibrátiles derivan del centriolo. Los *flagelos* son largos látigos que salen de la célula, a partir de un pequeño corpúsculo, eventualmente doble, situado bastante cerca de la membrana celular, el kinetosoma, idéntico al centriolo. Cada célula posee solo unos pocos flagelos, y a veces uno solo. Las ciliias son siempre mucho más numerosas y mucho más cortas. Pueden cubrir la superficie entera de la célula. Cada una nace de un corpúsculo basal, corpúsculo producido por la división repetida de los kinetosomas.

La estructura submicroscópica de los órganos vibrátiles es extraordinariamente parecida en todo el reino animal y en los vegetales que los poseen (fig. 20). Solo los de las bacterias flageladas tienen una estructura diferente. Desde los protozoarios hasta

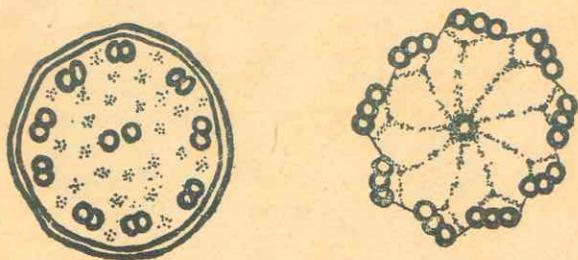


FIG. 20. *Flagelo y corpúsculo basal*, en corte transversal, al microscopio electrónico. *Tricontinfa* (protozoario flagelado). La simetría radial, de 9 filamentos dobles en el flagelo (a la izquierda), se complica algo en el corpúsculo basal (a la derecha), en donde cada filamento es triple y donde se esboza una espiralización. Obsérvese la doble membrana que limita el flagelo. Imágenes muy nítidas gracias a una "coloración" —un precipitado metálico— sobre la preparación. El trazo horizontal corresponde a  $\frac{1}{2}$  micrón. Aumento: 100.000 X. (Según Gibbons y Grims-tone, *J. biophys. biochem. Cytol.*, 7, 697; 1960.)

los primates y desde los musgos hasta los moluscos. los flagelos y las ciliias son largos cilindros que contienen 9 dobles filamentos (o tubos) periféricos y 2 filamentos simples centrales, o sea un total de 11 filamentos paralelos. Su diámetro ( $15 \text{ m}\mu$ ) y su distancia ( $50 \text{ m}\mu$ ) varían poco. Generalmente no están relacionados entre sí, salvo, a veces, a nivel de los corpúsculos basales. Como el filamento central es doble, existe una simetría bilateral.

Ciertos apéndices celulares muy diferentes revelan ser flagelos o ciliias modificados. El mejor ejemplo es el de los bastones que coronan las células sensibles de la retina.<sup>6</sup> Nada en ellos recuerda la estructura de los elementos vibrátiles, salvo el hecho de que, en un lugar en que se estrangulan entre dos segmentos, 9 filamentos paralelos forman un cilindro.

Ignoramos absolutamente la causa de la regularidad de esta disposición, de la que no se conoce ninguna excepción. ¿Por qué 9 elementos, y no 8 u 11? Si se apretaran unas contra las otras fibras del mismo diámetro, la geometría impondría 6 periféricas y una central. Pero estas fibras no se tocan. Todo lo que se puede decir es que esta estructura debe ser particularmente eficaz, dada su ubicuidad.

Mientras que todos los movimientos descritos hasta aquí son apenas sensibles al ojo, y algunos hasta demasiado lentos como para ser percibidos, por éste es necesario filmar en cámara lenta los movimientos de los de los órganos vibrátiles para poder analizar su desplazamiento. Las ciliias, por ejemplo, baten de 10 a 20 veces por segundo.

Los flagelos parecen moverse como látigos, presentando muchas curvaturas simultáneas. Describen generalmente una hélice, y sus deformaciones obedecen a leyes matemáticas, que pueden establecerse mediante registros fotográficos (fig. 21). Se

<sup>6</sup> No confundir estos bastoncitos con los que forman los centriolos que son incomparablemente más pequeños.

contraen de manera activa, y no son simplemente movidos por un aparato motor situado en su base.

Las ciliias son más rápidas aún, y presentan curvaturas en un solo sentido a la vez y, por lo general, en un solo plano determinado por la simetría bilateral que separa los dos filamentos centrales. En este plano, cada cilia tiene un ligero retardo

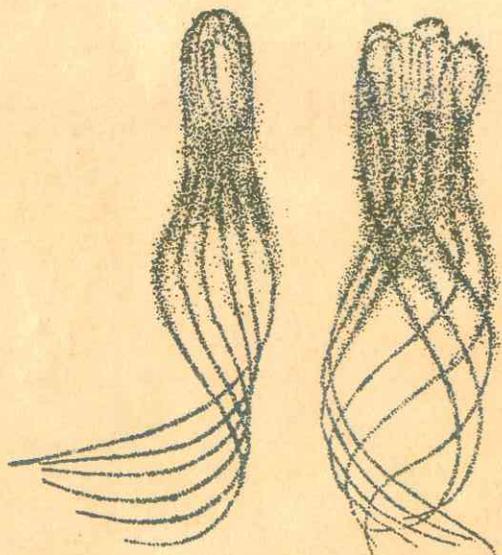


FIG. 21. Movimientos de la cola de un espermatozoide del toro. Fotografías sucesivas con flash electrónico sobre film inmóvil, a intervalos de 1/80 de segundo. Cada imagen muestra 6 a 8 posiciones sucesivas de la misma célula durante un tiempo total algo inferior a 1/10 de segundo. (Según Gray, *J. exp. Biol.*, 35, 96, 1958.)

sobre la que la precede, provocando así en su superficie ondas que se desplazan (fig. 22) como las que se ven sobre un campo de trigo cuyas espigas ondulan bajo la acción del viento (piénsese solo como imagen, ya que las ondulaciones son aquí producidas por movimientos activos de las ciliias). Gracias

a estas ondas, y dado que el batido es más rápido en un sentido que en el otro, los protozoarios ciliados avanzan rápidamente.<sup>7</sup> Las ciliias de nuestras vías respiratorias producen un desplazamiento de mucus



FIG. 22. Movimientos de las ciliias. Toda una hilera vista en un único momento. Luego de algunos milisegundos, cada cilia tomará la inclinación que tenía precedentemente su vecina de la izquierda, y así sucesivamente, lo que desplaza las ondas de la superficie hacia la derecha. (Según Verkorn, 1890, en Bargmann, *Histologie*, Thieme, Stuttgart, 1956.)

hacia lo alto; la mayor parte del polvo que se adhiere a él es así expulsado, en lugar de penetrar hasta el pulmón.

Muy poca cosa se conoce con respecto a la composición química y al mecanismo de movimiento de los órganos vibrátiles. De ciliias aisladas se han extraído proteínas y un poco de nucleótidos. Como las fibras musculares, pueden hidrolizar los grupos fosfato del ATP y, sobre todo, de otro nucleótido, el adenosín-5'-fosfato. Si se agrega ATP a flagelos aislados, ondulan. En esto, inclusive, se asemejan a las proteínas aisladas de los músculos, que se contraen en presencia de este metabolito.

En las células animales, los centriolos y sus derivados, kinetosomas y corpúsculos basales, son los únicos elementos de los que se puede afirmar su continuidad genética, sobre la base de observaciones precisas. Es característico que los vegetales superiores que no poseen centriolos no tengan tampoco ciliias ni flagelos. La uniformidad de estas estructuras se halla de acuerdo, igualmente, con la idea de la autoduplicación.

<sup>7</sup> Un paramecio avanza de 4 a 6 veces su longitud, por segundo. Un nadador olímpico solo hace una vez su longitud en el mismo tiempo.

células, lo que indica, a falta de una estructura bien precisa, por lo menos un ordenamiento molecular regular. El microscopio electrónico prácticamente no aporta más informaciones. Muestra, en el límite del citoplasma, una línea doble o mejor dicho dos líneas separadas por un espacio claro de espesor constante (ver un ejemplo en el límite de un flagelo, fig. 19).

A falta de indicaciones morfológicas, es necesario basarse en consideraciones fisicoquímicas indirectas para comprender la naturaleza de esta membrana. Cuanto más soluble es una molécula en los solventes de las grasas, con más rapidez penetra en la célula. Esta regla se aplica a tan numerosas sustancias que es lógico admitir una concentración lipídica elevada al nivel de la membrana. Pero el agua, así como numerosas sustancias insolubles en los lípidos, la atraviesa también rápidamente. Es, por lo tanto, imposible que haya allí solo sustancias no miscibles en agua. La tensión superficial de las células, excepcionalmente baja, no podría obtenerse si la superficie estuviera compuesta solo por lípidos. Se ha emitido la hipótesis de que la membrana contiene también proteínas. El esquema siguiente, generalmente admitido, parece ser el más verosímil: dos capas de moléculas lipídicas se orientan perpendicularmente a la superficie, enfrentándose por sus cadenas hidrocarbonadas (hidrófobas), mientras que sus extremidades hidrófilas se hallan duplicadas por ambos lados por moléculas proteicas, también hidrófilas. La doble línea, observada a veces en el microscopio electrónico, sería el signo visible de este ordenamiento, habiéndose disuelto los lípidos durante la preparación de los cortes.<sup>1</sup> El conjunto estaría interrumpido de tanto en tanto por poros enteramente proteicos. Resultaría tentador identificar algunos de estos poros con los lugares en que el retículo endoplásmico desemboca al exterior (ver pág. 43).

<sup>1</sup> Ya se ha propuesto una disposición análoga para la capa superficial de las mitocondrias (pág. 55). Este

## I. La membrana y los fenómenos osmóticos

Si se separan dos soluciones por intermedio de una membrana permeable al solvente —generalmente agua—, pero no a determinadas sustancias disueltas, se produce un pasaje del solvente hacia la solución más concentrada, lo que la diluye. La solución cesa de aumentar de volumen cuando la *presión osmótica* allí creada contrabalancea exactamente la fuerza tendiente a hacer penetrar nuevas moléculas de solvente. Esta presión expresa la concentración global de la solución en partículas disueltas de todas las especies (moléculas, iones, micelas diversas, etc.) que no puede atravesar la membrana. Este fenómeno físico es absolutamente general.

Siendo la membrana celular impermeable a ciertas sustancias, puede producirse una diferencia de presión osmótica entre el citoplasma y el medio externo. En un medio más diluido que el citoplasma (hipotónico), la célula se hincha por absorción de agua. Por el contrario, se contrae en una solución más concentrada (hipertónica). Estas modificaciones de volumen son tan constantes y tan precisas que se podrían emplear glóbulos rojos, por ejemplo, para medir la concentración osmótica de ciertas soluciones.

Normalmente, la mayor parte de las células animales vive en un medio interno (sangre, líquidos tisulares) isotónico, es decir, de presión osmótica idéntica a la del citoplasma. La difusión del agua a través de la membrana se equilibra en los dos sentidos, y el volumen celular no tiende a cambiar.

Las células vegetales, por el contrario, están en contacto con agua (dulce o inclusive salada), cuya concentración es generalmente mucho menor. ¿Por qué las células no se hinchan hasta estallar? Los vegetales han resuelto este problema gracias a los dos elementos que distinguen morfológicamente a sus células de las de los animales: la vacuola central y la pared celulósica (fig. 3). La absorción de agua es inevitable y las células vegetales la acumu-

género de ordenamiento molecular sería frecuente en las membranas biológicas.

lan en la vacuola central, que contiene el 75% del agua celular y que rechaza al citoplasma contra la pared. El citoplasma vuelca en la vacuola sustancias disueltas que equilibran su propia presión osmótica.<sup>2</sup> La entrada de agua llena y distiende aun la caja formada por la pared celulósica, permeable pero rígida. El conjunto no puede aumentar de tamaño y, por lo general, la célula se pone turgente. De esta manera el citoplasma puede mantener una concentración más elevada que el medio. El agua de la vacuola contiene sobre todo glúcidos simples, iones y algunos ácidos orgánicos, cuya cantidad global puede ajustarse a las necesidades. La vacuola sirve al mismo tiempo de reserva de ciertas sustancias.

Los protozoarios, que no tienen pared celulósica rígida que les impida hincharse, resuelven el problema de otra manera. Poseen una o varias *vacuolas pulsátiles*, más o menos complejas. El agua absorbida (por ósmosis o de alguna otra manera) penetra en la vacuola, rodeada por una porción contráctil del citoplasma. A intervalos más o menos regulares, la vacuola se contrae y vuelca su contenido en el exterior. Se estima que un paramecio arroja así su peso de agua cada 20 minutos aproximadamente. La frecuencia de las contracciones es tanto mayor cuanto más diluido sea el medio externo. Por el contrario, la vacuola desaparece a veces en un medio muy concentrado. Estos hechos demuestran perfectamente su papel antiosmótico. Los protozoarios marinos o los protozoarios parásitos no poseen por lo general estas vacuolas: como viven en medios muy concentrados, no las necesitan.

## II. Permeabilidad celular

Todo demuestra que se opera una selección de las sustancias disueltas en contacto con la célula. Algunas penetran fácilmente, otras lentamente, o

<sup>2</sup> Una membrana —o un ordenamiento molecular

hasta son totalmente detenidas. No podemos aquí ocuparnos de este asunto, recientemente renovado por el estudio de la penetración de moléculas marcadas por radioisótopos. La sola enumeración de los factores que intervienen, indudablemente, mostrará lo difícil del problema: la difusión de sustancias de composición química análoga es tanto más fácil cuanto menor sea el tamaño de su molécula; ya hemos mencionado el papel de la solubilidad en los lípidos; la repartición de los iones (partes de moléculas cargadas eléctricamente) a cada lado de la membrana obedece, en parte, al equilibrio Donnan.

