



**REVISIÓN SOBRE FILAMENTOS INTERMEDIOS, CON ESPECIAL
REFERENCIA A LAS CITOQUERATINAS.
REVIEW OF INTERMEDIATE FILAMENTS, WITH SPECIAL REFERENCE TO
CYTOKERATINS.**

Martínez Pérez, J. M.¹ y Martínez Rodríguez, J. M.²

¹ Personal Investigador en Formación Asimilado. Departamento: Sanidad Animal.

² Profesor Titular. Dpto: Medicina, Cirugía y Anatomía Veterinaria (Historia de la Veterinaria). Facultad de Veterinaria - Universidad de León.

RESUMEN

Los filamentos intermedios son los elementos del citoesqueleto más resistentes; forman una red que rodea al núcleo y que se extiende hasta la periferia celular, interaccionando con la membrana plasmática. La familia de las citoqueratinas constituye el principal tipo de filamentos intermedios en la mayoría de células epiteliales.

El objetivo de esta revisión es valorar la importancia de los filamentos intermedios en la estructura celular y su patrón de expresión en diferentes localizaciones. De este modo se podrá caracterizar la expresión y morfología de dichos filamentos en un estado fisiológico en contraposición con estados patológicos.

Palabras clave: citoesqueleto, filamentos intermedios, citoqueratinas, proteína, epitelio, glándula mamaria, vimentina.

ABSTRACT

The intermediate filaments are the most resistant elements of the cytoskeleton; they develop a mesh that surrounds the nucleus and reach the cellular periphery, connecting to the plasmatic membrane. Cytokeratins are the main type of intermediate filaments in epithelial cells.

The objective of our work is to assess the importance of intermediate filaments inside

the cell structure and their expression pattern through different localizations. Thus the expression and morphology of these filaments will be characterized in a physiological condition in comparison with pathological process.

Key words: cytoskeleton, intermediate filaments, cytokeratins, protein, epithelium, mammary gland, vimentin.

INTRODUCCIÓN

La célula eucariota tiene sus proteínas estructuradas en forma de esqueleto celular que es una formación dinámica que modifica sus características morfológicas como consecuencia de cambios estacionales medioambientales. El citoesqueleto está constituido por diferentes elementos: los microtúbulos, los microfilamentos y los filamentos intermedios (FI). El tamaño de los primeros es de 22-25 nm (nanómetros) de diámetro, tienen una forma tubular y están formados por tubulina. Si se realiza un corte transversal se ve una estructura anular, mientras que tras un corte longitudinal se aprecian dos líneas paralelas de unos 5 nm de grosor.

En segundo lugar están los microfilamentos, con unos 6 nm de diámetro, no tienen forma tubular y están constituidos por actina. Al efectuar un corte transversal se aprecian puntos en lugar de un anillo y, al hacer lo mismo longitudinalmente, líneas simples (en los microtúbulos eran dos pares de líneas).

El tercer sistema incluye a los filamentos intermedios (FI), anteriormente englobados dentro del grupo de microfilamentos o considerados como productos de degradación de los microtúbulos o de los microfilamentos gruesos de miosina (Hackney, 1996). Se caracterizan por ser los elementos citoesqueléticos más rígidos y resistentes, forman una red periférica al núcleo y se extienden alrededor de la célula. Su misión fundamental es proporcionar resistencia mecánica a la célula (Alberts *et al*, 1999), así como regular la localización de proteínas y la transmisión de señales intracelulares (Paramio y Jorcano, 2002). Tras la aplicación de nuevos métodos inmunohistoquímicos se lograron identificar e independizar en un único grupo.

Al principio estos filamentos se denominaron según su localización principal; así tendríamos los tonofilamentos (en las células epiteliales), los neurofilamentos (en las neuronas) o los gliofilamentos (en las células de la glía), entre otros. Pero no sólo en estos lugares, sino que también se han identificado en la mayor parte de las células, como fibroblastos o células endoteliales. Se encuentran dispersos heterogéneamente en el citoplasma, con unas dimensiones, función y estructura variables.

