

TEMA 33

Envejecimiento y muerte celular

33.1.- Introducción.

Un hecho evidente es que la duración de la vida es limitada. A lo largo de la vida encontramos una serie de etapas, marcadas en un principio por el desarrollo de funciones, etc. y que posteriormente acabarán con una etapa de envejecimiento.

En el momento de la fecundación va a comenzar por tanto, la actividad vital de un nuevo individuo. Durante el desarrollo embrionario se van a ir produciendo procesos de crecimiento y diferenciación; el embrión es un organismo dependiente del cuerpo materno para realizar sus funciones vitales. En el momento del nacimiento el organismo aparece ya como entidad viva individualizada. Ya durante el desarrollo postnatal se va a producir el crecimiento de la masa corporal y el perfeccionamiento, tanto en la forma, como en las funciones. En la madurez se van a completar todas las funciones y se alcanza el grado óptimo de adaptación al medio ambiente, es decir, es el momento en el que el sujeto goza de la máxima funcionalidad. Ya en una etapa de envejecimiento, comienza un deterioro progresivo, así como un periodo de mayor vulnerabilidad, que termina con el momento de la muerte, en el que se produce el cese total de actividad.

A nivel celular, a finales de los años 60 y principio de los 70, se llegó a la conclusión de que las células tienen una capacidad limitada de supervivencia, es decir, que cuando en un cultivo de células, induces su crecimiento, éste se produce, y se puede doblar el cultivo hasta un número determinado de veces; por tanto, ese cultivo es capaz de crecer durante un tiempo, y una vez llegado a ese límite se detiene la capacidad proliferativa del cultivo, por lo que las células envejecen.

El concepto de “envejecimiento” y el de “muerte celular” no son iguales aplicados a nivel celular, que aplicados a un organismo, en nuestro caso, humano. Hablamos de una célula envejecida, cuando ésta, ha perdido su capacidad proliferativa, es decir, permanece en fase G_0 hasta que muere, ya que las células no suelen morir directamente. Por el contrario, la muerte celular, es un proceso que no tiene porque ir acompañado de envejecimiento celular, y se produce de forma fisiológica durante el desarrollo embrionario, en el que muchas células para que se produzca un correcto crecimiento del nuevo organismo tienen que morir. Es el caso del 80% de las neuronas del embrión, que mueren durante el desarrollo embrionario, y son evidentemente células jóvenes que han sufrido pocos procesos de división celular.

33.2.- Envejecimiento celular.

Los procesos de envejecimiento celular no manifiestan muchas diferencias en las células que los padecen respecto a aquellas que no los padecen. Algunas de estas manifestaciones son:

- Aumento del tamaño celular, tanto del citoplasma como del núcleo.
- La célula se aplana.
- Se vuelven irregulares.
- Pierden contacto con células vecinas.
- Etc.

TEMA 33: Envejecimiento y muerte celular

Además, dependiendo del tipo de célula, aparecen otra serie de indicadores de que la célula está inmersa en un proceso de envejecimiento celular:

- **Acumulación de filamentos intermedios.** En algunas células, con el paso del tiempo y con la realización de procesos de división, se pueden ir acumulando en las células determinados tipos de filamentos intermedios. Por ejemplo, en el caso de la piel (queratinocitos), se suelen acumular citoqueratinas.
- **Acumulación de pigmentos de desgaste**, como pueden ser:
 - o Lipofucsina, presente en células como las neuronas o los miocitos cardíacos.
 - o Ceroide, presente entre otras células en los hepatocitos.

Son sustancias autofluorescentes, es decir, si las iluminamos a determinada longitud de onda emitirán una luz también de determinada longitud de onda, sin necesidad de añadir otra sustancia fluorescente. Estas sustancias se acumulan en las células contenidas en los cuerpos residuales, que son vesículas que los lisosomas no pueden acabar de degradar y por tanto son almacenadas en el citoplasma. Curiosamente, mediante el estudio de estos cuerpos residuales podemos determinar la edad de la célula.

Experiencias de Hayflick:

Hacia finales de los 60, Leonard Hayflick, un microbiólogo americano realizó una serie de experimentos que le permitieron demostrar que las células tienen codificado en su interior el número de veces que pueden dividirse.

En las experiencias que se realizaban en la época se trabajaba con líneas de cultivo. En aquellos años se pensaba que las células se podían dividir casi eternamente, pero que se morían debido a las malas condiciones de los cultivos, ya que a unos investigadores se les morían en unos momentos, y a otros, en otros momentos diferentes. Pero entonces, Hayflick, decidió investigar con fibroblastos humanos, obtenidos de la disgregación de tejido pulmonar. Sus experiencias se basaron en multiplicar las células y realizar doblajes a los cultivos, viendo que durante unos meses podían dividirse, pero que en un momento determinado las células ya no proliferaban más y morían. Decidió por tanto, estudiar el número de doblajes que podía realizar antes de que las células perdieran su capacidad proliferativa. Como ya veremos, vio que podía llegar hasta aproximadamente 50 doblajes, y que a partir de aquí las células dejaban de crecer, para finalmente morir. Además, pocos doblajes antes de los 50, se comenzaban a verse signos de envejecimiento. Esto le llevó a pensar que el envejecimiento y la muerte celular eran fenómenos intrínsecos de la célula.