Hay importantes excepciones a todas las reglas físicas que rigen el transporte pasivo. Por ejemplo, los aminoácidos penetran más rápido que otras moléculas más pequeñas: mientras los iones sodio son más abundantes que los iones potasio en el exterior de la célula, sus concentraciones respectivas se hallan invertidas en su interior. Por difusión, las concentraciones tiene tendencia a equilibrarse, pero existe un mecanismo, aún mal conocido, que gasta energía para expulsar el sodio al exterior e impedir la salida de potasio. El pasaje de ciertas sustancias (azúcares, fosfatos, otros iones, etc.) es también un transporte activo que necesita un gasto de energía. Su penetración se ve facilitada por la acción de determinadas enzimas (colinesterasa, fosfatasa, etc.) situadas en el interior de la membrana o cerca de ella.

## III. Pinocitosis

Ciertas moléculas que se introducen paradójicamente en la célula penetran, con el agua, por un curioso fenómeno: la pinocitosis. En los histiocitos vivos (células conjuntivas capaces de fagocitar) se puede seguir al microscopio y filmar el envolvimien-

superficial— separa citoplasma y vacuola. Sus propiedades son diferentes a las de la membrana plasmática.

, por repliegues ondulantes de la membrana, de gotas del medio líquido y su penetración en el citoplasma. En las amebas la superficie se invagina para formar una especie de cavidad en el cuerpo celular; el fondo de este pozo se estrangula y se separa en una o varias pequeñas vacuolas. Estas tienen, al comienzo, la misma composición que el medio exterior. Las vacuolas sostienen extraños intercambios con las mitocondrias. Arrastradas por las corrientes citoplasmáticas se desplazan eventualmente a muchos micrones de distancia, se fusionan a veces, disminuyen de tamaño y se concentran generalmente en la zona de Golgi antes de desaparecer completamente

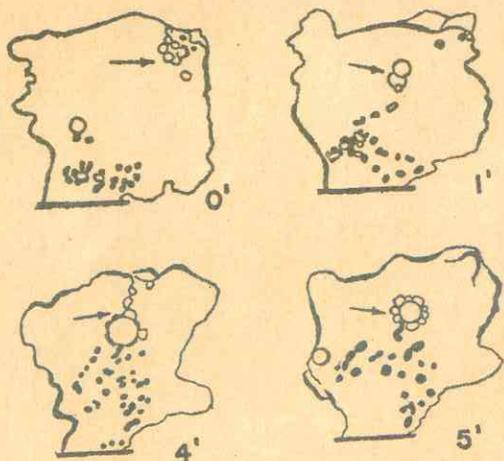


Fig. 23. Pinocitosis en un histiocito. Vistas sucesivas de la absorción de la misma célula, extraídas de un film. Tiempo en minutos. La flecha indica el mismo grupo de vacuolas y sus modificaciones. Se reabsorben (abajo) o se forman (borde izquierdo) otras vacuolas. (Según Lewis, 1931, en Chevremont, *Cytologie et histologie*, Desoer, Liège, 1956.)

(fig. 22). Este fenómeno, conocido desde hace mucho tiempo en algunos tipos celulares, pareció una curiosidad. Desde hace algunos años se reconoce su importancia; se lo encuentra en las células más di-

versas (nerviosas, cancerosas, protozoarios, vegetales, etc.). Además, en tejidos cuya función principal es la absorción (intestino, riñón, por ejemplo) el microscopio electrónico muestra vesículas submicroscópicas bastante parecidas a las precedentes, salvo por el tamaño, y próximas a la membrana celular. Estas vacuolas están a veces relacionadas con el exterior por un cuello más estrecho. Se considera que son el signo de una micropinocitosis fuertemente activa.

En todos estos casos, la célula "bebe" literalmente el líquido que la rodea. La cantidad absorbida en algunas pocas horas puede ser igual a muchas veces su volumen. El agua es inmediatamente expulsada, ya sea por difusión a través de la membrana (vertebrados) o por excreción a partir de la vacuola pulsátil (protozoarios). En la ameba, la presencia de proteínas en el medio aumenta la pinocitosis. Si se hace radiactivas o fluorescentes a estas proteínas, se puede seguir su penetración en las vacuolas y su absorción, sobre la porción de la membrana plasmática que constituye su pared. Ésta disminuye y desaparece, fundiéndose en el citoplasma y arrastrando con ella las grandes moléculas absorbidas. En la ameba, en todo caso —y quizá en otras células—, la pinocitosis explica la penetración paradójica de proteínas, como, por ejemplo, la enzima ribonucleasa.

## LA DIVISIÓN CELULAR

Las células proceden siempre unas de otras por una división que es uno de los fenómenos más fundamentales de toda la biología. Este proceso es igualmente esencial desde los puntos de vista de la genética, la embriología y la patología.

Como vamos a ver, la *división celular* o *mitosis* se acompaña de modificaciones nucleares extremadamente notables e idénticas en la gran mayor parte de los casos. Aparecen *cromosomas*, se agrupan, se separan en el curso de una especie de ballet de finalidad en extremo precisa: repartir de manera igual entre las dos células hijas la información hereditaria contenida en los núcleos. Este fenómeno tan bien reglamentado, cuya frecuencia es controlada en un tejido normal, puede volverse incoherente, descontrolándose su ritmo: tenemos entonces un cáncer. No hace falta subrayar la imperiosa necesidad que enfrenta la medicina moderna de comprender lo que sucede en este caso.

La mitosis dista de ser un fenómeno simple. Describiremos en primer lugar su desarrollo, tal como aparece en la célula viva. A este bosquejo morfológico añadiremos luego aspectos más particulares.

## I. El film de la mitosis

Los medios técnicos modernos, el cultivo *in vitro* el contraste de fase, la microcinematografía, permi-

ten seguir en detalle las imágenes sucesivas de la división celular. Pocos citólogos pueden permanecer indiferentes cada vez que observan una mitosis, y los *films* de vulgarización que la muestran captan vivamente el interés de todos los públicos.

Describamos la mitosis en un fibroblasto de vertebrado superior, en cultivo a 37°C. En la *profase*, la cromatina nuclear se vuelve cada vez más visible. Sus granulaciones se alinean y luego se transforman en filamentos muy delgados, embrollados, bien distintos, en primer lugar, cerca de la membrana nuclear y, luego, en el centro del núcleo: los *cromosomas* (fig. 24 B y C; fig. 25, A). Los cromosomas se vuelven cada vez más nítidos, se engrosan y se acortan. Durante este tiempo, un principio de irradiación (áster) rodea a los dos centriolos, que se separan y se deslizan hacia los dos polos del núcleo, formando un *huso* que se alarga.<sup>1</sup> Si la célula estaba previamente extendida, tiende a replegarse sobre sí misma y a volverse más esférica. Luego de 10 ó 15 minutos aproximadamente, se ve bruscamente que la membrana nuclear se disuelve y desaparece. Casi al mismo tiempo, el nucleolo se diluye y desvanece. Es el fin de la profase.

Al comienzo de la *prométafase*, un grupo de cromosomas más o menos enredados, a quienes ya nada separa del citoplasma, ocupa el lugar del núcleo. Los rayos que parten de los centrosomas atraviesan esta región de la célula (fig. 24, D). Los cromosomas continúan acortándose y engrosándose; se comienza a ver en ellos una división longitudinal, así como un lugar en que se hacen más delgados, el *centrómero*, lugar por el que cada uno se une al huso. Los cromosomas son desplazados por el huso en un vaivén continuo, hasta que se quedan quietos (algo más de un cuarto de hora). Los movimientos propios de las mitocondrias se reducen, sin duda, a causa de una mayor rigidez del citoplasma. Algunas

<sup>1</sup> Los ásteres y el huso no se ven por contraste de fase. Es necesario: o fijar y colorear la célula, u observarla viva al microscopio de luz polarizada.

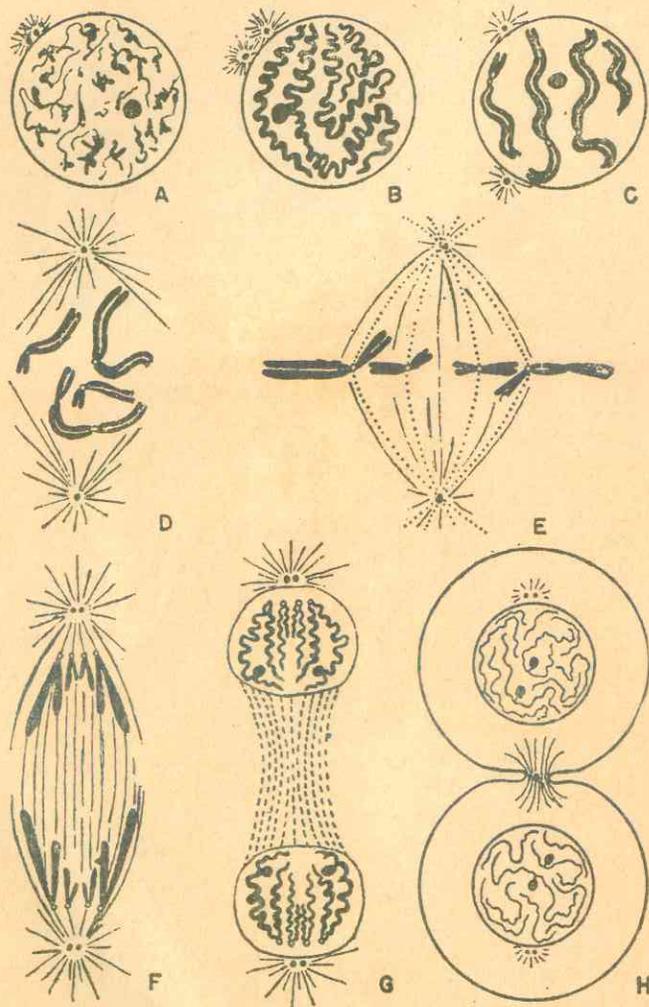


FIG. 24. Esquema general de la mitosis. El centrómero se representa por un circulito blanco sobre los cromosomas. Salvo en H, se omite el contorno celular. A: núcleo intercinético; B y C: dos estadios de la profase; D: prometafase; E: placa ecuatorial; F: anafase; G: telofase; H: estrangulamiento y reconstrucción. (Según de Robertis y colab., *General Cytology*, Saunders, Philadelphia, 1960; *Citología general*, El Ateneo, Buenos Aires, 1961.)

adelgazan, se fragmentan, se distinguen cada vez menos o inclusive parecen desaparecer.

Bruscamente, cuando todos los cromosomas se han fijado al huso, se inmovilizan en una *placa ecuatorial*, perpendicular a la línea que une los dos polos constituidos por los centriolos (fig. 23, E y 24 B). En esta placa, los cromosomas extienden sus brazos hacia el exterior; el centro está ocupado por el huso, al que se fijan los centrómeros. Durante el curso de esta verdadera *metafase*, bastante corta, la superficie celular comienza a manifestar una extraña actividad; estalla bruscamente en hinchazones o burbujas, que luego se reabsorben más lentamente hacia el interior. Esta efervescencia cada vez se volverá más activa. Este efecto es particularmente espectacular en los *films* que aceleran todos los movimientos.

Tan súbitamente como se inmovilizan en una placa ecuatorial, los cromosomas se separan en dos grupos que se dirigen hacia los polos. Cada uno se divide longitudinalmente en dos, y sus mitades (o *cromátidas*) comienzan a separarse a nivel del centrómero. Durante este viaje hacia los polos o *anafase*, los dos grupos que se alejan forman una la imagen exactamente especular del otro (fig. 24, F, y 25, C). Bastante rápido al principio, el movimiento se torna más lento cuando los cromosomas se aproximan a los polos, que continúan separándose, pues la célula se alarga. La efervescencia periférica es intensa. La anafase es el más corto de los estadios de la mitosis, y raramente dura más de 5 a 8 minutos.

Una vez reunidos los cromosomas en abanico alrededor de cada polo, la parte media de la célula se estrangula en el plano en que se encontraba la placa ecuatorial. Durante esta *telofase*, los cromosomas se hinchan, se vuelven menos nítidos, se unen a veces temporariamente, y luego comienzan a presentar, en sentido inverso, la serie de los aspectos que habían presentado en la profase. En contacto con un segmento bien determinado de uno de los

cromosomas, el organizador nucleolar, nacen uno o varios nucleolos. La membrana nuclear reaparece por segmentos<sup>2</sup> alrededor de la zona en que se ha-

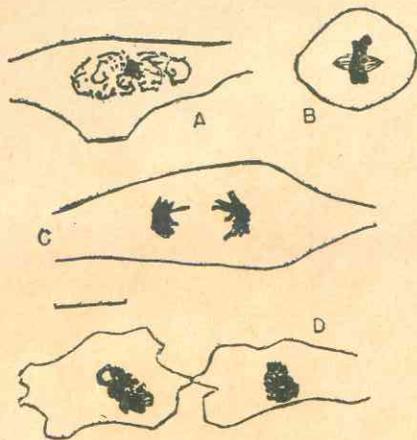


FIG. 25. Imágenes de mitosis en fibroblastos (simplificadas, según fotos). A: profase; el nucleolo en el centro; los cromómeros están más coloreados que el resto de los cromosomas; la membrana nuclear no se pone en evidencia por esta técnica. B: placa ecuatorial vista de perfil; los cromosomas se superponen unos sobre otros y no son individualizables bajo este plano de incidencia; el huso es nítido. C: fin de anafase; no se ve más el huso, y solo son visibles los dos polos; D: telofase. El trazo horizontal = 10  $\mu$ .

llan reunidos los cromosomas, y el núcleo se separa nuevamente del citoplasma. Durante este tiempo prosigue el estrangulamiento medio, que constriñe cada vez más estrechamente las fibras directas del huso que van de un polo al otro. El huso se esfuma, mientras las mitocondrias aumentan de contraste a la vez que retoman sus movimientos. Las mitocondrias se reparten al azar —de acuerdo con el lugar

<sup>2</sup> El microscopio electrónico muestra que se reconstituye por un alineamiento de dobles membranas del retículo endoplásmico.

en que se encuentren— entre las células hijas, cuyos citoplasmas no se hallan reunidos finalmente más que por un delgado cordón que contiene un corpúsculo más refringente (fig. 24, H, y 25, D). La actividad periférica origina burbujas más pequeñas y luego desaparece. Los citoplasmas se apartan uno del otro y se expanden de nuevo. La telofase dura alrededor de 20 minutos.

