

GUSTAVO LONGI*

EL FIBROBLASTO

EL TEJIDO CONJUNTIVO común u ordinario, tiene una amplia distribución en toda la economía. Varía su proporción desde un uno por ciento en el hígado, hasta casi un cien por ciento en el caso de los tendones. Una de las células más importantes y más abundantes que nosotros encontramos en él es el fibroblasto. Su importancia se ha ido acrecentando conforme han avanzado las investigaciones al respecto, y el concepto estático de una célula productora de fibras, va siendo reemplazado por el de una célula más o menos estable morfológicamente, pero fisiológicamente con un rango muy amplio de funciones, en este último aspecto, en la actualidad se piensa que estamos muy lejos de poder determinar si las células que llamamos fibroblastos, en el sentido estricto, son sólo células productoras de fibras, pues se calcula que tan sólo como el 25% ó 30% de estas células son activas. Esto hace pensar si no es que el resto de los fibroblastos que nos-

otros consideraríamos en reposo son células que están o muy indiferenciadas a grado tal que se confundan con células mesenquimatosas persistentes en la vida adulta, o que nosotros le estamos adjudicando el nombre de fibroblasto a estas células mesenquimatosas. Como se supone que dichas células presentan una morfología semejante al fibroblasto, cabe pensar que el fibroblasto es una célula todavía con una capacidad de diferenciación tal, que pudiese intervenir en los fenómenos de metaplasia. También es posible que al menos una parte de estas células que nosotros consideramos en reposo, no se encuentren bajo esta condición sino que estén en vías de diferenciarse sobre una determinada línea celular y que por lo mismo no presenten una actividad fisiológica aparente. Su dotación genética le permite seguir numerosas y aparentemente opuestas líneas de diferenciación, que abarcan desde la bien conocida transformación hasta osteoblastos y más tarde osteocitos, hasta los sugestivos datos obtenidos en cultivo de tejidos, de la "transformación" de esta célula en células cebadas, eosinófilos, ma-

* Profesor ayudante del Depto. de Histología. Facultad de Medicina, U.N.A.M.

Figura 1 Esquemización de la síntesis de la fibra colágena por el fibroblasto. 1. Síntesis de la primera cadena de aminoácidos.— 2. Unión de la primera cadena con la segunda.— 3. Adición de la tercera cadena de aminoácidos para formar la estructura helicoidal de las cadenas.— 4. Molécula de tropocolágena que es secretada al exterior de las células.— 5. Moléculas de tropocolágena en el espacio intercelular.— 6. Disposición de la tropocolágena en tresbolillo, una fibra a un cuarto de longitud de la adyacente, dando al ME la imagen de periodicidad de $700 \text{ \AA}$, característica de la microfibrilla de colágena.— 7. Hidrólisis de la microfibrilla con un ácido débil, que separa las moléculas de tropocolágena.— 8. Segmentos de largo espacio que quedan después de tratar la tropocolágena con ATP (trifosfato de Adenosina) la unión es látero-lateral y los segmentos formados miden $2800 \text{ \AA}$.— 9. Fibra de largo espacio, resultante de la acción de la tropocolágena con glucoproteína. No hay polaridad específica de la tropocolágena y las moléculas se acomodan al azar. La periodicidad de esta fibra es de $2,800 \text{ \AA}$.