La secuencia aminoacídica forma una estructura tripartita común que consiste en un dominio central α -hélice altamente conservado, con dos extremos [N-terminal y C-terminal] y una gran variabilidad de secuencias de aminoácidos. Tienen un diámetro intermedio si los comparamos con los microtúbulos y los microfilamentos, entre 8 y 10 nm. Su función principal es meramente estructural y arquitectónica. (Figura 1)

251659776

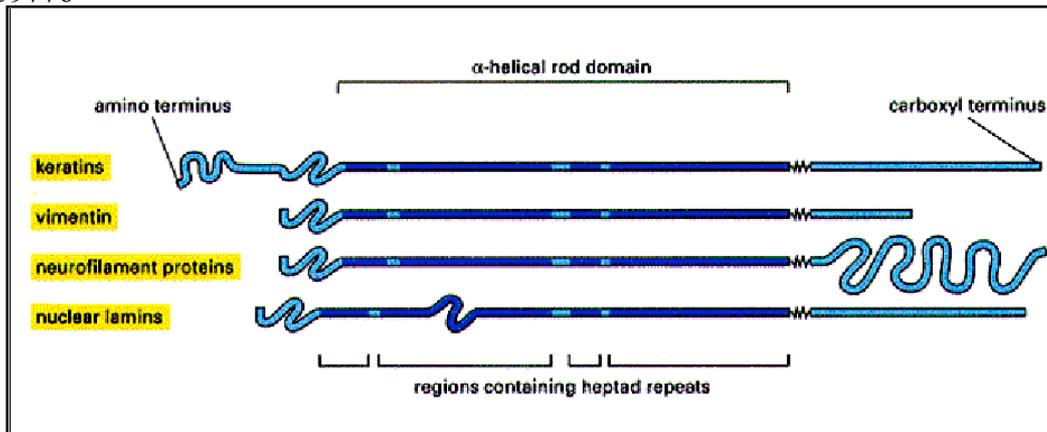


Figura 1 → Estructura de los filamentos intermedios (Carrillo *et al*, 2006; Lodish *et al*, 2002)

CARACTERÍSTICAS DE LOS FILAMENTOS INTERMEDIOS

Se localizan en diferentes tipos de células. Según dónde se encuentren podemos hablar de neurofilamentos (en las neuronas), gliofilamentos (en células de la glía), citoqueratinas (en células epiteliales), filamentos de desmina (en el músculo liso y estriado), filamentos de vimentina (en células mesenquimales, principalmente), filamentos de periferina (en neuronas que emiten axones por el sistema nervioso periférico) y láminas nucleares (Albers y Fuchs, 1992). No son completamente específicos de un tipo celular, pueden coexistir en un mismo sitio, como los filamentos de citoqueratina y de vimentina.

La configuración espacial de los FI es una la molécula polipeptídica de forma helicoidal con tres porciones que se despliegan. Posee 310 aminoácidos y mide 48 nm de longitud. Cada molécula se une a otra similar dando lugar a un dímero. La unión antiparalela de dos dímeros forma un tetrámero. El dímero tendría un grosor de 1.5 nm y el tetrámero, del doble. El ensamblaje-desensamblaje de los filamentos intermedios tiene lugar mediante la fosforilación. No está clara la existencia de un centro organizador de filamentos intermedios,

bien sea común o específico para cada una de las proteínas. Se conoce la existencia de Proteínas Asociadas a Filamentos Intermedios (IFAP) que pueden unir unos filamentos con otros entre sí o filamentos intermedios a microtúbulos mediante las proteínas asociadas de éstos.