Durante largo tiempo todavía el condrioma se reconstituye y el núcleo guarda un aspecto granuloso; al cabo, la célula no se distingue ya de sus vecinas.

En estos fibroblastos, a 37°C, el conjunto del fenómeno dura alrededor de una hora, excluida la reconstrucción.

Es de destacar la universalidad de la mitosis. Sus imágenes se encuentran idénticas en nuestro intestino o nuestra epidermis, como en los grandes blastómeros procedentes de los huevos fecundados. Se la estudia muy bien, asimismo, en la raíz de haba, el neuroblasto de la langosta, la cola de la salamandra o el huevo de áscaris. En los microbios se han descrito inclusive imágenes análogas. La mitosis, sin duda, apareció muy temprano en el curso de la evolución y, gracias a su eficacia, casi no ha debido modificarse en los diversos órdenes. Sin embargo, la duración del fenómeno varía y ciertos detalles difieren.

En ciertos tipos celulares (erizo de mar, por ejemplo), los centriolos —divididos en la anafase— se separan ya en la telofase y van hacia los dos polos del núcleo intermitótico (o en interfase). En el momento de la profase de la siguiente división, se forman anchos ásteres alrededor de cada uno de los centriolos, pero el huso propiamente dicho no aparece hasta después de la desaparición de la membrana nuclear.

En los vegetales que no tienen centro celular, el huso nace en forma de dos casquetes situados en ambos extremos del núcleo en la profase. Ningún centriolo demarca los polos cuando el centro celular se extiende a través de la región nuclear en la prometafase. En la telofase, el huso se reduce cerca de los núcleos que se reconstituyen. Por el contrario, se ensancha en la región que había ocu-

pado la placa ecuatorial y donde se va a formar la placa celular que separará las dos células hijas.

La mitosis de los protozoarios presenta generalmente aspectos desconcertantes a primera vista. En la mayor parte de ellos la membrana nuclear no desaparece, y toda la evolución de los cromosomas se realiza en el interior del núcleo. Después de la separación de las cromátides, el núcleo se estrangula y se divide en dos. Ciertas especies tienen, como los metazoarios, un verdadero huso y un estado de placa ecuatorial. En otras especies, los cromosomas se insertan del mismo lado sobre la membrana nuclear o en la base de un cono fibrilar salido del centrosoma. Luego de su bifurcación, los cromosomas marchan hacia las dos extremidades del núcleo sin pasar por un estado metafásico (pleuromitosis).

Cualesquiera que sean las variantes, hay un hecho muy general y muy importante. El número de cromosomas que aparecen en el momento de las divisiones celulares es siempre el mismo en una especie dada (pág. 30). La forma de cada uno de ellos en la metafase es también característica (pág. 104). Dado que los cromosomas se dividen longitudinalmente en dos y que una mitad va a un polo y la otra al otro polo, *cada célula hija recibe la mitad de un cromosoma o cromátide de cada especie*. El estudio del comportamiento del ácido desoxirribonucleico nos va a revelar que el proceso morfológico oculto otro, de carácter químico, más preciso aún.

## II. Evolución y repartición del ADN

Ya hemos descrito la estabilidad metabólica y la constancia cuantitativa del ADN en los núcleos de las células que *no se dividen*. Todo cambia en los tejidos en crecimiento en que hay divisiones celulares. En este caso se encuentran, como en los tejidos en reposo, núcleos con 2 complementos (2 C) de ADN, pero también núcleos con 4 C, y algunos con valores intermedios. Además, las células incorporan activamente en su núcleo precursores radiactivos como la timidina tritiada (pág. 31 y fig. 26). En inmensa mayoría de los casos, esta incorporación

la síntesis del ADN hasta el valor de 4 C de la cual dicha incorporación constituye un signo y ocurre en un tiempo relativamente corto, pocas horas an-

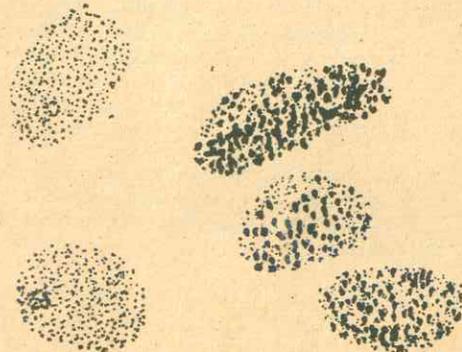


Fig. 26. Autorradiografía después de una incorporación de timidina tritiada en un cultivo de células en crecimiento activo. Tres núcleos se encuentran cubiertos de granos de plata irregularmente distribuidos. Los mismos han sido impresionados por la radiación emitida por los átomos de tritio. Otros dos núcleos dan una reacción negativa. Aumento: 1.600 X.

tes de la mitosis. La evolución de las histonas es paralela a la del ADN. Un período *preprofásico*, que no se manifiesta por ningún signo morfológico particular, sigue a dicha síntesis. El conjunto de los cromosomas profásicos tiene 4 C de ADN, y cada célula hija recibe 2 C. En el curso de la división, esta sustancia se reparte exactamente, pero no sufre ninguna modificación química. La síntesis del ácido desoxirribonucleico se produce en un momento distinto al del proceso mecánico de su separación en dos partes iguales. La mitosis es así el aspecto morfológico, terminal, de un fenómeno comenzado varias horas antes.

La igualdad de repartición del ADN es más precisa aún que lo que muestran los movimientos de los cromosomas. Se puede evidenciar esto marcando el ADN cuando se sintetiza en la célula y luego estudiando su dis-

tribución en el curso de las divisiones ulteriores (fig. 27). En la primera metafase que sigue todos los cromosomas ya son radiactivos. Si se interrumpe, entonces, la provisión de timidina tritiada, el ADN sintetizado antes de la división siguiente no estará marcado. En el momento de la metafase de la división siguiente, la distribución de la radiactividad indicará, por lo tanto, el destino del ADN formado antes de la división precedente. En este momento se ve que en cada cromosoma está marcada una de las dos cromátides. Como lo indica la figura 27, esto significa que cada cromátide está constituido por dos filamentos<sup>3</sup> de ADN, uno de ellos recién formado y el otro más viejo. En otras palabras, los dos filamentos sintetizados juntos antes de una mitosis no permanecen ambos en un mismo cromosoma anafásico, sino que se separan y van a dos células diferentes.

La significación esencial del mecanismo mitótico es ahora perfectamente clara. El ADN sintetizado antes de la mitosis se divide exactamente entre

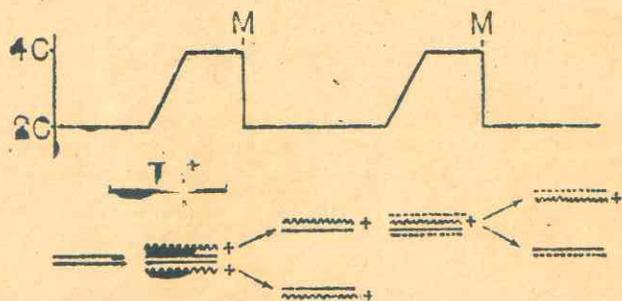


FIG. 27. Repartición de los filamentos de ADN recientemente sintetizados. La línea superior indica las modificaciones del tenor global en ADN en el curso de 2 ciclos mitóticos sucesivos. La preprofase precede la mitosis (M). T+: tiempo durante el que se aporta timidina tritiada como precursor. Abajo, evolución de un cromosoma durante el mismo período. Los filamentos sintetizados al mismo tiempo se representan de igual manera (línea ondulada o punteada). Los que presentan radiactividad están marcados con una cruz. Luego de la primera división, la cromátide inferior pasa a otra célula y sufre la misma evolución (no representada). (Modificado, según Taylor y colab., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 43, 122, 1957.)

<sup>3</sup> O dos grupos de filamentos.

las dos células hijas. Como cada cromosoma se hien- de también exactamente, la repartición cualitativa del ADN es también perfectamente igual. Pero, además, las células nacidas de una división reciben la misma cantidad de moléculas de ADN nuevas (re- cién sintetizadas) y viejas. Es imposible llevar más lejos el sentido de igualdad entre las células hijas.

Es evidente que toda la mitosis tiende a este objeto, esencial para la existencia normal de las células. Su im- portancia se evidencia a *contrario* en el caso anormal en que se produce una división sin una repartición rigurosa. Se puede ver a veces que el núcleo se estrangula sim- plemente y se corta aproximadamente en dos. En este caso ni el ADN ni los cromosomas pueden ser distribuidos en forma exacta en este caso. Este fenómeno, llamado *amitosis*, fue considerado antes normal. Es en cambio pa- tológico o terminal, ya que las células hijas que eventual- mente se producen están condenadas a no poder dividirse a su vez.<sup>4</sup> Se ha podido decir que "la amitosis es el toque a muerte por la célula".

### III. Mecanismos particulares

Si los biólogos se han aplicado a comprender los mecanismos que concurren al desarrollo de la mito- sis, no es solo por deseo de saber científico, sino tam- bién para poder, a voluntad, modificarla, estimularla o bloquearla, según las necesidades.

1. *Preprofase y necesidades energéticas.* Una vez sintetizado el ADN, la mitosis no se produce a continuación ni inmediatamente ni en forma auto- mática. Un período profásico bien definido separa estos dos fenómenos (fig. 27, arriba).

Muchos procedimientos experimentales sugieren la importancia del papel del ARN nuclear durante este período preparatorio. Es necesario, sin duda, destacar que el tenor del núcleo en ARN es máximo

<sup>4</sup> Un caso particular es el de los macronúcleos de los protozoarios ciliados. Estos animales poseen 2 núcleos, de los cuales el más pequeño (micronúcleo) se divide por mitosis y es particularmente el depositario de la herencia.

n la ameba al comienzo de la división. En otras especies, los cromosomas están a menudo cargados de ARN en la profase y la metafase y lo liberan en forma de reguero detrás de ellos en la anafase.

El papel principal de la preprofase es probablemente el de permitir a la célula acumular la energía necesaria para las fases siguientes.

Se ha observado, en efecto, que la adición de toda una serie de sustancias nocivas a los sistemas energéticos no detiene las mitosis ya comenzadas. La célula tiene "provisiones" suficientes de energía. Pero tales venenos pueden retardar o impedir la aparición de nuevas divisiones. El óxido de carbono (CO), que inhibe la respiración, produce en la división del huevo de erizo de mar un retardo igual a la duración de su aplicación. En diversos tipos celulares, la duración del período preprofásico es característica. Este período no es más corto cuando se siguen rápidamente dos divisiones que cuando las separa un largo período intermitótico. La manera más lógica de interpretar estos resultados es la de suponer que la célula carga durante la preprofase un "reservorio" de energía. Una vez lleno éste, se produciría la mitosis. ¿En qué forma se encontraría esta energía? Alternativamente, se pensó en la glucosa y en el ATP. Es curioso comprobar que en los mamíferos, el número de mitosis es generalmente más elevado en los momentos en que los animales se hallan en reposo (noche o día, según las especies), en los cuales la tasa de glucosa en la sangre es más elevada.

2. *La evolución de los cromosomas.* Deberíamos estudiar aquí la evolución de los cromosomas, en relación con la división celular. Pero los cromosomas son unos elementos tan importantes que les consagraremos todo un capítulo (Capítulo VIII, pág. 102).

3. *El huso y el movimiento de los cromosomas.* El huso o aparato acromático, así llamado porque en los cortes se colorea mucho menos vivamente que los cromosomas, es una de las formaciones más características de la mitosis. La birrefringencia positiva que presenta demuestra la existencia, a su nivel, de una

El macronúcleo se divide por amitosis, degenera y desaparece periódicamente.

orientación molecular. Las agujas del micromanipulador pueden estirarlo y demuestran en él una viscosidad importante en la metafase, aunque se haya fracasado al actuar sobre el huso para arrastrar los cromosomas en él adheridos. Estas observaciones sugieren que las moléculas orientadas no forman en este caso una "estructura" en el sentido morfológico del término.

El huso se halla particularmente desarrollado en los huevos en segmentación, que se dividen muchas veces seguidas. Se ha logrado aislarlo de huevos de erizo de mar, "estabilizándolo" y dispersando luego el citoplasma por medio de detergentes naturales. El huso está, entonces, constituido por dos proteínas que forman cerca del 12% del total de las células del huevo. Tales proteínas se encuentran, además, entre las divisiones. El huso es, por lo tanto, el resultado de la orientación, a partir de los centriolos, de proteínas preexistentes.

Es el huso quien produce el desplazamiento anafásico de los cromosomas.

Las fibras se hacen más rígidas y se acortan entre los cromosomas y los polos, mientras su parte central se desorganiza y se alarga.

