

LA MEMBRANA NUCLEAR

THE NUCLEAR MEMBRANE

Prof. Marcelo Camargo A., T.M., M. en C.*, Dra. Blasina S. de Camargo, M Sc., D.C.B.†

* *Departamento de Histología y Neuroanatomía Facultad de Medicina, Universidad de Panamá,*

† *Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina, Universidad de Panamá*

RESUMEN

El trabajo intenta una revisión de lo que se maneja acerca de la membrana nuclear, describiendo el complejo del poro y señalando algunas de las numerosas proteínas asociadas a dicha estructura ubicadas en nuestras células. También se menciona la malla formada por las proteínas Laminas A, B y C y su relación con la cara nuclear de la membrana interna y con la cromatina. La función fosforilante y defosforilante de dichas proteínas también se revisa.

Palabras claves: Complejo de poro, Laminas.

ABSTRACT

This is a review of what is known about the main characteristics of the nuclear membrane. It describes the pore complex and the proteins associated to this common structure of our cells. The net formed by laminar proteins A, B and C is also described and its relation to the nuclear surface of the internal membrane and with the chromatin. Also the role played by the laminar proteins in phosphorylation and dephosphorylation in the nuclear membrane is considered.

Key words: Pore complex, laminar proteins.

La Membrana Nuclear

Desde las observaciones de Leeuwenhoek en eritrocitos de salmón (1700) y las de Fontanas (1781), pasando por Robert Brown (1828), a quien se le atribuye el descubrimiento del núcleo, no se soñaba con la complejidad que se encuentra en este organito celular y que desde sus tiempos se han ido dilucidando poco a poco.^{1,2}

A estas alturas quizás podamos hablar de varias etapas en el estudio del núcleo, esta compleja y esencial estructura celular. Tendríamos la etapa primitiva, donde se lucha por establecer el concepto de célula y del mismo núcleo. Luego tenemos un segundo período, la época de oro de la histología clásica, donde la célula y sus componentes pasan a conformar oficialmente los tejidos vivos, esto se da a finales del siglo XIX. El tercer período se puede decir que abarca todo el siglo XX, donde se establece una serie de conocimientos y se desarrollan poderosas técnicas de investigación (microscopía electrónica -M.E.-, cultivo de tejido, ultracentrifugación, inmunofluorescencia, entre otros) que poco a poco nos llevaría al viaje interminable dentro de la célula, al estilo de De Duve en su célula viva; y que ha permitido el desarrollo de conceptos de ultraestructura morfológica, aspectos moleculares y sus interacciones; penetrando cada vez más en los misterios fascinantes de la célula.^{2,3}

Dentro de lo aprendido está el conocimiento sobre las membranas biológicas. La primera de las cuales, obviamente, es la plasmática o celular. Esta membrana

nos da la primera compartimentalización celular, ya que es la que separó por vez primera los dos medios en donde se desarrollaban las células primigenias hace millones de años, originando el medio interno celular o citosol y diferenciándolo del medio externo circundante. Luego los estudios profundizan en las denominadas por De Robertis, padre, como endomembranas; que son las estructuras que conforman casi todos los organitos membranosos de una célula eucariota: retículo endoplasmático, con sus variedades de rugoso (RER) y liso (REL); cubierta nuclear; aparato de Golgi; lisosomas y las diversas otras vesículas.^{1,4}

Es aquí donde comenzamos a tratar más detalladamente la membrana nuclear. Una ultraestructura membranosa que establece una segunda compartimentalización fundamental, ya que su aparición hace millones de años marca el desarrollo evolutivo de una región que concentra el material genético, apartándolo casi selectivamente del resto del citoplasma, y que poco a poco va conformando lo que hoy denominamos núcleo celular verdadero y establece la aparición de la célula eucariótica, diferente a las demás células primitivas. Esta nueva región o compartimiento nuclear da lugar a nuevas y únicas reacciones en la célula, que terminan por regir y determinar gran parte de la actividad celular; establece de manera segura la herencia, información que pasará de célula a célula y se mantienen procesos fundamentales y de cambio. Esta nueva célula, con esta membrana especial que separa parcialmente el área génica (nucleoplasma) del resto de la célula (citoplasma),

es producto del desarrollo de la nueva membrana: la membrana nuclear.