CLASIFICACIÓN GENERAL DE FILAMENTOS INTERMEDIOS

a) Neurofilamentos

Están constituidos por tres polipéptidos diferentes, de 65, 105 y 135 Kd (Kilodalton), que son los llamados NF-L, NF-M y NF-H, respectivamente. Se encuentran en las neuronas y los axones del sistema nervioso central y periférico. Tienen un diámetro de 10 nm. Cada neurofilamento se relaciona con su vecino a través de unas proteínas asociadas. Su función es fundamentalmente estructural.

b) Gliofilamentos

Están representados por la Proteína Ácida Fibrilar de la Glía (GFAP), de 55 Kd. No se encuentran en todas las células gliales, sólo en el citoplasma de los astrocitos y de células asociadas a éstos; en los oligodendrocitos no aparecen (Inagaki *et al*, 1994).

Este filamento es el responsable de modular el movimiento y proporcionar estabilidad estructural a los procesos astrocitarios (Eng *et al*, 2000), aunque al carecer de las interconexiones que presentan los neurofilamentos tienen menos movimiento.

Poseen un diámetro de 8 nm.

c) Citoqueratinas

Están constituidas por numerosas clases de proteínas fibrilares (40-70 Kd), ácidas y básicas, con un diámetro de 8 nm. Constituyen el mayor subgrupo dentro de los filamentos intermedios. Su función principal es proteger a las células epiteliales del estrés mecánico (Lee y Coulombe, 2009). Últimas investigaciones revelan un nuevo papel de los filamentos intermedios, siendo esenciales en el crecimiento celular y en el tamaño por intervenir en la regulación de la síntesis proteica (Kim *et al*, 2006). Existen diferencias en la expresión de dichas proteínas entre las distintas células de un mismo vertebrado.

Las citoqueratinas no son exclusivas de los epitelios queratinizados. Se encuentran también en la mayoría de las células epiteliales incluyendo los endotelios, excepto en los epitelios glomerular, del cristalino o del iris, entre otros. Esta proteína está ligada a otra, la

filagrina (Hogen *et al*, 1999). Se trata de una proteína estructural. Interviene en uniones desmosómicas y es barrera de protección celular frente a ciertas agresiones externas. Estudios realizados con difracción de rayos X muestran que existe un patrón de citoqueratinas típico del tejido epitelial.

La composición de subunidades de citoqueratinas es extremadamente heterogénea, variando con dependencia de la localización anatómica, el crecimiento celular, el ambiente, el estado de diferenciación y el momento de desarrollo embrionario. La expresión de citoqueratinas en numerosos epitelios es diferente en tejidos normales si la comparamos con los tejidos tumorales; por lo que resulta un criterio diagnóstico muy efectivo con el uso de los anticuerpos apropiados (Mínguez *et al*, 1995; Painter *et al*, 2010). Las denominadas ácidas se engloban en el tipo I, y las básicas en el tipo II.

d) Filamentos de Desmina

Están formados por la proteína desmina, de 52 Kd. Comparten localización con los miofilamentos finos y gruesos en el músculo liso, aunque su función no tiene relación con la contracción, sino con la estructura e interconexión. También se encuentran en los miofibroblastos y en el músculo estriado. En este último, los filamentos de desmina son los encargados de unir los miofilamentos y rodear las líneas Z para que puedan quedar al mismo nivel, así como anexionar el retículo sarcoplasmático y los túbulos T al sarcómero (Geisler *et al*, 1992). Su principal función es la estructural. Tienen 10 nm de diámetro.

e) Filamentos de Vimentina

Están constituidos por la proteína vimentina, de 53 Kd. Se encuentran en células mesenquimáticas, así como en algunas células epiteliales, células de Schwann o células de la glía. Suelen aparecer asociadas a las fibras de desmina. Tienen 10 nm de diámetro.

f) Filamentos de Periferina

Están formados por una proteína similar a la vimentina (también de 57 Kd), denominada periferina. Se encuentran en las neuronas cuyos axones se extienden más allá del sistema nervioso central, como las de los ganglios raquídeos, simpáticos y parasimpáticos, las neuronas sensoriales y las motoras del asta anterior de la médula espinal y de algunos núcleos motores de los nervios craneales; es decir, en el sistema nervioso periférico. Es un polipéptido de 57 Kd con cierto parecido a la vimentina, con 10 nm de diámetro.