Se conoce bastante mal el mecanismo químico de las modificaciones del huso acromático. La obligación de explicar dos movimientos contradictorios no simplifica el problema. Es cierto que las distribuciones del azufre reducido (-SH) y del azufre oxidado (-S-S-) de las proteínas se modifican según ciclos bien definidos. El aumento de los enlaces -S-S- entre cadenas de aminoácidos debe aumentar la rigidez en ciertos estadios. Es también bastante probable una intervención del ARN que los cromosomas liberan tras de sí en la anafase.

Muchas sustancias químicas desorganizan al huso, o inclusive le impiden formarse. Bajo la acción de la colchicina, por ejemplo, la metafase se prolonga durante horas y el desplazamiento de los cromosomas hacia los polos es imposible.<sup>5</sup>

<sup>5</sup> La colchicina actúa sobre el huso en concentra-

4. *División del citoplasma (citodiéresis)*. El estudio de los tan notables fenómenos nucleares de la mitosis no debe hacernos olvidar que su objeto final es el de fabricar dos células a partir de una sola. La separación en dos del citoplasma ha sido menos estudiada que otros aspectos de la división. La citodiéresis se presenta bajo formas variadas. En los vegetales, en la parte ensanchada del huso —en el lugar donde luego se ubicarán los cromosomas— se alinean partículas para formar la membrana celular de separación entre las dos células hijas que quedan en contacto. En los huevos en segmentación más o menos esféricos, se dibuja un surco en el plano en que se cruzan las fibras de los dos ásteres. Este surco separa los blastómeros. En fin, en las células más o menos extendidas que presentan un burbujeo periférico, el citoplasma se alarga y un estrangulamiento local separa las dos mitades que se apartan. En todos los casos, hay aumento de superficie global, y la separación se efectúa siempre en el plano ocupado precedentemente por la placa ecuatorial. Parece que sustancias antes ocultas se incorporan a la membrana celular, sobre todo al polo. El huso orienta las modificaciones de la membrana.

La citodiéresis es independiente, al menos en forma parcial, de los fenómenos nucleares. Algunos tóxicos pueden impedir la evolución del huso y de los cromosomas. Se obtienen, entonces, células de dos núcleos. Por el contrario, en otros casos en que se retarda o bloquea la separación de los cromosomas, la división citoplasmática tiende a realizarse, siempre que haya desaparecido la membrana nuclear. Parece ser que no es posible la extensión de la superficie si ciertas sustancias provenientes del núcleo no alcanzan la membrana nuclear.

ciones de uno en un millón si bien no posee ninguna otra acción sobre las células. Las células ya no se dividen; no son afectadas ni por concentraciones mil veces más elevadas de dicha sustancia. La colchicina es el prototipo de los venenos mitóticos, y fue el primero en ser descubierto.

La división celular comprende dos fenómenos distintos: una síntesis de moléculas y organoides suficiente para cubrir las necesidades de dos células y una segregación de los mismos con repartición en dos territorios separados. Hemos mostrado para el ADN que estos dos acontecimientos suceden en momentos diferentes. Esto también rige para todos los demás elementos de la célula. Durante la mitosis propiamente dicha hay pocas o no hay síntesis celulares; ni el ARN ni las proteínas son reformadas. En realidad, cuando ocurre el fascinante ballet de los cromosomas el metabolismo celular se parece al de una célula anucleada. Todo lo que debe duplicarse es fabricando previamente (ADN, proteínas, mitocondrias) o posteriormente (nucleolos, centriolos). Mecanismos diferentes son puestos en movimiento para producir cada uno de estos sucesos. Si bien estos mecanismos se condicionan más o menos unos a otros con el fin de que el resultado total sea armonioso, los mismos son, en parte, independientes. Se puede actuar sobre la mitosis sin suprimir la duplicación del ADN, se pueden romper los cromosomas sin afectar el huso, se puede bloquear el nucleolo sin modificar la división y desorganizar el huso sin impedir el hendidamiento de los cromosomas o la división del citoplasma. Por el contrario, la división no puede comenzar si el ADN no se ha sintetizado o si las mitocondrias no se hallan en buen estado.

Estudiando el resultado de bloqueos lo más limitados posibles, pueden descubrirse poco a poco las relaciones obligatorias facultativas entre un gran número de procesos, de los cuales muchos se producen en un momento en el cual la célula no muestra exteriormente ningún signo de división.

En los tejidos en activo crecimiento, las células pasan por toda la serie de fases del *ciclo celular* entre dos divisiones. A partir del fin de una mitosis, un nuevo ciclo comienza. Las células cancerosas presentan a menudo anomalías de la mitosis y, lo que aún es más grave, su ciclo celular no se halla más bajo el control general del organismo (ver más abajo). De ello es fácil concebir por qué, desde hace varios años, la investigación se concentra sobre el estudio de dicho control.

No se podría emplear para detener las mitosis cancerosas, ya que bloquearía también las divisiones normales, esenciales para la vida. La colchicina produce células tetraploides, lo que fue aprovechado por los agrónomos y horticultores para crear variedades nuevas de plantas, a menudo más exuberantes o más robustas.

#### IV. Regulación del número de divisiones celulares

El ritmo de las divisiones no debe solamente ser tratado al nivel de la célula individual, sino estudiado estadísticamente en cada tejido.

Al comienzo del desarrollo embrionario, en la segmentación, las divisiones se siguen con un mínimo intervalo: la telofase puede estar inmediatamente seguida de la síntesis del ADN y, luego, de un corto período preprofásico, tras lo cual la célula vuelve a dividirse. En unas pocas horas se desarrollan así muchas mitosis. El ritmo se vuelve cada vez más lento en el curso del crecimiento, y en el adulto pueden transcurrir semanas o meses entre sucesivas divisiones. Esta disminución de la frecuencia de las mitosis se acompaña de la adquisición, por parte de las células, de funciones y estructuras particulares. Algunos tejidos muy especializados (nervioso, por ejemplo) han perdido inclusive totalmente la capacidad de multiplicarse. Se tiende a afirmar que diferenciación y multiplicación celulares son fenómenos que se oponen.

El problema es más complejo. El hígado adulto no presenta normalmente más que una muy rara mitosis de tiempo en tiempo, pero a las 24 ó 48 horas después de la ablación de las dos terceras partes del órgano, se observa en el tercio restante en regeneración hasta un 10 % de células hepáticas en división simultánea.

Lo asombroso en el adulto normal no es el hecho de que haya tan escaso número de divisiones, sino que este número se adapte perfectamente a las necesidades. El número de mitosis es siempre elevado en el intestino y en la médula ósea, que fabrica las células sanguíneas, porque en ambos casos las células se gastan rápidamente, debiendo ser remplazadas. En los restantes sitios, el porcentaje de las mitosis es mucho menor. Aumenta cuando se hace necesaria una regeneración y disminuye cuando se ha cubierto el déficit. Es evidente que, en numerosos tejidos adultos, las células podrían dividirse mu-

cho más a menudo de lo que lo hacen. Normalmente se hallan inhibidas para hacerlo. ¿Cuál es la causa? Podría tratarse de la influencia de sustancias liberadas por las mismas células.

Nuestra ignorancia es bien lamentable, ya que lo que diferencia más manifiestamente a las células normales de las cancerosas es el hecho de que estas últimas sean insensibles a tales inhibiciones. Las mismas se multiplican tan rápidamente como lo permiten sus condiciones de nutrición, sin tener en cuenta en absoluto las necesidades del organismo ni el equilibrio necesario entre los tejidos.

Por mitosis las células se transmiten siempre los mismos cromosomas, las mismas moléculas de ADN y, en general, la misma herencia. Todas las amebas que descienden de una misma ameba, todas las células en cultivo nacidas de una misma célula aislada, todas las plantas nacidas de una misma planta por trasplante, se hallan en este caso, y se dice que las mismas pertenecen al mismo *clon*. Las posibilidades de variar su metabolismo de acuerdo con las circunstancias están estrechamente ajustadas por la permanencia de su material hereditario.<sup>1</sup>

Por razones oscuras, las células de un clon que existe desde hace mucho tiempo pierden a menudo su vitalidad, volviéndose menos vigorosas. Debe relacionarse este hecho con la muerte inevitable de los individuos que, por extensión, podemos también considerar como clones por haberse originado sus células unas de otras por mitosis.

En cada especie se encuentra un mecanismo destinado a hacer aparecer clones nuevos o nuevos individuos que representan nuevas combinaciones genéticas. El más extendido es la reproducción sexual: dos células, llamadas *gametas*, procedentes de dos diferentes individuos, se funden en un *huevo* o *cigota*, uniendo su patrimonio hereditario. En las especies pluricelulares, de esta *cigota* nacen uno o

<sup>1</sup> Material genético que no podría modificarse sino

varios nuevos individuos. Para evitar la duplicación, en cada generación, del número de cromosomas y la cantidad de ADN por célula, la fusión de las gametas en una cigota, o *fecundación*, debe estar compensada por una eliminación de la mitad del patrimonio hereditario de cada una de las dos células (o, lo que viene a ser lo mismo, uno de los antepasados del mismo clon). Esta eliminación se hace por dos divisiones de tipo especial que constituyen colectivamente la *meiosis*.

La meiosis, siempre complementaria de una fecundación, tiene, por lo tanto, como efecto la producción de núcleos cuyo número de cromosomas (la cantidad de ADN y el número de genes) se halla reducido a la mitad. Se parte siempre de una célula diploide y se producen cuatro haploides. Según las especies, la meiosis puede preceder inmediatamente a la formación de la cigota (animales), o seguirla inmediatamente (algunos hongos, como por ejemplo *Neurospora*) u originar individuos haploides (gametofitas) que alternan con individuos diploides (esporofitas), viviendo uno y otro más o menos durante largo tiempo. Es el caso de los vegetales en general.

En todos los casos, la meiosis tiene una importancia extrema para la transmisión de los factores hereditarios. Nos ocuparemos sobre todo aquí de los aspectos citológicos y de lo que la meiosis nos informa acerca de la estructura de los cromosomas.<sup>2</sup>

Las imágenes meióticas se parecen superficialmente a las de las mitosis ordinarias, encontrándose también en ellas profase, metafase, anafase y telofase, como en las otras divisiones. Las imágenes profásicas son particularmente abundantes. Para com-

por mutación, es decir, transformación brusca de un gene. Las mutaciones son fenómenos raros, cada una de las cuales actúa solo sobre un gene a la vez. Se necesitaría un tiempo infinito para que apareciesen combinaciones favorables.

<sup>2</sup> Para los aspectos genéticos de este fenómeno, ver la bibliografía.

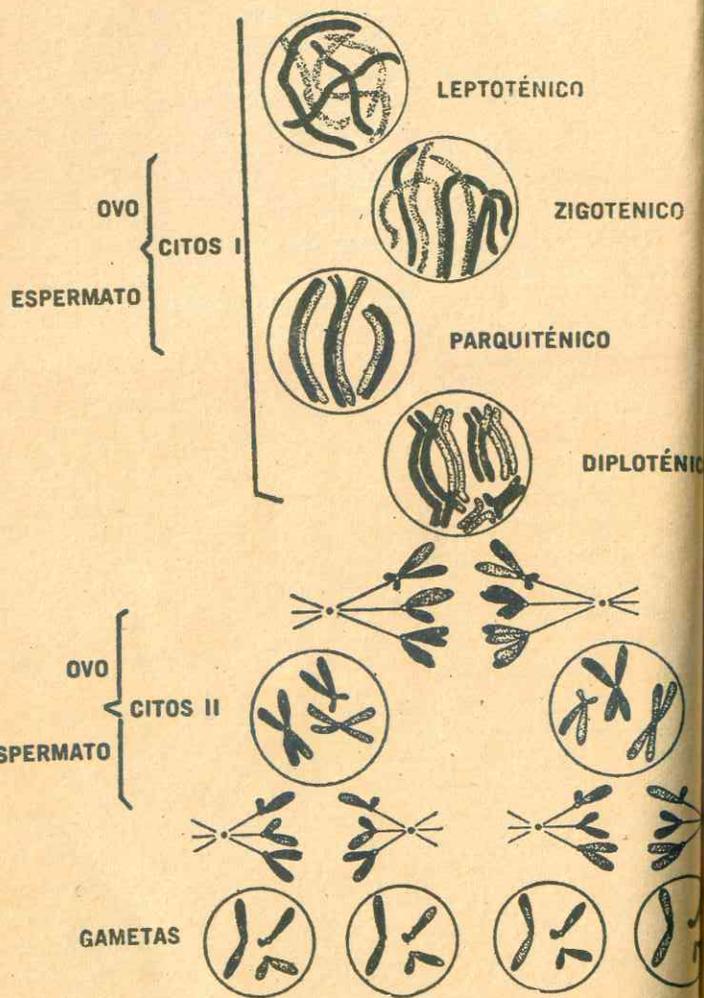


FIG. 28. Esquema general de la meiosis. Se representa la evolución de 3 pares de cromosomas. En cada uno de los pares, uno de los cromosomas está en negro y el otro en gris. (Según de Robertis y colab., *Op. cit.*, 1960.)

prender las diferencias es necesario considerar con más detalle la evolución de los cromosomas y del ADN (fig. 28).

1. *Primera división meiótica.* En los animales, comienza en las células de los órganos sexuales llamadas espermatocitos primarios (en los machos) y ovocitos primarios (en las hembras). La profase de la meiosis es muy prolongada, lo que explica su mayor frecuencia relativa en los cortes con respecto a la de las otras fases. Además, se distinguen en la profase varias etapas.