La membrana nuclear, como la conocemos hoy, es una estructura compleja, con diversos componentes altamente especializados y gran variedad de moléculas que en conjunto conforman lo que se denomina envoltura, cubierta o doble membrana nuclear.⁴

Esta envoltura realmente es una doble membrana que rodea nítidamente al área donde se encuentra la cromatina y todo lo relacionado con el área génica: enzimas, iones y diversas oligomoléculas asociadas a las funciones genéticas de replicación, para división celular y transcripción, para sintetizar proteínas. Esta doble cubierta presenta una membrana externa con ribosomas adheridos a su superficie citosólica y con características similares a las del RER, con una estructura trilaminar, semejante a la de la membrana plasmática, igual espesor y similares componentes enzimáticos.^{1,4} La composición de los lípidos en estas membranas aparece en el cuadro 1 para dar una idea al respecto.⁵

en su superficie nuclear, la más interna, un entramado proteínico denominado LÁMINAS.^{1,4,6}

La doble cubierta nuclear no es continua, de trecho en trecho está interrumpida por una estructura singular y ubicua en toda célula eucariota. Son los llamados poros nucleares, uniformemente desplegados a todo lo largo y ancho de la membrana nuclear. Estos poros son descubiertos por Gall y colaboradores, por allá por 1954, en oocitos. Estas complejas estructuras son mucho más que simples perforaciones en que la membrana externa se continúa con la interna. En estos poros se han encontrado un conjunto de proteínas especiales que conforman lo que se ha denominado complejo del poro nuclear. Este complejo abarca todo el grosor de la doble membrana, e incluso parece ir un poco más allá, tanto del lado citosólico como del lado nucleoplásmico. Los poros son muy numerosos en células embrionarias, en diferenciación o muy activas metabólicamente, por lo general su número parece decrecer con el tiempo, esto es muy evidente en los eritrocitos que van madurando y diferenciándose. En términos muy generales se considera

CUADRO 1. COMPOSICIÓN DE LOS FOSFOLÍPIDOS DE LA MEMBRANA

FOSFOLÍPIDO	MEMBRANA PLASMÁTICA (%)	RER (%)	REL (%)	MEMBRANA NUCLEAR (%)
Fosfoglicerido de Colina	43	59	54	52
Fosfoglicerido de Etanolamina	21	20	22	25
Fosfoglicerido de Serina	4	3	4	6
Fosfoglicerido de Inositol	7	10	8	14
Esfingomielina	23	2	6	6
Cardiolipinas	<1	1	2	-----

Fuente: Montgomery R, Conway TW, Spector AA, Chappell D. Bioquímica. Casos y texto. Sexta edición. Madrid: Harcourt Brace de España, S.A.; 1998.

La función de esta membrana externa nuclear está directamente asociada al RER y es sintetizar proteínas que se mueven por el espacio perinuclear, continuándose con las cisternas del resto del RER.^{4,6}

Al M.E. se ha observado la membrana externa tachonada de ribosomas, luego un espacio claro y aparentemente vacío, y otra membrana llamada interna. Estas dos membranas están enmarcando al espacio comprendido entre ellas, que tiene unos 25 a 40 nm de espesor, conocido como cisterna o espacio perinuclear. La membrana nuclear interna tiene similitud con la externa, en lo químico, pero morfológicamente presenta dos grandes diferencias: no presenta ribosomas, la maquinaria sintetizadora de proteína y se ha observado

que hay entre 2000 a 4000 poros nucleares por núcleo. Cada poro está constituido por unas 100 proteínas distintas, altamente organizadas y conocidas como nucleosporinas (Nups). En conjunto cada poro representa unos 120 a 125 millones de dalton de peso molecular.^{1,6-9}