g) Láminas nucleares

Están constituidas por tres tipos de polipéptidos (de 74, 72 y 62 Kd), dando lugar a las láminas A, B y C, respectivamente. Forman dímeros de laminina que se juntan a su vez para dar lugar a redes trabeculares. A diferencia del resto de filamentos intermedios, las láminas se disponen en forma de malla, mientras que los otros lo hacen en configuración de haz. Son importantes en la organización nuclear de la célula. (Tabla 1)

<u>Tipo</u>	Peso Molecular (Kd)	Diámetro (nm)	Tipos celulares principales
Neurofilamentos	65, 105 y 135	10	Neuronas
Gliofilamentos	55	8	Astrocitos
Citoqueratinas	40-70	8	Células epiteliales
Fil. de Desmina	52	10	Células musculares
Fil. de Vimentina	53	10	Células mesenquimales
Fil. de Periferina	57	10	Sist. Nervioso Periférico
Lám. nucleares	62, 72 y 74	redes	Todos

Tabla 1 → FILAMENTOS INTERMEDIOS

Actualmente existe una nueva clasificación de FI. La familia de filamentos intermedios está formada por más de sesenta componentes, divididos en seis categorías concordando con su homología de secuencia, su estructura génica y sus propiedades de ensamblaje; la quinta categoría tiene sus propias particularidades (Strelkov *et al*, 2002). Siguiendo estos criterios se distinguen los siguientes tipos:

- TIPO I: Incluye las citoqueratinas ácidas. Son un grupo de proteínas que forman el citoesqueleto de los filamentos intermedios en las células epiteliales de vertebrados, así como de anejos cutáneos (pelo y uñas). Su peso molecular está entre 40-60 Kd. Tienen un punto isoeléctrico (pI) menor a 5.7, es ácido. Están incluidas desde la citoqueratina 9 a la 20.

- TIPO II: Al contrario que las anteriores, aquí están las citoqueratinas básicas. Son diferentes a las de tipo I en características de índole bioquímica, inmune, funcional (en cuanto a

capacidad de formación de filamentos) y según su homología de secuencia. Su peso molecular es mayor que las de tipo I, entre 50-70 Kd. Su pI es superior a 6, es básico. Aquí están englobadas desde la citoqueratina 1 a la 8.

- TIPO III: Es un grupo bastante heterogéneo, incluyendo a los filamentos de vimentina, de desmina, a los gliofilamentos y a la periferina.

- TIPO IV: Engloba los neurofilamentos y la α -internexina. Esta última se encuentra en el sistema nervioso central y tiene un peso molecular de 57-150 Kd.

- TIPO V: Aquí entran las láminas nucleares.

- TIPO VI: Incluye la proteína nestina. Está implicada en el crecimiento axonal en su grosor. Su Peso molecular es de 66 Kd. También estarían incluidas otras como la sinemina, la paranemina y la tanabina.

Aparte de las citoqueratinas enumeradas, se han encontrado isoformas de las mismas (Eastwood *et al*, 2007), que indicaría la existencia de mayor número de queratinas y una expresión propia para cada tejido o tipo celular, lo que conlleva cierta especificidad funcional (Lodish *et al*, 2002). (Tabla 2)

TIPO I		TIPO II	
Denom. previa	Denom. actual	Denom. previa	Denom. actual
K9	K9	K1	K1
K10	K10	K2	K2
K11	K11	K3	K3
K12	K12	K4	K4
K13	K13	K5	K5
K14	K14	K6a	K6a
K15	K15	K6b	K6b
K16	K16	K6e/h	K6c
K17	K17	K7	K7
K18	K18	K8	K8
K19	K19	K2p	K76
K20	K20	K1b	K77
K23	K23	K5b	K78
K24	K24	K6I	K79
		Kb20	K80

Tabla 2 → Denominación de las citoqueratinas (Aquino y Jurado, 2008)

Dependiendo del momento de desarrollo hay predominancia de unas citoqueratinas sobre otras: las primeras que se expresan son la 8, la 18 y la 19, pero hay un cambio durante el desarrollo del feto; por un lado los epitelios simples presentan las variedades 7, 8, 18 y 19, los epitelios más complejos expresan la 4, 5, 6, 8, 13, 14, 15, 17, 18 y 20 (D'Armento *et al*, 2009) y, por último, la epidermis y algunos epitelios (como el de la boca o la vagina), la 1, 2, 5, 9, 10, 11 y 16.