En el estadio *leptoténico* (*leptotene*) los cromosomas aparecen o, al menos, se hacen más evidentes (ya que a menudo eran visibles) antes que ocurra cualquier duplicación del ADN, contrariamente a lo que pasa en las divisiones normales. Los cromosomas se hallan embrollados, formando rulos laxos. En muchas especies de animales —e inclusive vegetales— parecen presentarse en “bouquet” reuniendo una de sus extremidades en una misma región del núcleo. En este estadio los cromosomas son largos y delgados filamentos que contienen puntos muy densos, como granos alineados en forma de rosario, los *cromómeros*. La localización y el tamaño de estos granos son tan precisos que pueden servir a veces para identificar cromosomas particulares. Con mayor frecuencia, sin embargo, la imagen se halla muy entremezclada.

En el siguiente estadio, *zigoténico* (*zigotene*), los largos filamentos se reúnen de a dos en toda su extensión. Este apareamiento es notablemente preciso y específico: cada cromómero se encuentra frente a otro cromómero idéntico en un filamento paralelo. Este hecho constituye la mejor demostración citológica de que los cromosomas son homólogos de a pares. Como consecuencia de esta *sinapsis*, el número de elementos independientes se reduce a la mitad. Estos elementos se llaman bivalentes, pues cada uno de ellos está formado de dos cromosomas ordinarios extendidos uno junto al otro. General-

mente se presenta una excepción: un par que no se aparea o se aparea mal, irregularidad cuya significación explicaremos más adelante.

En el período siguiente, paquiténico (*paquitene*), los cromosomas se hacen más gruesos y un poco más cortos. Cada uno se duplica. Hay  $n$  grupos,<sup>3</sup> formados por 4 cromosomas paralelos, más o menos enulados, unos alrededor de otros, aunque no sean prácticamente apreciables a la observación directa. El tenor global en ADN es ahora de 4 C.

Rápidamente, luego de su bifurcación longitudinal, los cromosomas homólogos se rechazan mutuamente (estadio diploténico o *diplotene*). Se puede ver ahora más fácilmente que cada grupo está formado por 4 cromátides, de donde proviene el nombre de tétrada. La separación es bien marcada al nivel de los dos centrómeros, cada uno de ellos aportado por uno de los homólogos que se aparean, aunque tal separación no es completa, pues se halla impedida por el enulamiento de las cromátides. En algunos puntos, los filamentos cromosómicos permanecen unidos y parecen inclusive entrecruzarse (fig. 29). Estos entrecruzamientos o *quiasmas* son tanto más numerosos cuanto más largos son los cromosomas. Pueden haber hasta 6 u 8 por tétrada.

Los quiasmas sufren una "terminalización", deslizándose a lo largo de las cromátides y alejándose de los centrómeros hacia su extremidad. Cuando alcanzan la extremidad, el número de quiasmas disminuye; este movimiento está ligado al acortamiento y al engrosamiento de los cromosomas, que permanecen a menudo pegados por su extremidad. Los quiasmas sufren al mismo tiempo rotaciones más o menos complejas.

Se llega así a la *diacinesis*, en la cual se alcanza el máximo de contracción de los cromosomas. Los centrómeros se hallan muy separados. Cada tétrada toma la forma de 8, de 0, de Y o de X, y su número se vuelve más fácil de establecer. Para muchas es-

<sup>3</sup>  $n$  = número de pares de cromosomas, característico de cada especie.

pecies, éste es el único momento en que se ha podido determinar el número  $n$ . Este estadio corresponde aproximadamente al fin de una profase normal. En este momento desaparece el nucleolo.

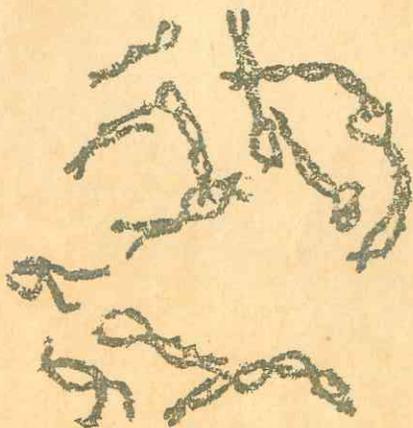


FIG. 29 *Estadio diplotene*. Antera de lirio. Doce grupos, que presentan numerosos quiasmas. En algunos lugares se adivina la doble naturaleza de ciertos filamentos. El trazo negro horizontal = 10  $\mu$ . (Según McLeish y Sroad, *Looking at chromosomes*, McMillan, Londres, 1958.)

En el estadio de placa ecuatorial, los dos centrómeros de cada tétrada parecen rechazarse, ubicándose a cada uno de los dos lados del plano ecuatorial. En la anafase, tales centrómeros se alejan cada vez más, arrastrando cada uno de ellos hacia los polos dos cromátides enlazadas. Los cromosomas del par anormal no apareado, del que ya hemos hablado, se separan generalmente antes que los otros se colocan de este modo muy en evidencia. El resto de esta división carece de historia. Cada uno de los dos citos (ovocitos o espermatocitos) así originados recibe  $n$  cromosomas dobles y 2 C de ADN.

2. *Segunda división meiótica*. Su aspecto morfológico es muy parecido al de una mitosis ordinaria.

Sin embargo —lo que constituye una diferencia esencial—, no está precedida ni acompañada de síntesis de ADN. Luego de un período intercinético bastante corto, reaparecen en la profase  $n$  cromosomas dobles. Sin duplicación alguna del material cromosómico, los centrómeros solos se desdoblán y arrastran cada uno una cromátide hacia los polos opuestos. Las dos células que provienen de esta división son las espermatídes o las ovótidas. Cada una de ellas contiene  $n$  cromosomas y 1 C de ADN. Son, por lo tanto, haploides (fig. 26).

Algunos detalles de la evolución de los cromosomas tienen consecuencias genéticas tan importantes que conviene examinarlos más de cerca. Los quiasmas, claramente visibles durante el estadio diploténico, son los signos de los intercambios de segmentos (*crossing-over*) entre dos de las cuatro cromátides. Estos intercambios ocurren siempre entre filamentos que no pertenecen al mismo cromosoma monovalente (fig. 30). Las preparaciones citológicas no permiten demostrar esto con certeza. Pero tal *crossing-over* trae consigo recombinaciones de genes que se evidencian por el estudio genético de los productos de la meiosis. Se observan casi dos veces más quiasmas que recombinaciones, ya que cada vez interesan solo 2 cromosomas de los 4 presentes. Cuanto más largos son los cromosomas, tanto más se entrecruzan y más numerosos son sus *crossing-over*. En algunas especies favorables (*Neurospora*) se puede probar que el intercambio genético debe hacerse en el momento en que 4 filamentos cromosómicos se hallan uno junto al otro, es decir, cuando se observan los entrecruzamientos.

Se sabe inclusive mucho menos acerca de la fisiología de la meiosis que de la mitosis. Una teoría ingeniosa sugiere que los cromosomas homólogos se atraen cuando cada uno está formado por una cromátide y se rechazan cuando lo están por dos. En la profase de las mitosis ordinarias, los cromosomas son dobles y no hay ninguna atracción entre los homólogos. Dado que la profase meiótica comienza "precozmente" antes que se produzca cualquier desdoblamiento, los homólogos se juntan para recha-

zarse inmediatamente cuando se forman las tétradas. Esto corresponde bastante bien a los hechos observados, pero nada nos informa acerca de la naturaleza de esta atracción entre cromátides homólogas. Otras experiencias demostraron que la adición de ARN a ciertas mitosis provoca un apareamiento pseudomeiótico de los cromosomas. Con todo, se está lejos de probar algún papel particular del ARN en el curso de la meiosis.

Los fenómenos nucleares de la meiosis siguen casi siempre el esquema que acabamos de dar. Pero

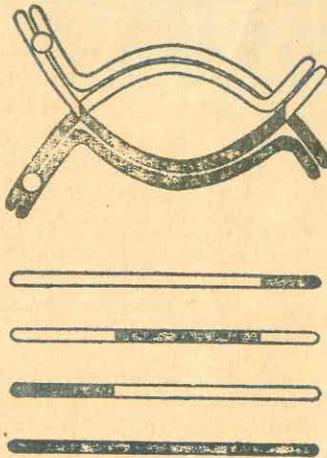


Fig. 30. Esquema del *crossing-over* que reconstituye, según los resultados genéticos, las relaciones entre cromosomas en el estadio ilustrado en la figura precedente. A la izquierda, los centrómeros que relacionan cada vez las cromátides provenientes de uno de los dos homólogos (se ha representado a éstos, para diferenciarlos, en negro y en blanco respectivamente). Dos entrecruzamientos han traído consigo dos intercambios entre 2 de las 4 cromátides. Abajo, los 4 cromosomas que resultan en las 4 células hijas. En el ejemplo ilustrado, uno solo de los 4 es idéntico en toda su longitud a uno de los cromosomas de origen.

las formas de las células en que ocurre, su duración y las circunstancias son en extremo variables. Los machos y las hembras de los mamíferos, por ejem-

plo, presentan considerables diferencias desde este punto de vista.

En los testículos de los machos, la meiosis tiene lugar durante toda la duración de la vida sexual, a menudo con un ritmo dependiente de las estaciones del año. Millones de células evolucionan paralelamente. Las dos divisiones meióticas se siguen casi sin solución de continuidad. Las 4 espermátides de  $n$  cromosomas producidas por cada meiosis se transforman, sin dividirse, en 4 espermatozoides. En los ovarios, la primera división meiótica se desencadena en la época del nacimiento del individuo. Se encuentran allí todos los estadios, desde el leptoténico hasta el diploténico, pero la división no ocurre y los núcleos vuelven a tomar su aspecto intercinético. Los ovocitos primarios no cambian prácticamente hasta la pubertad. Durante el período de actividad sexual, tales ovocitos se cargan de reservas nutritivas y, en el curso de cada ciclo estral —o menstrual—, un reducido número de entre ellos, o inclusive uno solo, prosigue su evolución. En este caso se agrandan considerablemente; una nueva profase corta precederá a la primera división,<sup>4</sup> que es, en cuanto a volumen, muy desigual. Uno de los dos ovocitos secundarios originados de esta división conserva la totalidad de las reservas, mientras que el otro (llamado primer glóbulo polar) no es prácticamente más que un núcleo rodeado de una delgada capa de citoplasma. Inmediatamente, el ovocito II se divide de nuevo, pero se detiene en la metafase de la segunda división meiótica y es expulsado dentro de las vías genitales. Si no resulta fecundado, no pasará jamás de este estadio y degenerará. Si se encuentra con un espermatozoide, la división prosigue. También aquí la repartición del citoplasma es muy desigual, eliminándose un segundo glóbulo polar. Solo después de esto, los  $n$  cromosomas que permanecen podrán mezclarse con los otros  $n$  aportados por el espermatozoide para formar el huevo fecundado, la cigotá de  $2n$  cromosomas, origen de uno o de varios nuevos embriones.

Haciendo abstracción de estas circunstancias accesorias, se ve que la meiosis produce siempre

<sup>4</sup> El largo intervalo entre el comienzo de la meiosis y la separación de los cromosomas (hasta 50 años en la mujer) puede provocar anomalías de repartición (pág. 105). Algunos biólogos creen, sin embargo, que en el curso de la vida sexual se pueden formar nuevos ovocitos primarios.

células haploides a partir de células diploides. Pero no se limita a eliminar simplemente un cromosoma de cada par. Las gametas a las que da origen son portadoras de combinaciones cromosómicas originales. Solo el azar determina el polo al que se dirige cada uno de los dos miembros de un par de cromosomas. En consecuencia, entre los  $n$  cromosomas llevados por una gameta, un número aproximadamente igual proviene de cada uno de las dos gametas de la generación precedente. Además, pocos de estos cromosomas son totalmente idénticos a los que llevaban estas gametas. Por *crossing-over* intercambian generalmente una parte de su longitud con su homólogo. La meiosis no hace sistemáticamente aparecer algún nuevo segmento de cromosoma, alguna molécula nueva de ADN, algún gene desconocido hasta entonces,<sup>5</sup> pero ordena muy eficazmente el conjunto de elementos existentes para producir combinaciones nuevas. El número de posibilidades es prácticamente infinito.

<sup>5</sup> Fuera del caso, poco frecuente, de mutación.

## LOS CROMOSOMAS

En la profase de la mitosis hemos visto aparecer —y no hemos dejado de tratar acerca de ellos desde entonces— estos filamentos llamados cromosomas, que en los cortes confieren un aspecto de ideogramas chinos a las figuras de la división celular. Incidentalmente hemos citado muchas de sus propiedades fundamentales: su número y su forma son característicos de cada especie; se trasladan por pares, que se reúnen y luego se separan, en la meiosis, de una manera particular.

I. Estructura de los cromosomas  
Ciclo de evolución

En el curso de cada división, el aspecto de los cromosomas sufre modificaciones cíclicas. Al comienzo de la profase y al fin de la telofase son filamentos muy largos, muy delgados, enteramente desenrollados.<sup>1</sup> En la metafase y en la anafase, se enrollan en un espiral de espiras apretadas, lo que los vuelve casi cien veces más cortos y mucho más gruesos. El calcio desempeñaría un importante papel en este acortamiento; si se lo remueve, los cromoso-

<sup>1</sup> En los grandes núcleos de ovocitos de diversos vertebrados, al comienzo de la meiosis, los cromosomas pasan por un estado de alargamiento máximo (hasta 5 u 800  $\mu$

mas se dispersan. En la *Drosófila* si la tasa de calcio es demasiado elevada, la rigidez de los mismos aumenta y los intercambios se hacen menos numerosos. En los grandes cromosomas de vegetales (*Tradescantia*) o de protozoarios (*Holomastigotoides*) se ve muy bien cómo las espiras de poco diámetro forman en seguida una espira de segundo orden, más laxa. Muy a menudo el aspecto helicoidal no se observa a menos que se desenrolle experimentalmente la espiral mediante un micromanipulador o mediante la aplicación de cianuro.