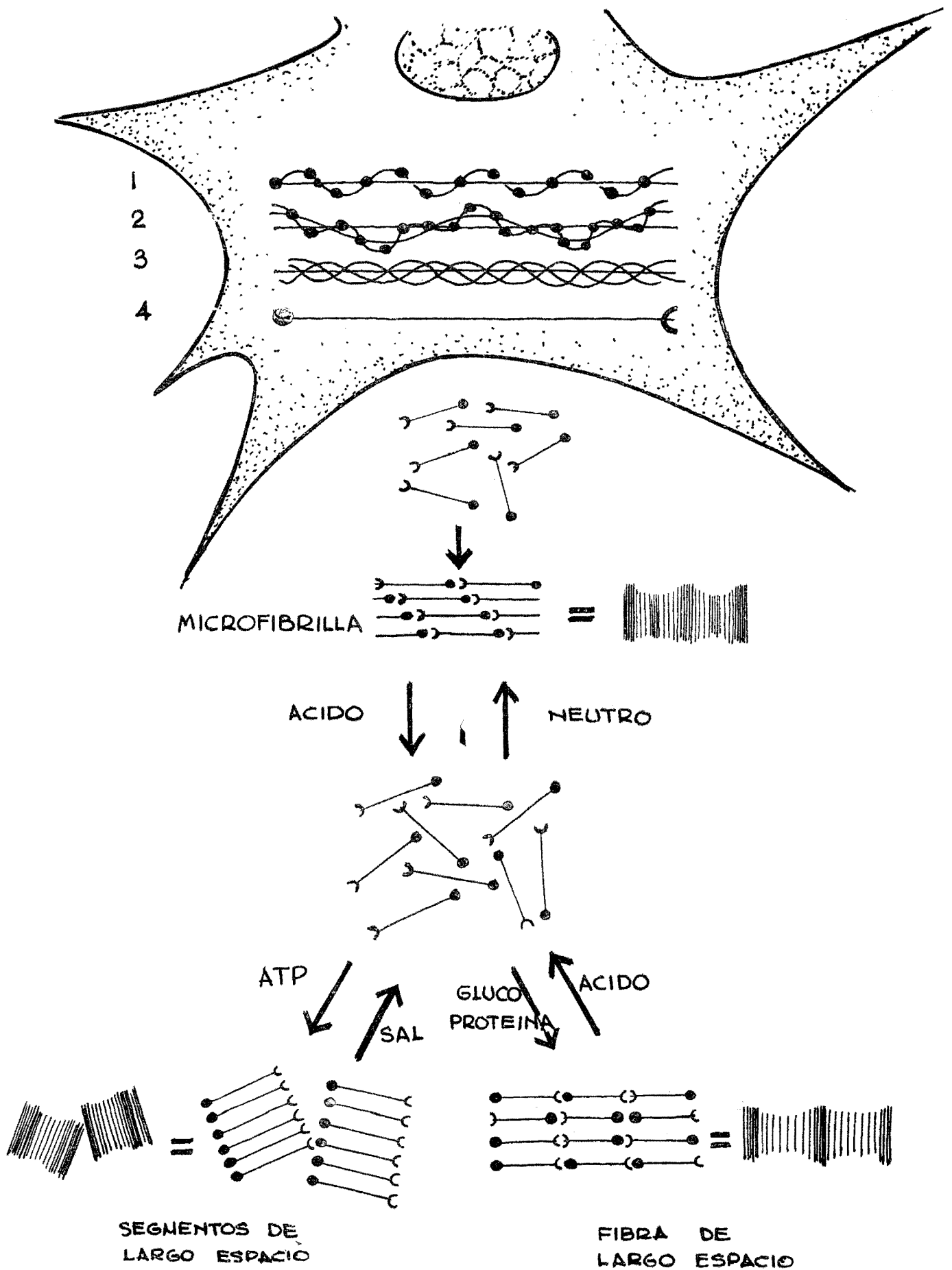
crófagos, etc. Este último punto podría llegar a revolucionar algunos de los conceptos que se tienen acerca de la inflamación, reacciones alérgicas, bio-transformaciones (manera característica de cada línea celular de metabolizar sustancias), etc.