Los filamentos de citoqueratina de tipo I y los de tipo II están siempre en número equivalente formando dímeros y tetrámeros. Es decir, son heteropolímeros obligados que requieren la presencia simultánea de polipéptidos de tipo I y de tipo II para la formación de filamentos (Franke *et al*, 1983). El ensamblaje de las proteínas para dar lugar filamentos es un proceso complejo. Se sabe que inicialmente se constituyen los dímeros y luego, a raíz de éstos, los tetrámeros (Stewart, 1993).

CONCLUSIONES

- El estudio del citoesqueleto constituye una excelente herramienta para determinar los cambios fisiológicos o patológicos de las células.
- La existencia de un nuevo catálogo de filamentos intermedios (Strelkov et al., 2002) que agrupa los distintos filamentos estudiados hasta ahora en la clasificación clásica y diferenciando de una forma más clara los grupos de citoqueratinas atendiendo a su punto isoeléctrico.
- La expresión de las citoqueratinas varía a la par que los cambios fisiológicos celulares y también en células tumorales. Existen diferencias en la expresión de dichas proteínas entre las distintas células de un mismo vertebrado.

BIBLIOGRAFÍA

- Albers, K. y Fuchs, E. (1992): "The molecular biology of intermediate filament proteins", en *International Review of Cytology* 134: 243-279.
- Alberts, B.; Bray, D.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K. y Walter, P.: *Introducción a la Biología Celular*. Barcelona: Ed. Omega, 1999.
- Aquino, C. G. y Jurado, F. (2008): "Citoqueratinas en dermatología", en *Revista Mexicana de Dermatología* 52(6): 254-262.
- Asch, H. L. y Asch, B. B. (1987): "Expression of keratins and other cytoskeletal proteins in mouse mammary epithelium during the normal developmental cycle and primary culture", en *Developmental Biology* 107(2): 470-482.
- Bennett, C. N. y Green, J. (2010): "Genomic analyses as a guide to target identification and preclinical testing of mouse models of breast cancer", en *Toxicologic Pathology* 38: 88-95.
- Carrillo, N.; Ortuño, D. y Gudiño, G. (2006): "Expresión de las isoformas α y β del mRNA del GFAP durante la diferenciación del PNM de BO de rata adulta hacia el fenotipo de aldainoglia y en glía envolvente purificada", en *Avances en la Investigación Científica en el CUCBA (Centro Univ. de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de Guadalajara)*, Méjico.
- D'Armento, G.; Daniele, L.; Mariani, S.; Ottaviani, D.; Mussa, A.; Cassoni, P.; Sapino, A. y Bussolati, G. (2009): "Added value of combined gene and protein expression of CK20 and CEA in non-macroscopically involved lymph nodes of colorectal cancer", en *International Journal of Surgical Pathology* 17: 93-98.