La configuración del complejo del poro recuerda la forma de un cono truncado y abierto en ambos extremos. Sus paredes lo conforman ocho columnas proteicas que están rodeadas por la doble membrana nuclear. Estas ocho columnas conforman una figura octagonal con dos anillos; uno en la superficie de la membrana externa y otro en la superficie nucleoplásmica. Estas columnas se considera tienen tres áreas: las dos zonas de los anillos, las propias columnas y en el medio de cada columna hay una

subunidad protéica que se proyecta hacia la luz de la envoltura nuclear, anclando el complejo del poro a esta membrana (zona adluminal). Del anillo externo (cara citosólica) nacen fibrillas que se proyectan hacia el citosol y en donde se han identificado algunas Nups como la 358, 214 y Ran BP2. Del anillo interno (cara nucleoplásmica) también nacen fibrillas que se proyectan hacia el interior del núcleo; estas fibrillas se juntan en el extremo, formándose una estructura semejante a una jaula y que ha sido denominada en cesta (nuclear basket). Este anillo nuclear además se une firmemente a la red de filamentos intermedios (FI) que conforman la llamada lámina nuclear. Este anillo parece tener las proteínas Nups 93, 96, 98; los rayos o fibrillas que conforman la cesta nuclear y su punto de unión contienen los Nups 153 y Tpr. La principal técnica para la determinación de estas proteínas del complejo del poro nuclear es la inmuno electromicroscopía.^{4, 6, 8, 10, 11}

La función de los poros nucleares que contienen al complejo del poro es de actuar como un verdadero canal. Una estructura que deja pasar en uno u otro sentido moléculas, pero de una manera controlada y específica. Las evidencias apuntan a una gigantesca complejidad y tráfico de moléculas, con sistemas múltiples protéicos, que llevan y traen moléculas hacia el interior nuclear y sacan otras moléculas sintetizadas en el interior del núcleo y las llevan hacia el citoplasma. El diámetro del poro varía de 50 a 100 nm y su abertura parece depender de señales específicas que determinan su tamaño para dejar pasar una molécula específica. Diversos estudios han determinado que moléculas de 17.000 dalton necesitan unos dos minutos para atravesar los poros. Una de más de 40.000 dalton necesita unos 30 minutos. Proteínas de mayores pesos moleculares sintetizadas en el citosol y que deben alcanzar el núcleo para ejecutar funciones específicas como las polimerasas de DNA y RNA (200.000 dalton) tienen mecanismos poco conocidos y complejos, de los cuales se sabe que son primero marcadas con señales peptídicas y que gastan gran cantidad de energía en su introducción a través del poro. Por lo tanto, en todo este movimiento hay cargas que deben ser transportadas, ruta de transporte, dirección del transporte, combustible para los movimientos y mecanismos de translocación y regulación, algo realmente complicado.^{1, 6, 10-13}

Han sido demostradas señales de localización nuclear (nuclear localization sequence - NLS) y señales de exportación nuclear (nuclear export sequence - NES) que al parecer están basadas en proteínas especiales o complejos de proteínas-RNA (RNPs). Existen familias de receptores de transporte nuclear que reconocen las NLS y las NES y han recibido varios nombres como karioferinas (Radu, 1995), p97 (Chi, 1995), PTACs (Imamoto, 1995), importinas (Gorlich, 1995), transportinas (Pollard, 1996), exportinas (Stade, 1997), y Ran-binding proteins (Corbett y Silver, 1997). Todas significan lo mismo y sirven para transportar las

moléculas cargadas. Sólo en la *S. cerevisiae*, un hongo, se ha encontrado codificados 14 diferentes receptores nucleares de transporte; en células de organismos más complejos hay decenas de estos receptores.¹⁰⁻¹⁴ Hay un tercer tipo de señal, los nuclear retention signal (NRS).

La ruta es a través de los poros nucleares, que al parecer no son estructuras estáticas, sino flexibles que permiten el paso selectivo de moléculas de diversos tamaños, marcadas y reconocidas por familias de receptores del poro. La dirección a seguir al parecer está determinada por la proteína Ran GTPasa, las Ran pueden estar localizadas predominantemente dentro del núcleo y otras pequeñas Ran pueden estar situadas fuera del núcleo y que actuarían como coactivadoras. El combustible parece provenir en la mayoría de los casos de la hidrólisis de GTP, es la energía por Ran citoplasmática. Se sabe que para transportar los diferentes tipos de RNA hacia el citoplasma existen mecanismos diferentes: así los RNAs no van unidos a proteínas, los RNAm son transportados por proteínas específicas y marcados con una señal llamada caperuza 5' y los RNAr son transferidos preconfigurados como subunidades ribosómicas; en las larvas de *Chironomoustentans*, se ha observado al M.E. claramente el transporte a partir de lo que ha sido denominado el anillo de Balbioni.^{6, 10, 13, 14}