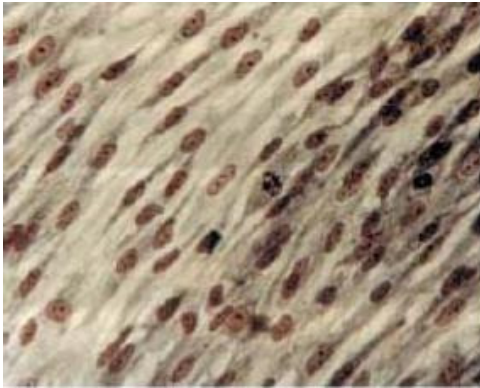
Experiencia: a partir de tejido pulmonar embrionario realizó un cultivo primario: troceó el tejido, lo tripsinizó para separar las células, lo lavó y lo sembró. En un medio adecuado, dejó las células hasta que alcanzaron la confluencia, es decir, hasta que crecen al máximo, fenómeno que ocurre típicamente tras una semana, momento en el cual realizó los subcultivos. Mientras las células se seguían dividiendo realizó más subcultivos. Al cabo de unos 50 subcultivos, las células dejaron de dividirse y degeneraron y murieron. Poco antes de esos 50 doblajes, como ya dijimos, se presentan los primeros signos de envejecimiento: las células tardan más en confluir, lo hacen más irregularmente, etc.

TEMA 33: Envejecimiento y muerte celular

CULTIVOS DE CÉLULAS WI-38

(las células WI-38 son una línea celular establecida)

Cultivo tras 20 doblajes



Las células permanecen compactas. Además, el núcleo y el nucleolo son visibles.

Cultivo tras 50 doblajes



El núcleo de estas células es mucho más irregular. Además, el nucleolo no se visualiza. Las células de este subcultivo (50) ya no logran proliferar.

Una vez visto los resultados de sus experimentos, Hayflick propuso que la muerte celular era algo característico de las células, que no dependía del medio. Para poder demostrar su teoría, realizó otra serie de experiencias, acordes a la tecnología del momento.

En este caso, quería demostrar que el envejecimiento era una propiedad intrínseca de la célula.

Experiencia: para este experimento utilizó células que se pudieran diferenciar de forma clara, y para ello utilizó igualmente fibroblastos pulmonares, pero tanto de hombre como de mujer.

Para comenzar la experiencia, los fibroblastos de hombre fueron sometidos a 40 doblajes o pases (por lo que podían todavía realizar 10 más), y los de fibroblastos de mujer, que fueron sometidos a 10 pases (por lo que podían realizar todavía 40 pases). Mezcló los fibroblastos masculinos (40 pases) y los fibroblastos femeninos (10 pases). Realizó con las células mezcladas 20 doblajes más, y vio que las células que quedaban eran todas de mujer. Este resultado era de esperar ya que las de varón solo podían hacer 10 doblajes más, si su teoría de los 50 doblajes era correcta.

Experiencia: realizó otra experiencia, en este caso utilizando técnicas de congelación mediante nitrógeno líquido, necesario para alcanzar las temperaturas tan bajas a las que las células se congelan.

TEMA 33: Envejecimiento y muerte celular

A una serie de células las sometió a 20 doblajes, tras los cuales las congeló, descongeló y continuó haciendo doblajes. Esas células solo pudieron hacer 30 más, ya que había realizado 20 pases antes de la congelación.

A otro grupo de células, antes de la congelación las sometió a 40 pases, tras los cuales las congeló mediante el nitrógeno líquido. Al descongelarlas, pudo realizar tan solo 10 subcultivos más, demostrando así su teoría de los 50 pases como límite para la proliferación celular.

Hayflick realizó además, otras experiencias para demostrar que el factor regulador del envejecimiento replicativo está en el núcleo.

Experiencia: en este estudio trató a las células con una droga, la *cytochalasina B*, que provoca la expulsión del núcleo celular, formándose los llamados *citoplastos*, que son viables durante varios días. El experimento consistió en fusionar citoplastos jóvenes y células viejas, así como la fusión de citoplastos viejos y células jóvenes. Tanto en el primer caso como en el segundo, las células formadas por la fusión perdieron la capacidad proliferativa en el momento en el que le correspondía perderla, utilizando como patrón a la célula con núcleo, es decir, que la edad del citoplasto no influye en la aparición de los fenómenos de envejecimiento y muerte celular.

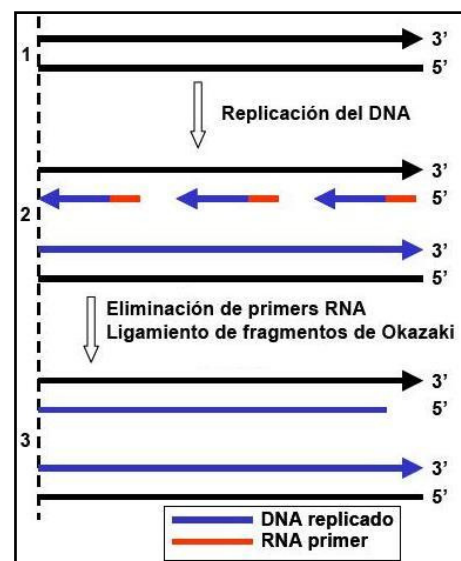
Experiencia: en la siguiente experiencia, Hayflick transplantó núcleos viejos y núcleos jóvenes, a citoplastos jóvenes y a citoplastos viejos, respectivamente. En el primer caso se vio como las células fusionadas morían más pronto que las del segundo caso, ya que es el núcleo el que determina el proceso de envejecimiento, y como en el segundo caso los núcleos utilizados eran jóvenes, las nuevas células podían realizar más procesos de división.