- Eastwood, J.; Offutt, C.; Menon, K.; Keel, M.; Hrnčirova, P.; Novotny, M. V.; Arnold, R. y Foley, J. (2007): "Identification of markers for nipple epidermis: changes in expression during pregnancy and lactation", en *Differentiation* 75: 75-83.
- Eng, L. F.; Ghirmikar, R. S. y Lee, Y. L. (2000): "Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000)", en *Neurochemical Research* 25(9-10):1439-1451.
- Ersahin, C.; Chivukula, M.; Bhargava, R. y Dabbs, D. (2010): "Basal-like subtype breast cancers in women older than 40 years of age", en *Int. Journal of Surgical Pathol.* 18: 42-47.
- Franke, W. W.; Schiller, D. L.; Hatzfeld, M. y Winter, S. (1983): "Protein complexes of intermediate-sized filaments: melting of cytokeratin complexes in urea reveals different polypeptide separation characteristics", en *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 80(23): 7113-7117.
- Geisler, N.; Schunemann, J. y Weber, K. (1992): "Chemical crosslinking indicates a staggered and antiparallel protofilament of desmin intermediate filaments and characterizes one higher-level complex between protofilaments", en *European Journal of Biochemistry* 206(3): 841-852.
- Hackney, D. D. (1996): "The kinetic cycles of myosin, kinesin and dynein", en *Annual Review of Physiology* 58: 731-750.
- Hogen, H.; Boggess, D. y Sundberg, J. P. (1999): "Changes in keratin and filaggrin expression in the skin of chronic proliferative dermatitis (cpdm) mutant mice", en *Pathobiology* 67: 45-50.
- Inagaki, M.; Nakamura, Y.; Takada, M.; Nishimura, T. e Inagaki, N. (1994): "Glial fibrillary acidic protein: dynamic property and regulation by phosphorylation", en *Brain Pathology* 4(3): 239-243.
- Ivanyi, D.; Minke, J. M.; Hageman, C.; Groeneveld, E.; Van Doornewaard, G. y Misdorp, W. (1993): "Cytokeratins as markers of initial stages of squamous metaplasia in feline mammary carcinomas", en *American Journal of Veterinary Research* 54(7): 1095-1102.
- Kim, S.; Wong P. y Coulombe, P. A. (2006): "A keratin cytoskeletal protein regulates protein synthesis and epithelial cell growth", en *Nature* 441: 362-365.
- Lee, Ch. H. y Coulombe, P. A. (2009): "Self-organization of keratin intermediate filaments into cross-linked networks", en *The Journal of Cell Biology* 186(3): 409-421.
- Lodish, H.; Berk, A.; Zipursky, S. L.; Matsudaira, P.; Baltimore, D. y Darnell, J.: *Biología Celular y Molecular*. Madrid: Ed. Médica/Panamericana, 2002.
- Michalczyk, A.; Brown, R.; Collins, J. y Ackland, M. (2001): "Lactation affects expression of intermediate filaments in human breast epithelium", en *Differentiation* 67: 41-49.

- Mínguez, O.; Bravo, A. M.; Aller, Ó. y Martínez, J. M. (1995): "Citoqueratinas en tumores de mama provocados por DMBA", en *Revista de Experimentación Animal* 6(1): 70.
- Moll, R.; Franke, W. W. y Schiller, D. L. (1982): "The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells", en *Cell* 31(1): 11-24.
- Painter, J. T.; Clayton, N. P. y Herbert, R. A. (2010): "Useful immunohistochemical markers of tumor differentiation", en *Toxicologic Pathology* 38: 131-141.
- Paramio, J. M. y Jorcano, J. L. (2002): "Beyond structure: do intermediate filaments modulate cell signaling?", en *Bioessays* 24(9): 836-844.
- Steinert, P. M. (1991): "Analysis of the mechanism of assembly of mouse keratin 1/keratin 10 intermediate filaments: evidence for alternating rows of antiparallel in-register and antiparallel staggered molecules", en *Journal of Structural Biology* 107: 157-174.
- Stewart, M. (1993): "Intermediate filament structure and assembly", en *Current Opinion in Cell Biology* 264: 933-953.
- Strelkov, S.; Herrmann, H.; Geisler, N.; Wedig, T. y Zimbelmann, R. (2002): "Conserved segments 1A and 2B of the intermediate filament dimer: their atomic structures and role in filament assembly", en *The EMBO Journal* 21: 1255-1266.
- Sun, T. T.; Eichner, R.; Nelson, W. G.; Vidrich, A. y Woodcock-Mitchell, J. (1983): "Keratin expression during normal epidermal differentiation", en *Current Problems in Dermatology* 11: 277-291.