En los últimos cinco años se han obtenido fuertes evidencias que citoquinas, como el factor B de crecimiento transformante (TGF-B), controlan diversos procesos celulares como proliferación, reconocimiento, diferenciación, apoptosis, etc. Lo hacen activando sistemas de proteínas que son translocadas a través del complejo del poro y que regulan la transcripción de ciertos genes; esto sería el caso de los sistemas de proteínas "Smad", descubierto en 1996 por Derynck y que son parte del inmenso tráfico que ocurre a través de los poros entre el núcleo y el citoplasma.¹⁵

La membrana nuclear interna característicamente presenta en su superficie nucleoplásmica una densa red proteica denominada lámina nuclear y se han encontrado tres tipos los cuales se les ha llamado láminas A, B y C. Actualmente se considera que son parte del citoesqueleto y, por sus características químicas y fisicoquímicas, se les ha incluido entre los filamentos intermedios (FI). Estos filamentos forman una red o malla bidimensional a la cual se une la cromatina nuclear. Eso significa que la cromatina no se une directamente a la membrana interna nuclear, sino que se encuentra de por medio esta malla de láminas. La red sólo está interrumpida a nivel de los poros nucleares, rodeando la zona de cesta de baloncesto y el anillo nuclear interno de los complejos del poro.^{6, 13, 14, 17}

La malla formada por las láminas se unen, por un lado, a proteínas específicas de la membrana interna nuclear, tales como: receptor de lámina B (LBR), todos los polipéptidos asociados a lámina 1 (LAP1), algunos isomorfos de LAP2, la emerina y la MAN-1; se sabe con precisión que la lámina A se une a la emerina. Por otro lado, se ha logrado establecer que las láminas también interaccionan con proteínas asociadas a la cromatina (no histonas) como la Hp1, proteínas asociadas con represión génica, la proteína RUSH que interactúa con el factor de transcripción SWI/SNF y con la RFBP (ring finger binding protein).^{1,6,17}

Consideremos la propia estructura molecular de las láminas A, B y C. Tienen un peso molecular de 74, 72 y 62 KDa, respectivamente. Son dímeros con una cola en forma de varilla y en un extremo hay dos cabezas globulares. Estas moléculas se ensamblan de tal forma que originan una malla cuadrangular. Por un lado se anclan firmemente a toda la cara nucleoplásmica de la membrana interna nuclear, y por el otro lado interaccionan con la cromatina, excepto en donde desembocan los poros nucleares, a los cuales rodea.^{8,9,12,17,18}

Las láminas están presentes en todos los núcleos de todas las células de los vertebrados y son características de los núcleos interfásicos. A pesar de ser incluidos en los FI del citoesqueleto, sólo han sido encontrados en el interior de núcleo; en cambio, los otros FI son citoplasmáticos. Otra diferencia es que las láminas forman redes o mallas y los otros FI se disponen en haces.^{6,8}

Las láminas A y C derivan del mismo pre-RNA por cortes y empalmes (splicing) alternativos y son idénticas excepto en el residuo 133 que sólo está en la lámina A. Estas dos láminas han sido codificadas por el gen LMNA. La lámina B es codificada por una unidad transcripcional diferente y hay dos genes que la codifican llamados LMNB y LMNB2.¹⁶⁻¹⁸

Finalmente, la evidencia indica que las láminas parecen cumplir varias funciones y trabajos comparables con lo que hacen los otros FI citoplasmáticos. Estas láminas participan en el mantenimiento de la envoltura nuclear y su organización; por lo tanto, también participa en la disolución de la membrana nuclear durante la división celular. En la profase las láminas son fuertemente fosforiladas, específicamente en las serinas, por el llamado factor de promoción y maduración o factor de promoción de mitosis (MPF), descubierto en ovocitos de rana.