Conclusión: debe haber algún mecanismo genético que regule el envejecimiento.

=====

Todavía hoy en día no se conocen los mecanismos que determinan el envejecimiento celular, pero existen algunas hipótesis explicativas:

- La falta de actividad telomerasa. Esta ribonucleoproteína permite conservar la parte final de los cromosomas (telómeros) tras las replications del ADN. Como una de las hebras de los cromosomas se duplica mediante los fragmentos de Okazaki, cuando se produce el ligamiento de estos fragmentos, siempre se acorta el telómero para poder unir toda la hebra. Esta enzima telomerasa se encarga de copiar siempre la misma secuencia (TTAGGG, en humanos) para que el cromosoma no tenga cromátidas de diferente tamaño. Pero esta actividad no existe en todas las células; solo está presente en células madre, muchas veces también en células tumorales, pero no es así en células adultas, en las que la actividad



TEMA 33: Envejecimiento y muerte celular

telomerasa disminuye notablemente, llegando incluso a ser nula. Esto causa que los mecanismos que controlan el ciclo celular, detecten un daño celular, lo que no permite la replicación, y por tanto se pierde la capacidad proliferativa.

- Genes involucrados en el envejecimiento:
 - o Inhibidores de las proteínas quinasas dependientes de ciclina (que son las que controlan el ciclo celular), cuya tasa de transcripción aumenta durante el proceso de envejecimiento celular.
 - o Otros genes, cuyas proteínas no modifican el funcionamiento del ciclo celular, pero que también aumenta su expresión durante los procesos de envejecimiento celular, y que generan entre otras enfermedades, la **progenia**, que es una enfermedad degenerativa que hace que los niños desde que nacen envejezcan más rápido de lo habitual.

- Daños en general, principalmente producidos por los radicales libres (daño oxidativo). Estos radicales libres generan daños que no pueden ser reparados, por lo que se acción causa que la célula funcione cada vez peor, y además, su acción también aumenta los signos de envejecimiento celular. Se ha visto que si conseguimos descender el daño oxidativo —evitar que se produzca— aumenta la vida de la célula y de la persona.

En nuestro organismo no todas las células envejecen a la vez, sino que se van acumulando células envejecidas en los diferentes tejidos.

33.3.- Tipos de muerte celular: necrosis y apoptosis.

Al fenómeno de la muerte celular no se le prestó atención hasta los años 70 y 80. El hecho que desencadenó el interés en el estudio de la muerte celular fue la comprensión de la idea de que había un mecanismo con una serie de características bioquímicas, que mediante una serie de proteínas y de receptores era capaz de desencadenar el fenómeno de la muerte celular de forma controlada.

