

## MEDICION DEL CICLO CELULAR

Existen diversas técnicas experimentales para determinar el análisis cronológico cuantitativo del ciclo celular.

**Índice mitótico:** Proporción de células en cualquier fase de la mitosis dentro de la población celular analizada. De los datos obtenidos se calcula la duración relativa de la mitosis y de la interfase, siempre y cuando la población celular este en equilibrio dinámico.

**Índice de fase:** Proporción de células en profase, metafase, anafase o telofase dentro de la población de células analizadas.

**Índice mitótico parcial:** calculado como la media de los valores obtenidos en observaciones realizadas en diversos intervalos de tiempo.

### Métodos de sincronización de los cultivos celulares

Para estudiar la división celular se puede utilizar la sincronización de los cultivos celulares ya sea mediante **selección de la sincronización** o por **inducción de la sincronía**.

**Selección de la sincronía:** Se selecciona las células en un estadio determinado y se establece un subcultivo sincronizado a partir de ellas. Un método de selección puede ser la separación de las células por su tamaño mediante centrifugación o la menor adhesión de las células en mitosis a la superficie interna del frasco de cultivo. El inconveniente de esta técnica es el pequeño número de células con las que se inicia el subcultivo.

**Inducción de la sincronía:** Se basa en detener el ciclo celular en una fase determinada por ejemplo metafase si se utiliza colchicina o al principio de S si se utiliza un inhibidor de la síntesis de ADN (timidina, hidroxiaurea).

El inconveniente de este método radica en los posibles efectos secundarios sobre el comportamiento y fisiología celular.

**Marcación con Timidina tritiada:** Este método está basado en la capacidad que tienen las células de incorporar un marcador de ADN solamente durante el periodo S.

La técnica consiste en dar un pulso corto de timina tritiada a un cultivo asincrónico en las que hay células en los periodos G1, S, G2 y M (mitosis), marcándose solo aquellas células que se encuentran en S.

Una vez terminado el tratamiento se incuban las células en un medio y se toman muestras a intervalos regulares para observar la proporción de células en mitosis que aparecen marcadas.

## VARIACION EN EL CICLO CELULAR

El ciclo de división celular que incluye dos procesos citológicos independientes aunque normalmente sincronizados: la **cariocinesis** o **mitosis** y la **citocinesis**. Sin embargo tales procesos pueden sufrir modificaciones tanto por mecanismos naturales como artificiales.

### Endorreduplicación

Se llama **endorreduplicación** a la ocurrencia de dos o más rondas sucesivas de replicación cromosómica sin pasar por ningún periodo mitótico intermedio. Si al pasar por el periodo S los cromosomas no entran en mitosis sino que vuelven a pasar por S, cada cromosoma tendrá cuatro cromátidas, ocho en caso de repetirse la anomalía y así sucesivamente.

Un caso extremo de endorreduplicación es la **politenia** que da lugar a los **cromosomas gigantes o cromosomas politénicos** encontrados en los cromosomas gigantes de las glándulas salivales y en otros tejidos de gran actividad metabólica de los dípteros y de otros insectos. El grado de politenia varía de una especie a otra y de un tejido a otro, en los casos extremos se han hallado en los cromosomas entre 500 a 16.000 cromátidas.

### **Duplocromosomas**

Después de dos rondas sucesivas de replicación la célula entra en mitosis, los duplocromosomas se pueden observar en metafase con sus cuatro cromátidas aparentemente unidas por el centrómero como si fuera un haz.

Los duplocromosomas están formados por dos cromosomas que no están unidos por el centrómero, sino que son entrecruzamientos de la cromatina de los brazos. Conforme progresa la condensación cromosómica en metafase disminuye el número de entrecruzamientos quedando sueltos en anafase.

Las consecuencias de los duplocromosomas es la duplicación del número cromosómico que pasa de  $2n$  a  $4n$ .

### **Haplocromosomas**

Es el fenómeno contrario a la endorreduplicación, tiene lugar al terminar la telofase mitótica y los cromosomas que están en estado de una cromátida, vuelven a entrar en otra mitosis sin pasar previamente por la duplicación. Los cromosomas al llegar a metafase aparecen con una cromátida y reciben el nombre de haplocromosomas.

### **Endomitosis**

En la mitosis de la célula eucariótica se produce la desaparición de la membrana nuclear al finalizar la profase. Si por causas naturales de citodiferenciación o por tratarse la célula con algunos productos químicos no desaparece la membrana nuclear en profase continuando el proceso mitótico en el interior de la envoltura nuclear, sin que se produzca después la citocinesis, produciéndose como consecuencia la duplicación de la célula pasando de  $2n$  a  $4n$ .

### **Husos multipolares**

El tratamiento de células animales con mercaptoetanol influye en la migración de los centríolos dando lugar a husos multipolares. En vegetales se logran efectos semejantes tratándolos con el insecticida hexaclorociclohexano.

Las consecuencias de la formación de husos multipolares es el reparto desequilibrado de las cromátidas a los distintos polos dando lugar a núcleos hijos con dotaciones cromosómicas distintas.

### **C-mitosis**

Los tratamientos que impiden la formación o promueven la disgregación de los microtúbulos afectan el movimiento anafásico de los cromosomas. Por ejemplo el tratamiento con colchicina que bloquea la formación de los microtúbulos (husos acromáticos) impide la migración de las cromátidas hermanas hacia los polos de la célula. La mitosis que se produce se llama C-mitosis y como consecuencia se duplica el número cromosómico pasando de  $2n$  a  $4n$ .

### **A-mitosis**

La anoxia (privación de oxígeno) impide la migración de las cromátidas hacia los polos en anafase por falta de energía. Se trata de un proceso reversible ya que al suministrar oxígeno se continúa la anafase interrumpida.