Esta fosforilación provoca la despolimerización de las tres láminas. Las A y C quedan disueltas en la solución y la B sólo se fragmenta en unidades menores. Este desensamblaje de las láminas provoca la disgregación de toda la doble envoltura de la membrana nuclear, incluyendo a los poros con sus complejos en varias

fracciones. La membrana nuclear desaparece, en realidad queda reducida a pequeñas vesículas a las cuales quedan unidos los fragmentos de la lámina B. Luego, durante la telofase, las tres láminas son desfosforiladas, se vuelven a polimerizar, reensamblan la red y a la membrana nuclear propiamente dicha en las células hijas. Parece que también participan de alguna manera en la organización de la cromatina, en la transcripción y replicación del DNA. Ellas determinan la forma del núcleo y controlan la distribución especial de los poros nucleares.^{6,8,16-18}

Así como las láminas participan en el ensamblaje y desensamblaje de las membranas nucleares, hay grupos de proteínas del complejo del poro que su función es rearmar estos complejos, es el caso del llamado complejo Nup107-160, que hacia el final de la mitosis rearma el complejo del poro, es posible que existan otros factores que coadyuven en dicha función.^{18,19}

REFERENCIAS

1. Paniagua R. Citología e histología vegetal y animal. Tercera edición. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España; 2002.
2. Camargo M. El origen de una ciencia: la citología. Rev Med Cient 1994; 9(2): 73 – 8.
3. Schutz-Schaeffer F. A short history of cytogenetics. Biol 1976; 95: 193 – 221.
4. De Robertis EMF, Hib S, Ponzio R. Biología celular y molecular. 13ra edición. Argentina: Editorial El Ateneo; 2000.
5. Montgomery R, Conway TW, Spector AA, Chappell D. Bioquímica. Casos y texto. Sexta edición. Madrid: Harcourt Brace de España, S.A.; 1998.
6. Lodish H, Baltimore D, Berk A. Molecular Cell Biology. Cuarta edición. USA: W.H. Freeman & Company; 1999.
7. Grundmann E. Citología general. Introducción a la morfología general. Barcelona: Editorial Labor, S.A.; 1967.
8. Alberts B, Jonson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular biology of the cell. Cuarta edición. USA: Garland Publishing, Inc.; 2002.
9. Junqueira LC, Carneiro J. Biología celular y molecular. Sexta edición. Santiago: McGraw-Hill Interamericana de Chile Ltda.; 1998.
10. Nakielny S, Dreyfuss G. Transport of proteins and RNAs in and out of the nucleus. Cell 1999; 99: 677 – 90.
11. Delphin C, Guan T, Melchior F, Gerace L. RanGTP targets p97 to RanBP2, a filamentous protein localized at the cytoplasmatic periphery of the nuclear pore complex. Mol Biol Cell 1997; 8: 2379 – 90.
12. Hinshaw JE, Carragher BO, Milligan RN. Architecture and design of the nuclear pore complex. Cell 1992; 69: 1133 – 41.
13. Vetter IR, Arndt A, Kutay U, Gorlich D, Wittinghofer A. Structural view of the Ran – Importin beta interaction at 2.3 Å resolution. Cell 1992; 69: 635 – 46.
14. Pollard TD, Earnshaw WC. Cell biology. Philadelphia: Saunders; 2002.
15. Shi G, Massague J. Mechanisms of TGF- β signaling from cell membrane to the nucleus. Cell 2001; 104: 631 – 4.
16. Wolff AP, Hansen JC. Nuclear visions: functional flexibility from structural instability. Cell 2003; 113: 685 – 700.
17. Wilson KL, Zastrow MS, Lee KK. Lamins and disease: insights into nuclear infrastructure. Cell 2001; 104: 647 – 50.
18. Paddy MR, Agard DA, Sedat JW. An extended view of nuclear lamin structure, function and dynamics. Semin Cell Biol 1992; 3: 255 – 66.
19. Walther TC, Alves A, Pickersgill H, Loiodice I, Hetzer M, Galy V, et al. The conserved Nup107 – 160 complex is critical for nuclear pore complex assembly. Cell 2003; 133: 195 – 206.