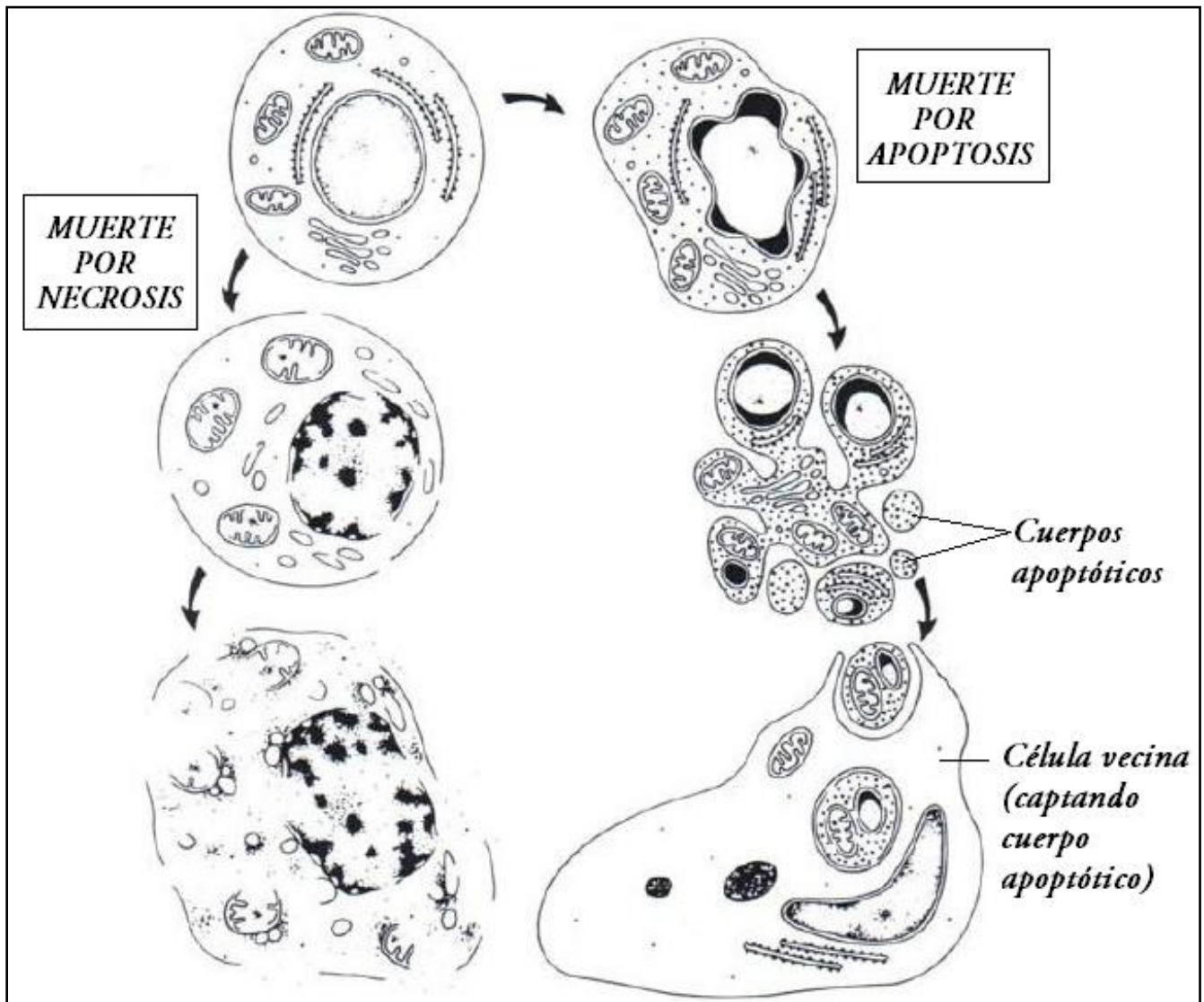
Las células de los organismos pluricelulares son miembros de una comunidad sumamente organizada. El número de células de esta comunidad está regulado con precisión —no sólo controlando la velocidad de la división celular, sino también regulando el ritmo de la muerte celular—. Aquellas células que ya no son necesarias, se autoeliminan activando un programa intracelular de muerte. Por lo tanto, este proceso se llama **muerte celular programada** (por tanto, fisiológico), aunque suele denominarse **apoptosis** (a partir de un término griego que significa "caer", como las hojas de un árbol, la caída del pelo, etc.). Este nombre surgió en los años 70, ya que hasta ese momento se denominaba "necrosis por encogimiento".

Podemos hablar por tanto, de dos tipos de muertes celulares: la necrosis y la apoptosis (o muerte celular programada).

La **necrosis** es un tipo de muerte que se produce de forma accidental. La alteración de las funciones de la membrana plasmática, más concretamente de la bomba ATPasa de Na^+ - K^+ , hace que aumente la permeabilidad, y por tanto, comience a entrar agua a la célula, que se hincha, alterándose pues su organización interna, y provocando la salida de los componentes intracelulares al exterior, que provocará un proceso de inflamación, y que necesitará de células especializadas para su fagocitosis.

TEMA 33: Envejecimiento y muerte celular

Por el contrario, la **apoptosis**, depende de las caspasas, una familia de proteasas. Éstas se sintetizan en la célula como precursores inactivos o *procaspasas*, las cuales son activadas generalmente por otras caspasas, generando una cascada proteolítica amplificadora. Algunas de las caspasas activadas escinden después otras proteínas clave de la célula. Por ejemplo, caspasas fragmentan las laminas nucleares provocando la rotura irreversible de la lámina densa; otras escinden una proteína que habitualmente mantiene inhibida una enzima que degrada el DNA (una DNAsa), liberando así la DNAsa que fragmentará el DNA del núcleo de la célula. De esta forma, la célula se desmantela a sí misma rápida y limpiamente (se encoge el citoplasma, se condensa la cromatina...), y su cadáver enseguida es capturado y digerido por otra célula, evitándose la inflamación del tejido, y favoreciéndose el reciclaje de los componentes celulares, ya que la célula forma los cuerpos apoptóticos (vesículas).



TEMA 33: Envejecimiento y muerte celular

Características generales de muerte celular:	
APOPTOSIS	NECROSIS
- Es un proceso fisiológico, ya que son algunas de las proteínas celulares las que marcan el inicio de ese proceso, así como su velocidad, la finalización, etc. Además, este proceso tiene lugar por ejemplo, durante el desarrollo embrionario, de forma necesaria.	- Es un fenómeno accidental, es decir, un factor cualquiera puede producir la muerte celular por necrosis.
- Afecta a células individuales, no tiene porque afectar a todo el tejido.	- Afecta a grupos de células porque comparten el daño, al estar en el mismo tejido.
- No produce inflamación ya que el contenido de la célula se vierte en vesículas que son absorbidas por células vecinas, es decir, no se producen vertidos al exterior, por lo que además no requiere la acción de células especializadas (macrófagos...).	- Como la muerte por necrosis libera vertidos, requiere la presencia de células especializadas que los fagociten, con lo que se produce un proceso inflamatorio.
- Como la muerte celular por apoptosis no requiere de células especializadas, y además afecta a células individuales, no produce alteración ni de la estructura tisular, ni de la función que desempeña.	- Debido a que por necrosis mueren muchas células a la vez, se altera la estructura del tejido, que a su vez hace que se modifique la función del mismo, y a veces, hasta la función del órgano, incluso.