En la profase, los cromómeros son lugares en que las espiras se aprietan precozmente, separadas por regiones en que el cromosoma está desenrollado. Como la concentración local de ADN es allí consecuentemente mayor, estos cromómeros aparecen como puntos más coloreables sobre un filamento que lo es mucho menos (fig. 25, A).

Sin embargo, de una manera general en un mismo momento, todos los cromosomas del mismo citoplasma se hallan en la misma etapa de su ciclo. Si en una célula hay dos núcleos, entran en mitosis al mismo tiempo y sus modificaciones serán simultáneas. Hay aquí una influencia neta del citoplasma sobre el estado de la cromatina.

Inclusive en la metafase, el cromosoma permanece desenrollado a nivel del centrómero, pareciendo allí más delgado y menos tangible. Este es el único lugar por donde puede adherirse al huso. Si por irradiación se parte un cromosoma, uno de los fragmentos no tendrá centrómero y no podrá fijarse en el aparato acromático ni participar en la anafase. Se incluirá, por azar, en una u otra de las células hijas. En la telofase sufrirá modificaciones paralelas a las del grupo principal y se transformará en un pequeño núcleo anexo.

en el Tritón). De un filamento doble (estamos ya en el estadio diploténico) parten innumerables enrulamientos simétricos. El conjunto de estos cromosomas "plumulados" recuerda vagamente el aspecto de un cepillo de limpiar botellas (*lampbrush chromosomes*).

Ya sabemos que el cromosoma está formado por dos cromátides paralelas en la profase y por una sola en la anafase. En algunos casos favorables se ha podido reconocer que cada cromátide está formada por 2 filamentos paralelos, más delgados todavía, los *cromonemas*, que se hallan en el extremo límite de la visibilidad. Sabemos, además, que el modo de incorporación de los precursores radiactivos del ADN no se explica sino por el hecho de que cada cromátide está formada al menos por dos filamentos idénticos (pág. 84).

## II. Número y formas individuales. Anomalías

Es evidente que fue en las especies de pequeño número de cromosomas donde se pudo contarlos primeramente. El *Ascaris* del caballo, gusano parásito sobre el que se descubrió la meiosis, no tiene sino 4 cromosomas en su cigota, o incluso 2 en ciertas variedades. La *Drosófila*, tan cara a los genetistas, tiene 8. Cuando el número es más elevado, no es siempre fácil contar los filamentos en sus figuras enredadas. Un recurso, que consiste en hacer hinchar las células cultivadas *in vitro* tratándolas con una solución hipotónica, produce una gran dispersión de los cromosomas metafásicos. Se cuentan entonces fácilmente los 24 cromosomas de la rana, los 40 del ratón o los 46 del hombre (fig. 31).<sup>2</sup>

Su forma en la metafase es tan característica como su número. Cada uno se halla presente por partida doble en las células diploides. En la figura 30 se aprecia que la *Drosófila* posee 2 cromosomas largos en V, 2 en V algo más cortos, 2 bastoncitos y dos puntiformes.

En casos más complejos, se los identifica por su longitud y ubicación del centrómero, que puede hallarse en el medio de los dos brazos o más o menos desplazado

<sup>2</sup> Hasta 1956/58, se atribuían al hombre 2 cromosomas de más, lo que lo colocaba en el mismo plano que la papa.

hacia un extremo, lo que produce un aspecto de gancho o inclusive de bastoncito. Ciertos cromosomas se caracterizan también por constricciones secundarias o por pequeñísimos cuerpos satélites adheridos a una extremidad, como se encuentra, por ejemplo, en dos de los pares más pequeños del hombre.

Ya hemos señalado el comportamiento irregular en la meiosis de un par de cromosomas, a menudo de tamaño desigual y que casi no se aparean. Tales son los cromosomas *sexuales* o *heterocromosomas*. Los mamíferos machos, por ejemplo, poseen uno largo (X), al que corresponde otro, netamente más pequeño (Y) (fig. 31). Las hembras tienen dos cromosomas X. Por lo tanto, la formación cromosómica de los machos (XY) y de las hembras (XX) es diferente. Se atribuye la cromatina sexual del núcleo intercinético (pág. 31) a este X suplementario. Es bien conocido el mecanismo por el que el espermatozoide que contiene ya sea X o ya sea Y (como consecuencia de su separación en la meiosis) aporta uno u otro al óvulo (siempre portador de un X), determinando así el sexo genético del embrión desde la fecundación.

El sistema XY para el macho y XX para la hembra es el más difundido. Es el único observado en las plantas dioicas (en que las flores masculinas y las femeninas se presentan en individuos diferentes). Sin embargo, en las aves y los anfibios es la hembra la heterogámica, es decir, la que lleva dos cromosomas sexuales diferentes y forma dos clases de gametas.

Sería milagroso que todas las mitosis (o meiosis) fuesen perfectas y el número de los cromosomas siempre normal (euploide). De cuando en cuando se observan desviaciones en 1 ó 2 cromosomas que no pueden atribuirse a errores de técnica (roturas, superposiciones, errores de recuento). Pero las células embrionarias y las de los ovarios y testículos que darán origen a las gametas deben tener el número correcto, sin lo cual el embrión presentará anomalías muy graves.

El mongolismo, por ejemplo, enfermedad que provoca malformaciones diversas y un considerable déficit mental, se debe a la existencia de un solo cromosoma supernumerario: uno de los más pequeños se encuentra en número de 3 ejemplares, en lugar de 2. Algunas otras enfermedades congénitas pueden también atribuirse a la existencia de un cromosoma supernumerario o a la falta de alguno.<sup>3</sup>

Si la desviación es más importante, el embrión no es viable. Esta patología de los cromosomas humanos es un dominio completamente nuevo, destinado sin duda a alcanzar un importante desarrollo.

Una modificación del número de cromosomas que dista de ser nefasta es la *poliploidía*. En lugar de tener  $2n$  cromosomas, ciertos individuos tienen  $3n$ ,  $4n$ ,  $8n$  o inclusive más. Bastante rara en los animales, en donde se la puede producir experimentalmente, la poliploidía se establece mucho más fácilmente en los vegetales. Puede ser natural o experimental (colchicina). Se obtienen así nuevas razas e híbridos vigorosos. Muchas especies vegetales nuevas han nacido probablemente gracias a una poliploidía espontánea ligada a una hibridación feliz.

La *haploidía* o reducción a la mitad del número de cromosomas es normal para el estado gametofito del ciclo vital de numerosas especies vegetales. En otros casos se la puede obtener experimentalmente, aunque resulta poco favorable. No permite una meiosis normal, y los animales y esporofitos de  $n$  cromosomas son, por lo tanto, casi necesariamente estériles. A menudo son también más pequeños y más frágiles que sus correspondientes diploides.

### III. Cromosomas y genes

La constancia de los cromosomas, los efectos considerables de modificaciones aparentemente ínfimas, subrayan la gran importancia de los mis-

<sup>3</sup> Es muy probable que estas anomalías se deban al hecho de que, en el curso de una división meiótica, cro-

mos. La comparación de su comportamiento, en el curso de la meiosis y de la fecundación, con el comportamiento postulado para los genes, factores de-

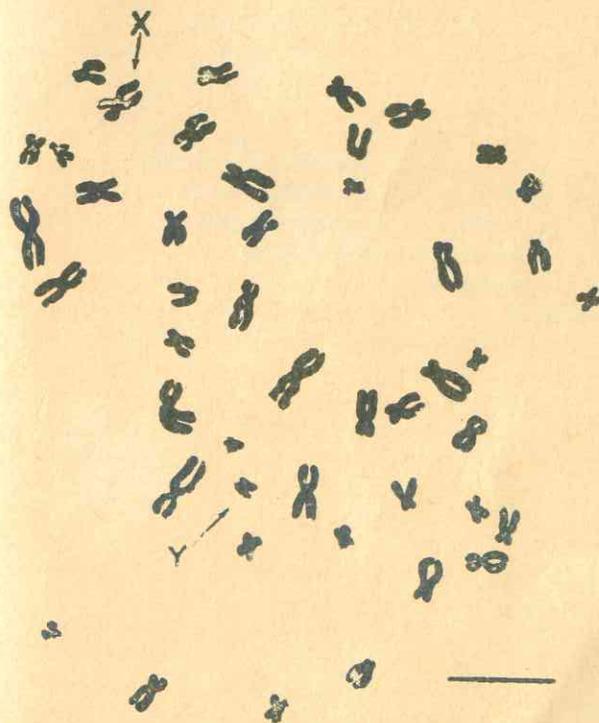


FIG. 31. Los 46 cromosomas del hombre. Metafase de célula en cultivo. Se ha hinchado la célula en solución hipotónica antes de la fijación, y luego se la ha comprimido para asegurar una dispersión máxima de los cromosomas. Cada uno de ellos está desdoblado en 2 cromátides reunidas en el centrómero. X e Y son los cromosomas sexuales. Una mujer tendría un segundo X en lugar del Y. El trazo negro inferior derecho corresponde a  $10 \mu$ . (Según Tjio y Puck, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 44, 1229, 1958.)

mátides que debían haberse separado vuelven juntas al mismo polo, produciendo así gametas anormales.

terminantes de la herencia, ha demostrado un paralelismo sorprendente: los unos y los otros existen por pares; para cada uno de ellos, uno proviene de una gameta masculina y el otro de una femenina; cada individuo transmite uno de ambos, a la ventura, a sus descendientes; finalmente, la repartición de un par en el momento de la formación de las gametas es independiente de la de los otros. Estas cuatro afirmaciones son verdaderas para los cromosomas. La cuarta no es sino parcialmente válida para los genes. Se comprueba, en efecto, que éstos se ligan y se transmiten reunidos en grupos. Ahora bien: el número de estos grupos es precisamente igual al de los cromosomas presentes en las gametas ( $n$ ). Los cromosomas son, por lo tanto, los portadores de estos factores genéticos. Esta demostración ha sido hecha demasiadas veces como para que insistamos sobre ella.

Los genes se alinean a lo largo de los cromosomas y siguen allí un orden definido, que es siempre el mismo. Esta sucesión fue primeramente establecida en la meiosis, luego de la repartición de los genes, cuando ha ocurrido un intercambio parcial; mientras más próximos estén dos genes sobre un cromosoma, menos probabilidades habrá de que un *crossing-over* se produzca entre ellos y más rara será su separación. Estudiando así pacientemente los porcentajes de recombinaciones entre un gran número de genes, se llega a establecer su secuencia sobre los cromosomas.<sup>4</sup> Estos mapas genéticos están detallados para las especies en que se han identificado muchos genes sobre un pequeño número de cromosomas (*Drosófila*, maíz). Sin embargo, existen esbozos de mapas genéticos para el ratón e inclusive para el hombre, del que se conocen muchos menos genes, repartidos sobre un mayor número de cromosomas. La posición de los genes se establece así de una manera muy indirecta, ya que los de

<sup>4</sup> Este pequeño libro no puede suplir a un tratado de genética. Para más detalles, ver las obras citadas al final del volumen.

longitud se expresan en este caso en "porcentaje de recombinación", es decir, en porcentaje de descendientes en que dos genes, normalmente transmitidos juntos por un mismo cromosoma, se encuentran separados.

En algunos casos, estos mapas han podido confirmarse de manera más directa. Por una suerte extraordinariamente favorable, los dípteros (orden al que pertenece la *Drosófila*) tienen cromosomas gigantes politénicos<sup>5</sup> en las células de sus glándulas salivares. Los dos cromosomas homólogos se hallan enlazados, completamente desenrollados y son casi 250 veces más largos que los cromosomas ordinarios. En un orden característico se observan bandas transversales más o menos largas, cargadas de ADN (fig. 32). Se han podido aprovechar diversas anomalías, que se pueden controlar de manera precisa (por ejemplo, la supresión de un segmento o su duplicación), para identificar las bandas que contienen determinados genes. La secuencia de éstos es exactamente la misma que la que predicen mapas

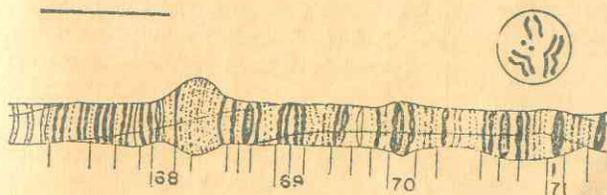


FIG. 32. Fragmento de un cromosoma gigante de *drosófila*. 2 anchas cintas —los 2 homólogos— aparecen adheridas. Para marcar las bandas transversales, se ha dividido la longitud total de este cromosoma en algo más de 100 segmentos numerados, subdivididos cada uno en 6. Arriba a la derecha, figura de mitosis en una célula reproductora en la misma escala. El trazo negro corresponde a 10  $\mu$ . (Reproducido con autorización de Sinnott, Dunn y Dobjanski, *Principles of Genetics*, McGraw Hill Inc, New York, 1950.)

<sup>5</sup> La politenia consiste en una multiplicación de los cromonemas, que no debe confundirse con la poliploidía, multiplicación de los cromosomas enteros.

genéticos, pero, comparando las distancias reales entre los genes con las que permite suponer el análisis de las recombinaciones genéticas, se ha podido ver que los intercambios entre cromátides se realizan preferentemente en ciertas regiones del cromosoma, sobre todo a mitad de camino entre el centrómero y las extremidades.

¿Podrá llevarse aún más lejos el análisis y encontrar, en la escala submicroscópica, las relaciones entre la estructura de los cromosomas, los genes y las moléculas de ácido desoxirribonucleico?