Características morfológicas de muerte celular:	
APOPTOSIS	NECROSIS
- Disminución del volumen celular, tanto del citoplasma, como del núcleo.	- Como consecuencia del aumento de la permeabilidad y de la entrada de agua, aumentará el volumen celular.
- Los orgánulos (mitocondrias, retículo endoplasmático, aparato de Golgi...) permanecen más o menos bien conservados. El citoesqueleto se colapsa.	- Este aumento del tamaño celular va a alterar toda la organización interna de la célula, así como a los orgánulos.
- Se produce una condensación y marginación de la cromatina, ya que se asocia a la carioteca y a la membrana nuclear.	- La cromatina también va a sufrir un proceso de condensación, pero de forma irregular, formando grumos mal definidos.
- Se produce la fragmentación del núcleo, así como de la célula en los denominados cuerpos apoptóticos, que son vesículas rodeadas de membrana que contienen los restos celulares, para un mejor aprovechamiento y reciclaje de los mismos, evitando además los daños tisulares.	- Se produce también la rotura de la membrana plasmática por lo que se liberan al exterior los componentes celulares de las células muertas. Esto impide el reciclaje de los componentes celulares, y además desencadena un proceso inflamatorio.
- Esos cuerpos apoptóticos (restos de la célula muerta) van a ser ingeridos (fagocitados) por las células hermanas (vecinas), es decir, no va a ser necesaria la acción de células especializadas.	- Será necesario, por tanto, la fagocitosis de estos componentes liberados al medio extracelular, que correrá a cargo de células especializadas (macrófagos, células dendríticas, etc.).

33.4.- Control de la apoptosis.

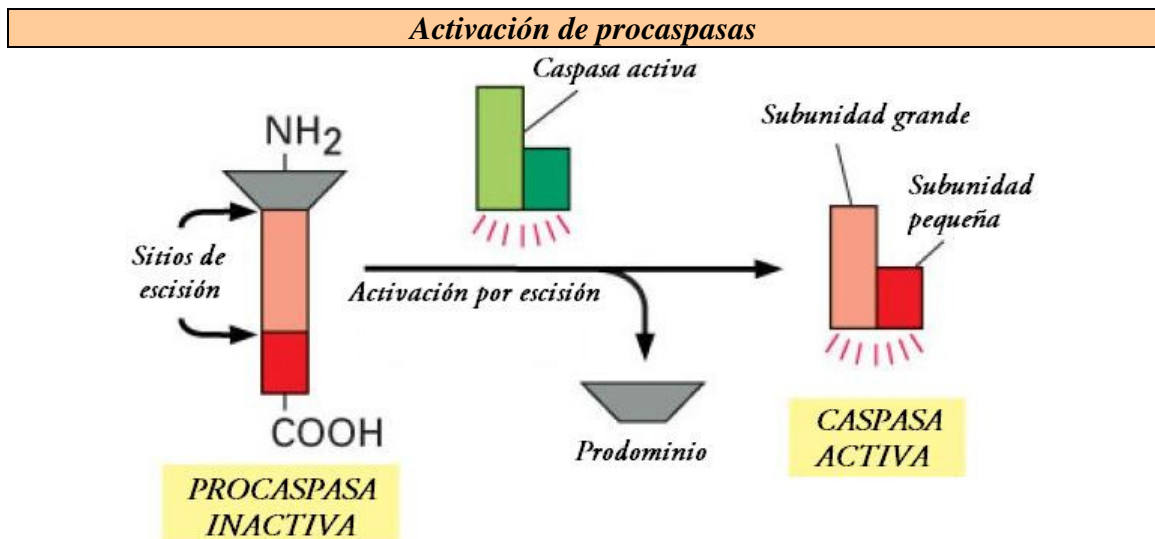
La necrosis, como dijimos, es un proceso accidental, y no presenta regulación alguna porque se trata de una muerte “pasiva”. Este hecho ha provocado la falta de interés por su estudio. Durante un tiempo se pensó también que la apoptosis era un proceso no regulado, por lo que se tardó en comenzar su estudio de forma más detallada. Pero en realidad se ha observado que la muerte celular programada sigue un control muy fino que produce esa serie de cambios morfológicos que ya hemos estudiado.

TEMA 33: Envejecimiento y muerte celular

La maquinaria intracelular responsable de la apoptosis es similar en todas las células animales. Depende de una familia de proteasas cuya función es inactivar una serie de proteínas celulares con el fin de que se vuelvan inactivas de forma irreversible, y por tanto, solo puedan volver a funcionar si son resintetizadas. Se habla de un mecanismo de todo o nada ya que una vez que la célula ha alcanzado un punto crítico de la vía de destrucción ya no puede volver atrás.

Estas proteasas son las **caspasas**, que deben su nombre a que contienen una cisteína en su sitio activo y que escinden sus proteínas diana sobre residuos específicos de ácido Aspártico.

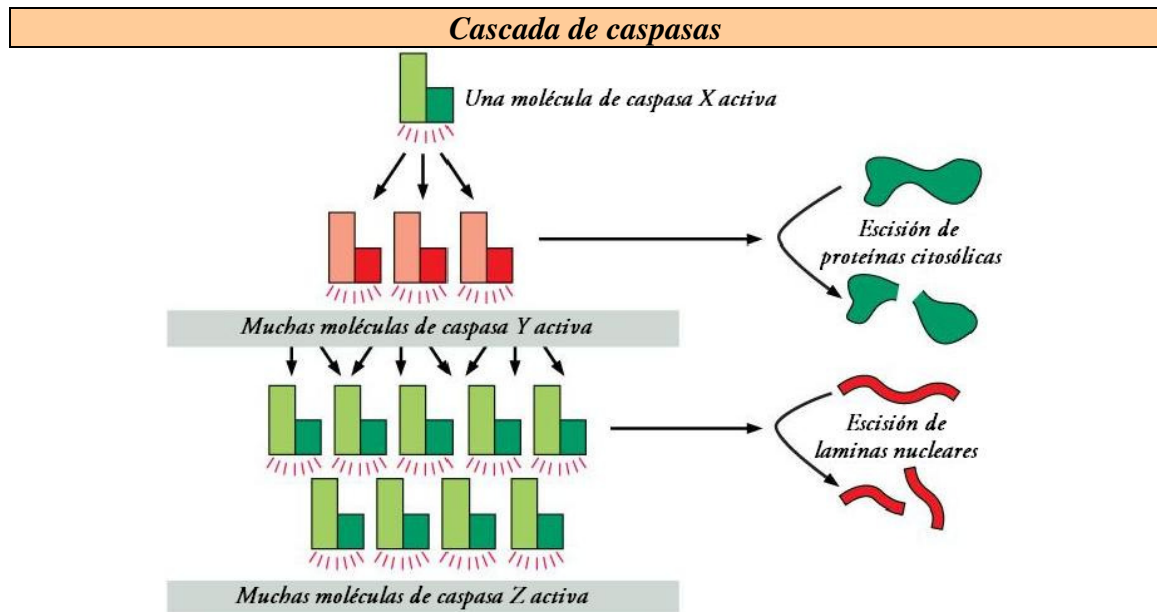
Estas enzimas están presentes en todas las células vivas, pero de forma inactiva, ya que son sintetizadas como precursores inactivos o *procaspasas*, los cuales son activados generalmente por escisión proteolítica en residuos de ácido aspártico por otro miembro de la familia de las caspasas, tanto en los extremos N-terminal como C-terminal. Una vez realizada la escisión, se produce la reorganización: dos de los fragmentos escindidos (subunidad grande y subunidad pequeña) se asocian formando el sitio activo de la caspasa. Se cree que la enzima activa es un tetrámero formado por esas dos unidades.



Cada caspasa se sintetiza en forma de proenzima inactiva (procaspasa), la cual se activa generalmente mediante escisión proteolítica llevada a cabo por otro miembro de la familia de las caspasas. Como se indica, dos de los fragmentos escindidos se asocian formando el sitio activo de la caspasa. Se cree que la enzima activa es un tetrámero de dos de estas unidades (no se muestra).

Una vez activadas, las caspasas escinden y activan otras procaspasas, generando una cascada proteolítica amplificadora. Algunas de las caspasas activadas escinden después otras proteínas clave de la célula, ya que existen algunas caspasas específicas para proteínas determinadas. Por ejemplo, caspasas fragmentan las laminas nucleares provocando la rotura irreversible de la lámina nuclear; otras escinden una proteína que habitualmente mantiene inhibida una enzima que degrada el DNA (una DNAsa), liberando así la DNAsa que fragmentará el DNA del núcleo de la célula. De esta forma, la célula se desmantela a sí misma rápida y limpiamente, y su cadáver es capturado y digerido por otra célula.

TEMA 33: Envejecimiento y muerte celular



Cada molécula de caspasa activada puede escindir muchas moléculas de procaspasa, activándolas, y éstas a su vez pueden activar muchas más moléculas de procaspasa. De esta manera, la activación inicial de un pequeño número de moléculas de procaspasa (llamadas caspasas iniciadoras) puede conducir a través de una cadena amplificadora de reacciones (una cascada) a la activación explosiva de un gran número de moléculas de procaspasa. Luego, algunas de las caspasas activadas (llamadas caspasas efectoras) escinden varias proteínas clave de la célula, incluyendo proteínas citosólicas específicas y las laminas nucleares, lo que conduce a la muerte controlada de la célula.

Todas las células animales nucleadas contienen las semillas de su propia destrucción en forma de varias procaspasas inactivas a la espera de una señal para destruirlas. Por lo tanto, la célula debe regular con precisión la actividad caspasa para asegurar que el programa de muerte celular se mantenga inhibido hasta que se necesite.

¿Cómo se activan las procaspasas para iniciar la cascada de caspasas? La hipótesis más aceptada es que la activación se produce a través de **proteínas adaptadoras** que mantienen varias copias de determinadas procaspasas, denominadas **procaspasas iniciadoras**, en estrecho contacto, formando un complejo o agregado. A veces, las procaspasas iniciadoras tienen cierta actividad proteasa (en general muy escasa) y que estén juntas formando un complejo original que se escinden una a otra, desencadenando su activación mutua. En otras ocasiones, parece que la agregación induce un cambio conformacional que activa la procaspasa. En un momento, la caspasa activada que ocupa la primera posición de la cascada escinde las siguientes procaspasas, amplificando así la señal de muerte y propagándola por toda la célula.