#### IV. Estructura submicroscópica

La microscopía electrónica tropieza aquí con un obstáculo insospechado: nada es más difícil de fijar que la cromatina. A pesar de los enormes aumentos utilizados, los cromosomas mitóticos aparecen en su mayor parte completamente homogéneos y no se aprecian más detalles que los que revela el microscopio óptico. Todo lo que puede afirmarse ahora es que tienen una matriz proteica estable, pues no desaparecen al digerir sus ácidos nucleicos.

Al comienzo de la meiosis en los núcleos de espermatoцитos se observan cintas de 70 a 100  $m\mu$  de ancho divididas en 3 bandas paralelas, bastante opacas, a los electrones. Poco a poco se acumulan granos o filamentos, sin duda compuestos por ácidos nucleicos, que recubren paulatinamente esta estructura, que constituye el eje proteico del cromosoma.

Al problema de la estructura submicroscópica de los cromosomas se agrega el de su persistencia en el núcleo entre las divisiones. Todo lo que sabemos de ellos, su reaparición en cada mitosis, siempre idénticos a sí mismos, la alineación regular de los genes sobre su longitud, sería mucho más fácil de comprender si persistiese una estructura matriz en el núcleo intercinético. En realidad, los cromosomas

no desaparecen siempre: en muchos protozoarios y en algunos otros casos permanecen reconocibles. Pero, en la gran mayor parte de las especies no pueden observarse cromosomas en la intercenesis, aun con el microscopio electrónico. El problema espera aún resolución.

En algunos casos se encuentran estructuras submicroscópicas más precisas. Ciertos espermátides y espermatozoides contienen laminillas o filamentos regularmente dispuestos. El núcleo de la ameba muestra notorias hélices dispersas, que son probablemente moléculas de ADN. Desgraciadamente, estas hélices desaparecen en la profase, precisamente en el momento en que sería interesante ver cómo se juntan para formar los cromosomas.

#### V. El ADN y el código genético

Los cromosomas tienen exactamente la misma composición química que la cromatina nuclear, de la cual no son sino uno de sus aspectos. El ADN es la molécula más importante de este conjunto. La misma no está formada solo por una serie de nucleótidos yuxtapuestos, como lo dijimos en la página 23, sino además por dos series paralelos de nucleótidos unidos de a pares, siendo cada uno de ellos complementario del otro. Hay esencialmente 4 bases nitrogenadas posibles. Siempre se encuentran al mismo nivel, sobre las cadenas paralelas, los pares:

adenina ..... timina  
guanina ..... citosina

Se puede, por lo tanto, representar la molécula como una especie de "escala", cuyos fosfatos y azúcares forman los tirantes verticales y las valencias básicas, los "peldaños" (fig. 33). Además, los tirantes verticales se hallan torcidos en espiral y giran uno sobre el otro. Esta concepción se basa en el análisis de espectrogramas de difracción de rayos X y en consideraciones químicas. Con una muy alta

resolución y un gran aumento, la microscopía electrónica de moléculas aisladas de ADN muestra bien su aspecto helicoidal de hélices de  $2 \mu$  de diáme-

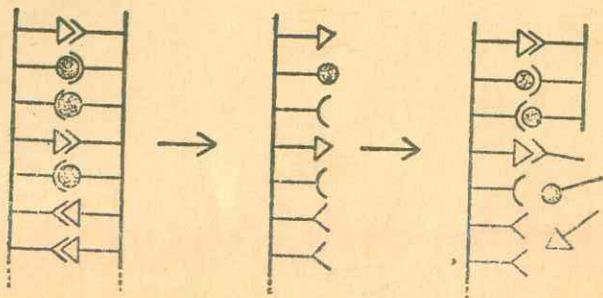


FIG. 33. Esquema de la molécula de ADN y su reproducción. Por convención,  $\rightarrow$  = adenina;  $\leftarrow$  = timina;  $\circ$  = guanina;  $\ominus$  = citosina.

A la izquierda, un fragmento de molécula completa. Para simplificar no se ha representado la disposición en doble hélice de la molécula. La mitad de la molécula (en el centro) contiene todas las informaciones para reconstituir la molécula entera (a la derecha).

tro, evidentemente muchísimo más pequeñas que las espiras helicoidales de los filamentos cromosómicos. Se sabe también que las histonas (proteínas asociadas al ADN) rodean estas hélices a manera de manguito.

En todo caso, la molécula de ADN debe poder reproducirse de manera precisa para cumplir su función. Su estructura doble la hace particularmente apta. Si se la parte en dos, cada semimolécula permite reconstituir una molécula entera de acuerdo con el esquema de la figura 33.

El orden de colocación de los nucleótidos se reconstituye exactamente. En efecto, si a una mezcla de cuatro nucleótidos y de una enzima particular presente en los núcleos se agrega un poco de ADN para que sirva de gatillo, se formará un nuevo ADN que tendrá la misma composición que el ADN que se ha agregado.

SÍNTESIS Y CONCLUSIÓN

I. Vista de un conjunto del metabolismo celular

Las proteínas ejercen la mayor parte de las funciones celulares, constituyen sus estructuras y condicionan su forma. Para cumplir su función, cada proteína debe tener una composición muy precisa y la secuencia de sus aminoácidos debe ser absolutamente correcta. La más mínima modificación provoca una pérdida total de la función.

El ejemplo más notable conocido hasta hoy lo constituye la hemoglobina, la proteína roja de los hematíes, que transporta el oxígeno desde los pulmones a todos los tejidos del cuerpo. En los individuos atacados por una enfermedad hereditaria común en África, muchos hematíes toman en ciertas circunstancias una forma de hoz en lugar de la forma clásica de disco bicóncavo.

Este aspecto anormal es debido a una hemoglobina que no puede fijar oxígeno, lo cual hace que estos enfermos se vuelvan anémicos y poco resistentes. Esta molécula de hemoglobina anormal no difiere de la normal más que en un solo aminoácido sobre un total de trescientos.

La precisión de la síntesis de proteínas debe ser, pues, notable para que las propiedades hereditarias —químicas y morfológicas— de cada individuo puedan manifestarse. Estas propiedades residen muy a menudo en el citoplasma. Las informaciones hereditarias que deberán traducirse en secuencias de los aminoácidos de las proteínas se hallan contenidas en el núcleo. ¿Cómo tiene lugar esta transferencia de informaciones del ADN de la

romatina al ergastoplasma, donde asientan la mayor parte de las síntesis proteicas? Los ácidos ribonucleicos fabricados en el núcleo y que luego pasan al citoplasma, son los que realizan esta transferencia de informaciones.

El siguiente experimento demuestra particularmente bien su desplazamiento. Se hace radiactivo el ARN del núcleo de una ameba mediante la incorporación al mismo de precursores que contienen un isótopo radiactivo, y luego se transfiere este núcleo a un citoplasma no marcado. Este último comienza poco a poco a cargarse de ARN radiactivo, que difunde a partir del núcleo. Por el contrario, ningún pasaje de ARN se produce normalmente si se trata de realizar el experimento inverso.

Por otra parte, puede demostrarse muy bien en el alga unicelular *Acetabularia* que el núcleo, por intermedio de ARN, determina la forma del citoplasma. Cada una de estas células se halla constituida por un tallo de citoplasma de alrededor de dos centímetros de largo, que se prolonga por ambos extremos: hacia la base, por una especie de raíz que contiene el núcleo, y hacia el ápice, por una sombrilla. Existen dos especies de *Acetabularia* que se distinguen por la forma de la sombrilla. A un individuo de una de las especies se le corta la sombrilla y se lo anuclea, injertándosele luego un núcleo de un individuo de otra especie. La sombrilla, que se regenerará, se parecerá a la de la especie que ha cedido el núcleo, y es el ARN salido de este núcleo el que ha producido este efecto. Si se impide la formación de esta sustancia, la regeneración es imposible.

El análisis químico de los ARN muestra que todos no tienen las mismas propiedades. Se distinguen, por lo menos, tres especies que pueden aislarse, pues se diferencian por el tamaño de sus moléculas y otras características.

Una de las especies, el *ARN mensajero*, puede tener una composición de bases idénticas (salvo que la timina se halle reemplazada por el uracilo) a la de un filamento simple de ADN extraído de la misma célula, hasta tal punto que puede formar con este último una doble molécula híbrida. Esta especie no constituye más que una pequeña parte del total de la célula, pero la rapidez de su renovación hace que aparezca muy radiactivo poco tiempo des-

pues de un marcado por medio de precursores. En las bacterias tiene una vida de algunos minutos, y en los vertebrados superiores, de algunas horas.

El ARN mensajero pasa al citoplasma y va a fijarse en los ribosomas, aportándoles una secuencia de bases características de una parte del ADN del núcleo. El tenue filamento, que con el microscopio electrónico se ve a veces unir algunos ribosomas en una célula donde se está produciendo una activa síntesis de proteínas, corresponde probablemente el ARN mensajero.

El *ARN de los ribosomas o ribosómico* tiene un peso molecular bastante más elevado, se halla asociado a proteínas y es bastante más estable. Los ribosomas aislados no tienen especificidad, pero pueden, según los mensajeros que se agreguen, fabricar tal o cual proteína. No funcionan si no se les provee, entre otros aminoácidos, un dador de ATP, diversas enzimas y una tercera especie de ARN, los ARN de transferencia.

Existe una veintena de ARN de transferencia. Cada uno puede ligarse a una especie de aminoácido, previamente "activado" por una combinación con el ATP. Se considera que la molécula de cada ARN de transferencia debe tener una secuencia de tres bases características para el ácido aminado con el cual se une. Éste encuentra una secuencia complementaria sobre el ARN mensajero en la superficie del ribosoma y se detiene. Los ARN de transferencia "leen" así el código para los aminoácidos, que de esta manera son automáticamente alineados uno al lado del otro en el orden correcto (fig. 34). Una enzima especial puede entonces juntarlos, y la molécula de proteína queda así constituida.

Mediante la fabricación de cadenas artificiales de polinucleótidos, en las cuales puede variarse a discreción la composición de bases y utilizando estas cadenas como ARN mensajero, pueden producirse polipéptidos (proteínas simples) artificiales que nos permiten descifrar el código. Hay buena evidencia en favor de que todos los seres vivos usan el mismo código. Por ejemplo, tres uracilos sucesivos sobre el ARN mensajero serán completados por la secuencia del ARN de transferencia del aminoácido denominado alanina.

Todos estos esquemas son de reciente data y se hallan basados en experiencias muy diversas, utilizando a menudo sistemas simplificados: ribosomas

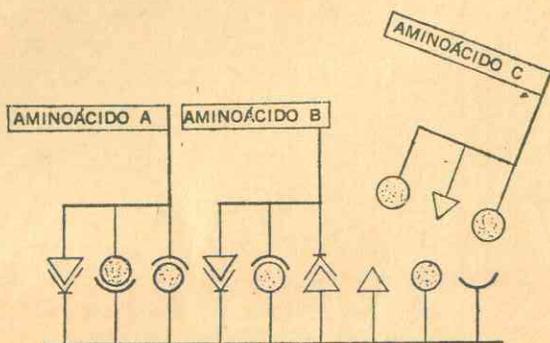


FIG. 34. Esquema de la síntesis de una proteína en contacto con el ARN mensajero. Los ARN de transferencia de los aminoácidos A y B han encontrado una secuencia correspondiente sobre el ARN mensajero y se han unido. El ARN de transferencia del aminoácido C no puede hacerlo. Símbolos iguales a los de las figura 33, salvo -<= que es igual a uracilo.

aislados, virus, fagos o fragmentos de células bacterianas a los cuales se les agregan enzimas y ácidos nucleicos purificados. La masa de hechos que se interpretan mejor de acuerdo con esta teoría aumenta sin cesar. Sin embargo, la extensión de la misma a las células enteras de los animales superiores no es fácil, pues las diversas clases de ARN se separan más difícilmente.

Bastantes puntos permanecen aún oscuros. Por ejemplo, ¿cuál es el papel exacto del nucleolo? Parece que el mismo fabrica el ARN de los ribosomas (cuya función aún no ha sido precisada), pero es posible que los ARN mensajeros, formados necesariamente sobre los filamentos de ADN dispersados en el núcleo, transiten por él y sufran remodelaciones. Los ARN de transferencia, que deben regenerarse cada vez, serían formados en contacto con

una región determinada de las cadenas de ADN próximas al organizador nucleolar.

El conjunto del ADN de un núcleo contiene las informaciones necesarias para las proteínas de todo el organismo. Pero cada célula se halla especializada y no fabrica por vez más que un pequeño número de proteínas. Se ha postulado una acción inhibitoria de las histonas sobre el ADN, pero se ignora el mecanismo por el cual las informaciones, que provienen en este caso del citoplasma, determinan las porciones de ADN que deben ser activas en cada momento dado. Este problema se halla ligado al de la diferenciación celular (ver más abajo).

El núcleo no tiene el monopolio de las informaciones genéticas. Además de los organoides citoplasmáticos autorreproducibles (plástidos, probablemente los centriolos, etc.), existen en ciertos vegetales (*Epilobes*, *Cirsium*, etc.) verdaderos *plasmagenes*, exclusivamente citoplasmáticos y aparentemente no relacionados con partículas visibles. Se los ha identificado bastante poco, ya sea porque son escasos, sea porque su demostración requiere un análisis genético mucho más largo y más complejo que el de un gene nuclear.<sup>1</sup>

Las diferentes moléculas genéticas (nucleares, citoplasmáticas, particulares) a veces son incompatibles o combinan sus efectos de manera compleja.

La producción de moléculas tan complejas como las proteínas demanda, asimismo, un neto desgaste de energía. Es característico el hecho de que la regeneración de *Acetabularia*, citada más arriba, no puede realizarse en la oscuridad: en este caso los plástidos no funcionan y no proveen ATP. De acuerdo con los casos y las circunstancias, son los plástidos o las mitocondrias los que proveen la energía necesaria para todas las actividades celulares.