Activación de la apoptosis por –Vía Extrínseca–:

La activación de las procaspasas puede inducirse desde el exterior de la célula a través de la activación de los *receptores de señales de muerte* de la superficie celular. Por ejemplo, los linfocitos T_c (citotóxicos) pueden inducir apoptosis expresando una proteína llamada **ligando Fas**, la cual se une al receptor de señales de muerte **Fas** de la superficie de la célula diana. Los receptores del ligando Fas agregados reclutan proteínas adaptadoras intracelulares que se unen y agregan a moléculas de procaspasa-8, las cuales se escinden y se activan una a la otra. Las moléculas de caspasa-8 activadas activan entonces las siguientes procaspasas de la cascada induciendo la apoptosis.

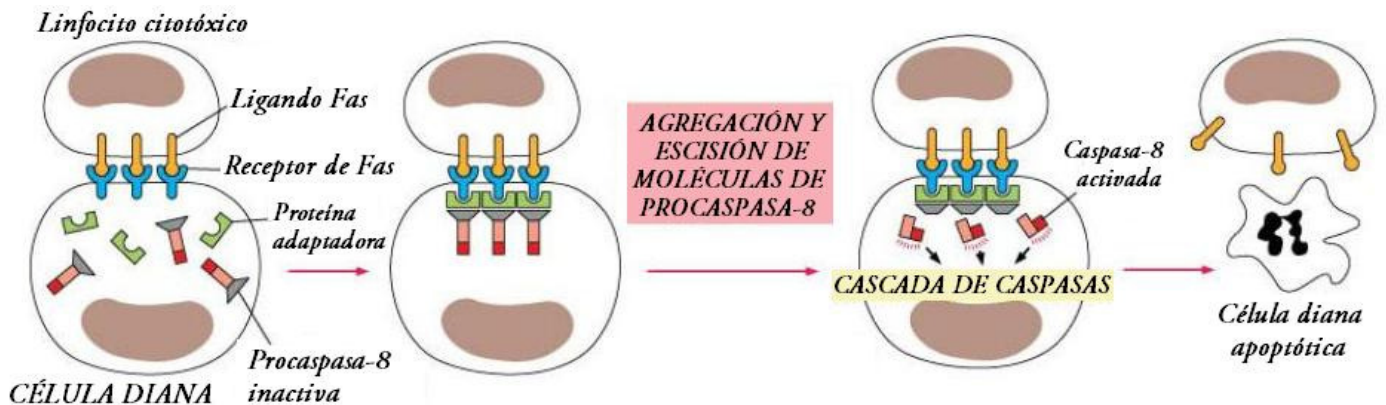
TEMA 33: Envejecimiento y muerte celular

Algunas células estresadas o dañadas se autoeliminan produciendo tanto el ligando Fas como el receptor del ligando Fas, desencadenando así una cascada intracelular de caspasas. Hablaríamos en este caso, por tanto, de una vía de activación intrínseca, vía que desarrollaremos más adelante.

La activación de las caspasas la producen los linfocitos mayoritariamente, por lo que podemos decir que dicha estimulación se produce por vía sanguínea. En casos de células cancerosas, por ejemplo, las propias células activan unos linfocitos para que desencadenen la apoptosis, linfocitos que deberían desempeñar otras funciones.

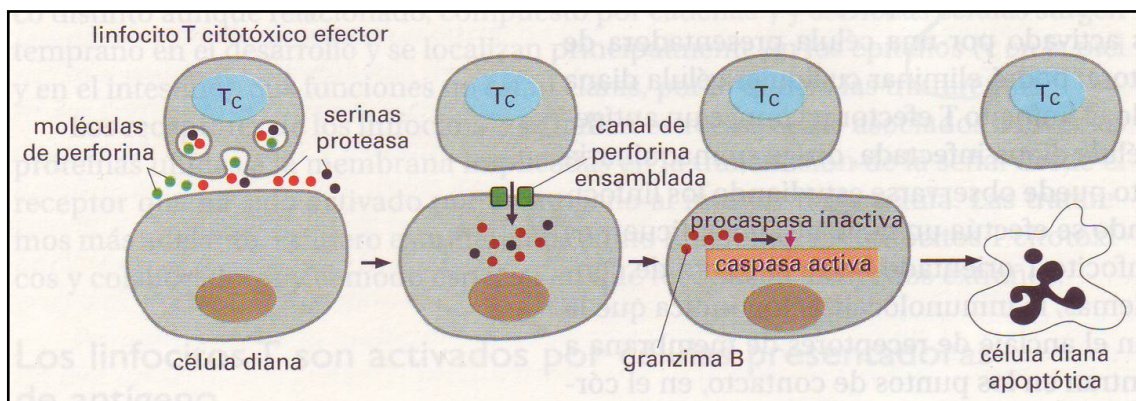
En definitiva, lo que produce o posibilita la apoptosis es la presencia de receptores Fas, y que éstos estén en un número adecuado.

Activación de la apoptosis por vía extrínseca



Un linfocito citotóxico portador del ligando Fas se une y activa los receptores Fas de la superficie de la célula diana. Proteínas adaptadoras se unen a la región intracelular de los receptores Fas que se han agregado, provocando la agregación de las moléculas de procaspasa-8. Éstas, entonces, se escinden unas a otras iniciando la cascada de caspasas.

Otra vía de activación extrínseca de la apoptosis, también llevada a cabo por los linfocitos T_c , es la denominada “dependiente de perforina”. El linfocito T citotóxico libera perforina y enzimas proteolíticas sobre una célula diana infectada (porque su objetivo es eliminar células infectadas), mediante un proceso de exocitosis local. La elevada concentración de Ca^{++} en el medio extracelular provoca que la perforina se inserte en la membrana plasmática de la célula diana y forme canales transmembrana a través de los cuales las enzimas proteolíticas entrarían en el citosol de la célula diana. Una de estas enzimas, la granzima B, corta e inactiva procaspasas concretas, iniciando así la cascada proteolítica de caspasas que conduce a la apoptosis.



TEMA 33: Envejecimiento y muerte celular

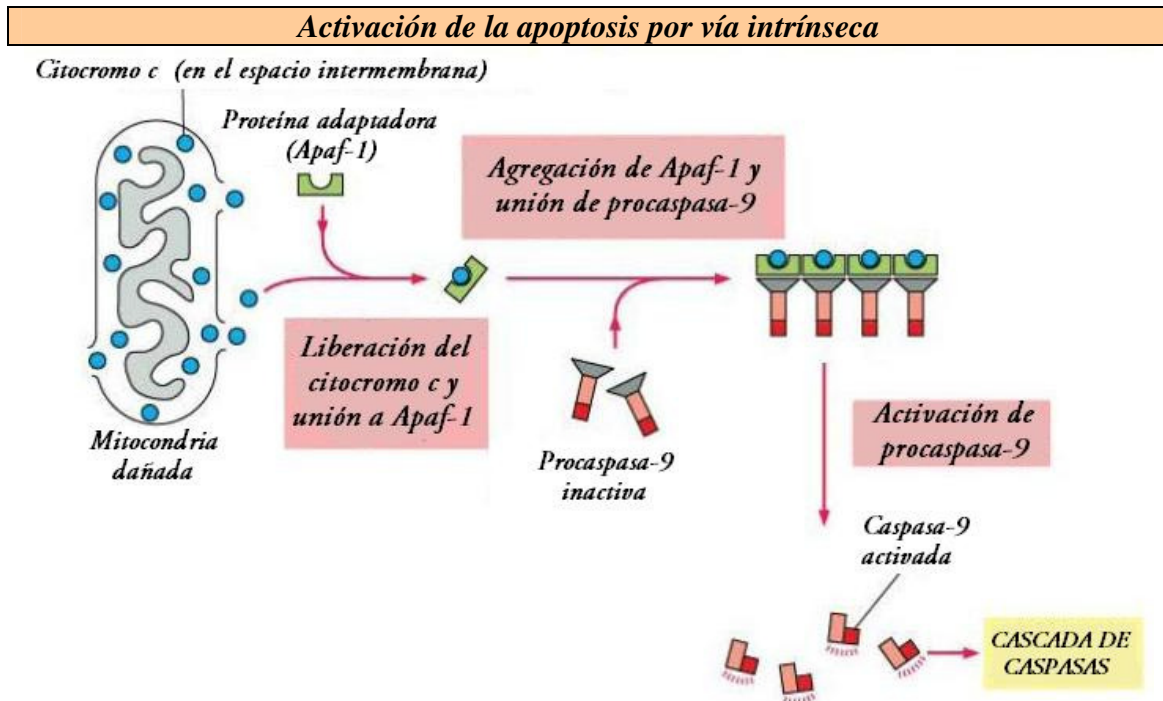
Activación de la apoptosis por –Vía Intrínseca–:

Cuando las células están dañadas o estresadas, también pueden autoeliminarse induciendo la agregación y activación de las procaspasas desde el interior de la célula. En la vía mejor comprendida, las mitocondrias son inducidas a liberar la proteína transportadora de electrones *citocromo c* al citosol, proteína de tamaño pequeño, que se localiza en el espacio intermembrana pero que actúa en la membrana mitocondrial interna; al ser expulsada al citosol se une y activa una proteína adaptadora llamada Apaf-1, que a su vez es capaz de producir la agregación de moléculas de procaspasa-9, que serán convertidas en caspasa-9 activas. Estas enzimas activas, inducirán la transformación en proteínas activas de otras procaspasas con mayor capacidad proteolítica.

Esta vía mitocondrial de activación de procaspasas está activada en la mayoría de las formas de apoptosis, iniciando o acelerando y amplificando la cascada de caspasas. Por ejemplo, el daño en el DNA, como se ha dicho, puede desencadenar la apoptosis. Por lo general esta respuesta es dependiente de p53, la cual puede activar la transcripción de genes que codifican proteínas que estimulan la liberación del citocromo c de las mitocondrias.

Se desconoce como sale el citocromo c del interior de la mitocondria, pero se sabe que es en respuesta a cualquier daño celular. Hay varias hipótesis acerca de cómo sale:

- Canales proteicos.
- A través de lípidos.
- Etc.



Las mitocondrias liberan el citocromo c, el cual se une a la proteína adaptadora Apaf-1 provocando su agregación. Apaf-1 se une y agrega a las moléculas de procaspasa-9, lo que origina la escisión de estas moléculas y la activación de una cascada de caspasas. Del espacio intermembrana mitocondrial también se liberan otras proteínas que contribuyen a la apoptosis (no se muestra).