Generalmente, las mitocondrias se reúnen en los lugares en que se debe gastar una gran cantidad de energía. Se disponen a veces de manera ra-

<sup>1</sup> El aporte nuclear de las dos gametas es idéntico. Normalmente, la acción de los factores genéticos es la misma, ya sea que provengan del óvulo o del espermato-

diada alrededor del centro celular, sin que podamos adivinar por qué, o se ubican cerca de las vacuolas de pinocitosis, quizá para proveer la energía de transferencia de las grandes moléculas a través de la membrana. A veces se colocan muy cerca del complejo de Golgi. Se concentran, asimismo, en los lugares en que es necesaria energía para la eliminación de diversas moléculas.

Los intercambios de las mitocondrias con el núcleo son complejos. La experiencia siguiente lo ilustra. Mitocondrias aisladas, ubicadas en un medio conveniente, continúan sus fosforilaciones oxidativas, produciendo ATP y utilizando el oxígeno. Si a una preparación semejante se agregan núcleos aislados, su actividad se duplica. Las mitocondrias reciben sin duda coenzimas de los núcleos y les ceden ATP. Pero esto no significa que se hallen efectuadas otras diversas transferencias.

Si no citamos aquí los intercambios del citoplasma con el exterior así como las innumerables síntesis y transformaciones químicas que allí ocurren es porque todavía casi no tenemos medios de apreciar cómo influyen sobre la morfología del conjunto. Por otra parte, las células animales no son capaces de fabricarlo todo. Entre otras cosas, la glucosa, las ya demasiado célebres vitaminas y más de la mitad de los aminoácidos conocidos, los llamados *amino-ácidos esenciales*, deben serles provistos desde el exterior.

Cuando se mira una célula viva, poco es lo que aparece de sus múltiples actividades a primera vista. Es necesario recordar, sin embargo, que se suceden sin cesar síntesis y degradaciones químicas (lo que constituye el *metabolismo*) y que las estructuras aparentemente más estables se destruyen y se reforman sin descanso con nuevas moléculas. La

zoide. La gameta femenina, el óvulo, aporta ella sola el citoplasma. Cuando un carácter se transmite solo por vía femenina, se presume —y es solo una presunción— que el causante es un factor citoplasmático.

forma de la célula, que parece tener una cierta permanencia, no es más estable que la de una llama de un mechero de gas o la de un río que fluye. Si bien sus contornos son estables, sus moléculas son perpetuamente remplazadas por otras idénticas. La célula es pues un sistema en *desequilibrio permanente*. Las relaciones entre sus diferentes partes, que distan mucho de estar todas identificadas, están cuantitativamente equilibradas, así como también lo está la suma global de tales intercambios.

En esta red de relaciones complejas ninguna es origen de todas las demás y ninguna su objeto final. Es verdad, sin duda, que la célula constituye un sistema que aumenta localmente la heterogeneidad del espacio y que fabrica, realizando un desgaste de energía tomada del mundo exterior, moléculas enormes, que no tendrían prácticamente ninguna posibilidad de formarse fuera de la célula. Este sistema permite el mantenimiento y la reproducción de moléculas de ADN. Pero estas afirmaciones son demasiado teleológicas. Son variantes acerca del tema filosófico de las definiciones de la vida. Este juego divertido parece totalmente vano al biólogo. Al biólogo le basta ver en la célula el más simple de los sistemas en *desequilibrio permanente*, capaz de continuidad y de reproducción, con el que se han podido construir organismos complejos.

## II. Relaciones de las células entre sí Organización tisular

Hasta ahora hemos estudiado la célula viva como si fuera única o existiera aislada, designando todo lo que la rodea con un término vago: el medio exterior. Pero, en realidad, las células no viven así en la mayor parte de los vegetales y los animales. Nacidas de un antepasado común, se reúnen en números a veces inmensos para formar conjuntos coordinados y armoniosos de mayor escala: los tejidos, los órganos y, en fin, los individuos vivos que cono-

ceмос. A nivel de éstos, vuelven a plantearse las cuestiones acerca del plan general, las interrelaciones y el equilibrio entre las partes que ya hemos tratado para la célula.

En cada tejido, las células tienen, generalmente, una morfología característica, y su modo de agrupamiento y la textura que configuran son específicos. Esta disposición depende en parte de la forma exterior de las células, condicionada a su vez por su entorno y sus posibilidades de ubicación.

Por ejemplo, un mismo fibroblasto en cultivo puede ser esférico en medio líquido, triangular o romboidal extendido sobre una delgada capa de plasma coagulado y no orientado, en forma de huso grueso y alargado, sobre una lámina de vidrio grabado con estrias paralelas. Estas formas están determinadas por las relaciones que la superficie celular puede mantener con la base de sustentación. En el organismo, la variedad del medio es mucho mayor aún.

Otros factores se combinan al señalado para determinar la textura de los tejidos. Las células parecen, en efecto, "reconocerse" entre sí por propiedades de su superficie, probablemente determinadas conformaciones químicas. La experiencia siguiente lo demuestra.

Sin lesionar las células se las puede disociar mediante la acción de la tripsina. Se obtiene entonces una suspensión en medio líquido. Cuando se mezclan dos suspensiones de tejidos diferentes y se las deja sedimentar lentamente sobre el fondo de una cápsula de vidrio, las células de tipo diferente se depositan unas junto a otras a la ventura, pero se separan luego mediante movimientos ameboides. Por el contrario, las células del mismo género se asocian. Se forman así pequeños grupos en que reaparecen las disposiciones características de los dos tejidos. Esta experiencia puede variarse hasta el infinito, inclusive con tejidos de especies bastante distantes entre sí. Las células del cartílago de la rata, por ejemplo, se asocian más fácilmente con las del cartílago del pollo que con las del hígado o el riñón de su propia especie.

Las diferencias entre diversas células de un mismo organismo importa aquí más que las diferencias genéticas entre especies. Esto nos lleva naturalmente a otra cuestión.

### III. Diferenciación celular

Nacidas todas de un mismo huevo, con una herencia idéntica, las células de un mismo individuo se tornan, sin embargo, muy diferentes unas de las otras. Este problema tan vasto es uno de los que ocupan a una disciplina autónoma, la embriología.

Desde su comienzo, la cigota no tiene una composición completamente homogénea. Existen gradientes aunque más no fuera por su peso, entre las diversas moléculas o inclusiones del citoplasma del huevo. En algunos casos, se la ha podido inclusive comparar —un poco exageradamente— con un "mosaico" de territorios de potencialidades diferentes. Con mayor o menor rapidez, las divisiones no siguen más el mismo ritmo en todos los blastómeros nacidos de esta cigota, y su composición química se torna cuantitativamente diferente.

Los núcleos, idénticos al comienzo, sufren el resultado de estas diferencias. Se puede remplazar el núcleo de un huevo de rana por otro tomado de una blástula —estadio del embrión al fin de la segmentación—, y obtener una larva normal. Pero si el núcleo es tomado del endodermo ya diferenciado de la gástrula —estadio más avanzado—, se produce un bloqueo del desarrollo, que afecta sobre todo a los tejidos muy diferenciados del endodermo. El núcleo ha sido modificado de manera desconocida, quizás en sus constituyentes no nucleoproteicos, que difieren según los tejidos del organismo adulto.<sup>2</sup>

A partir de este momento, las células, cuyos citoplasmas y núcleos están ya especializados, tienen

<sup>2</sup> Estas modificaciones son inducidas por el citoplasma. El desarrollo se bloquea precozmente si se injerta un núcleo de blástula de una especie a un huevo anucleado

metabolismos que se vuelven cualitativamente diferentes. Algunos liberan sustancias, los *inductores* embrionarios, que influyen sobre otras células vecinas, y así va avanzando la diferenciación cada vez más. Las células adquieren proteínas particulares, así como también una morfología y posibilidades funcionales características. Como contraparte, pierden la posibilidad de transformarse en algo distinto, de diferenciarse en otras direcciones.

Estos dos ejemplos, muy rápidamente esbozados, de las relaciones de las células a nivel del tejido y del organismo, nos permiten apreciar su plasticidad y la inmensa variedad de construcciones posibles gracias a estos elementos, sobre la base de un plan fundamental semejante. Volvemos así a uno de los caracteres esenciales de la célula, sobre el que habíamos insistido en la introducción.

#### IV. Conclusiones

Esta rápida revisión de una disciplina biológica en plena evolución, en la cual nos hemos esforzado en demostrar el desarrollo de la citología en los últimos 15 años, nos da una imagen coherente de la célula viva. Se ha ido identificando poco a poco la función de los diferentes organoides que la constituyen y se ha tratado de comprender sus relaciones en forma progresiva. Pero, además, el análisis de las ultraestructuras, en relación cada vez más estrecha con la bioquímica, muestra cuán profunda es la similitud de aspecto y de funcionamiento de los elementos subcelulares, no solo en todas las células de un mismo organismo, sino también en todos los animales y los vegetales.

---

de otra. Pero un núcleo tal, reubicado en un huevo anucleado de su especie de origen, no puede tampoco asegurar el desarrollo completo.

En el futuro, la biología celular deberá comprender cómo tal uniformidad en los elementos básicos permite producir formas de una tal diversidad a nivel de los tejidos de los órganos y de las especies vivas. Será necesario también extender las nociones adquiridas a terrenos de aplicación como el estudio de los cánceres, en los cuales deberemos aprender a modificar el curso natural de las cosas.

INSTITUTO V. ACOSTA Y NETO CASALLAS  
BIBLIOTECA  
BIBLIOGRAFIA

Algunos problemas que no hemos podido profundizar, ya que salían de nuestro cuadro, son tratados en los siguientes volúmenes de la colección "Que sais-je", de Presses Universitaires de France:

- Carles, J., *La fécondation*, P.U.F., 1960.  
Caullery, M., *Génétique et hérédité*, P.U.F., 1960.  
Caullery, M., *L'embryologie*, P.U.F., 1942.  
Gallien, L., *La sexualité*, P.U.F., 1959.  
Rostand, J., *L'hérédité humaine*, P.U.F., 1960 (Trad. esp.: La herencia humana, Bs. As., EUDEBA.)  
Swanson, C. P., *La Cellule*, col. "Ou va la biologie?", Presses Universitaires de France, 1964.

No hemos querido transformar el libro en un cuadro de honor internacionales. Las leyendas de las figuras citan a menudo el iniciador o el principal investigador en el dominio que las mismas evocan. Podrá encontrarse fácilmente el nombre de todos aquellos que han participado en el desarrollo de la citología moderna en las obras que se citan a continuación:

- Brachet, J., *Biochemical Cytology*, Acad. Press, New York, 1957.  
Brachet, J. y Mirsky, A. E. (editores), *The Cell*, 5 volúmenes, Acad. Press, New York, 1959/61.  
Dangeard, P., *Cytologie végétal et cytologie général*, Lechevallier, Paris, 1947.  
De Robertis, E. D. P., Nowiski, W. W. y Saez, F. A., *Citología general*, El Ateneo, Buenos Aires, 1961.  
Magnan, C. (edit.), *Traité de microscopie électronique*, tomo II, Hermann, Paris, 1961.  
Policard, A. y Baud, C. A., *Les structures inframicroscopiques normales et pathologiques*, Masson, Paris, 1958.  
Wilson, E. B., *The Cell in development and Heredity*, McMillan, New York, 1928 (reimpresión, 1953. Obra esencial para todos los trabajos antiguos).

Numerosos problemas de actualidad son resumidos en conjunto en publicaciones anuales como las siguientes:

Bourne, G. H. y Danielli, J. F. (editores), *International Review of Cytology*, Acad. Press, New York.  
Thomas, J. A. (editor), *Exposés annuels de Biologie Cellulaire*, Masson, Paris.

## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN .....   | 5  |
| I. Historia de la citología. La teoría celular   | 7  |
| II. Estructura fundamental de las células.<br>Composición química .....  | 15 |
| I. Tamaño y estructura de las células, 15.<br>II. Interdependencia del núcleo y del citoplasma, 20. III. Composición química   | 22 |
| III. El núcleo .....   | 25 |
| I. Los nucleolos, 27. II. La cromatina, 29.<br>III. Otros constituyentes del núcleo, 34.<br>IV. Membrana nuclear, 34.  |    |
| IV. El citoplasma .....  | 37 |
| I. El hialoplasma, 37. II. Los organoides citoplasmáticos, 47.   |    |
| V. La membrana celular y su permeabilidad  | 69 |
| I. La membrana y los fenómenos osmóticos, 71. II. Permeabilidad celular, 72. III. Pinocitosis, 73.   |    |
| VI. La división celular .....  | 76 |
| I. El <i>film</i> de la mitosis, 76. II. Evolución y repartición del ADN, 82. III. Mecanismos particulares, 85. IV. Regulación del número de divisiones celulares, 90. |    |

VII. La meiosis .....

VIII. Los cromosomas .....

1. Estructura de los cromosomas. Ciclo de evolución, 104. II. Número y formas individuales. Anomalías, 104. III. Cromosomas y genes, 106. IV. Estructura submicroscópica, 110. V. El ADN y el código genético, 111.

IX. Síntesis y conclusión ..... 113

I. Vista de un conjunto del metabolismo celular, 113. II. Relaciones de las células entre sí. Organización tisular, 119. III. Diferenciación celular, 121. IV. Conclusiones, 122.

BIBLIOGRAFÍA..... 125



Se terminó de imprimir en los  
Talleres Gráficos Aconquinja  
Calle Aconquinja 3114 - Bs. As  
En el mes de mayo de 1967