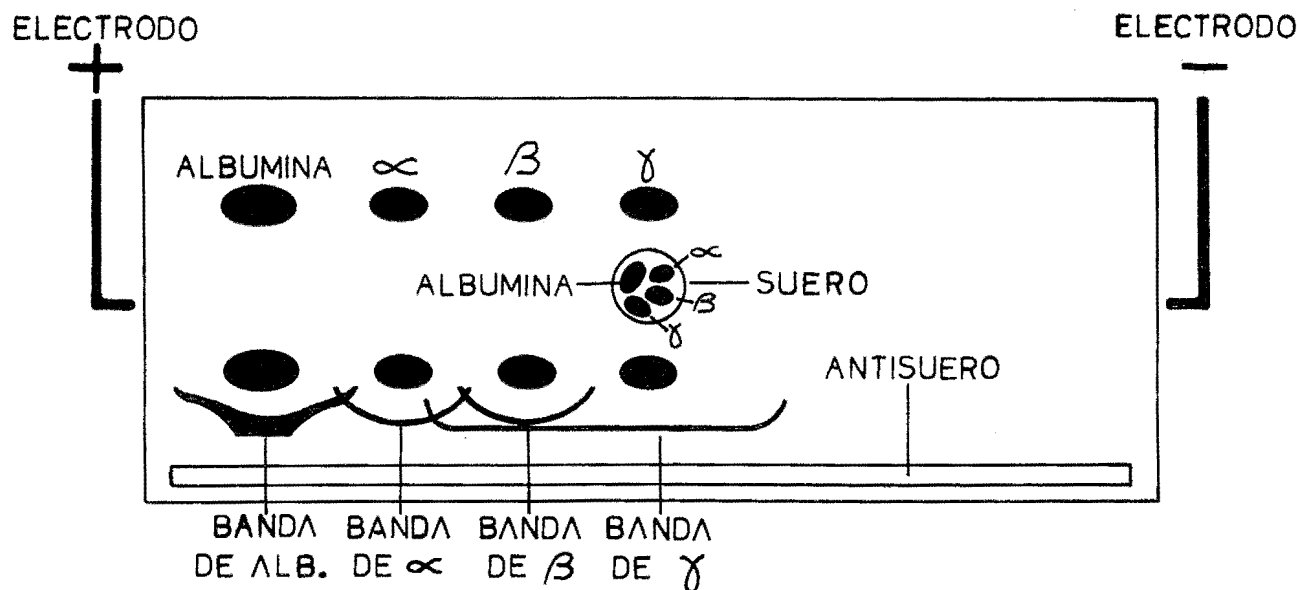
Hay que empezar por hacer un breve análisis acerca de las teorías que tratan de explicar satisfactoriamente más que la producción, la polimerización de la fibra colágena y la sustancia intercelular amorfa. La colágena, es una proteína que representa el 6% del peso total del cuerpo, y más o menos el 25% al 33% del total de proteínas presentes en nuestro organismo. Está formada la colágena por fibras visibles al microscopio de luz, y a su vez formadas por microfibrillas al ME. Estas microfibrillas presentan bandas claras y bandas oscuras con una periodicidad de más o menos $640 \text{ \AA}$. Las microfibrillas a su vez están formadas por unidades de una proteína denominada tropocolágena que presenta una longitud de $2,800 \text{ \AA}$, y un ancho de $15 \text{ \AA}$, con un peso molecular de más o menos 300,000, es sintetizada dentro de la célula, pero polimerizada fuera de ella. La molécula de tropocolágena está formada por una triple hélice de polipéptidos, unidas principalmente por puentes de hidrógeno y compuestas en su mayor parte por los aminoácidos glicina, prolina e hidroxiprolina o alanina en esta secuencia. La desnaturalización de la colágena nos da la gelatina. El punto todavía discutido es: ¿de qué manera se polimeriza la colágena, para darnos la imagen mencionada al microscopio electrónico?

Mencionaremos aquí las dos teorías más aceptadas para explicar esta disposición; la primera nos dice que hay una unión lateral de una fibra con un cuarto de longitud de la otra, contribuyendo a esta

unión sustancias del tipo de los carbohidratos. Esta teoría pretende atribuir la periodicidad de $640 \text{ \AA}$ a un artefacto, concretamente a retracción de la fibra debida a la desecación, lo cual daría en vivo una unión de la tropocolágena término terminal con una periodicidad de $700 \text{ \AA}$. Se ha descubierto la existencia de dos tipos de fibras. Una compuesta por fibrillas con una periodicidad de $2,800 \text{ \AA}$ y otras con segmento más corto de la misma periodicidad, pero sin propiedades de polimerización, a diferencia de los primeros. La explicación a estas diferencias puede ser dada en relación a los dos casos; las fibrillas de colágena nativas con períodos de $700 \text{ \AA}$ son el resultado de una asociación lateral de moléculas de tropocolágena, superpuestas a intervalos de un cuarto de longitud, asociadas estas moléculas longitudinalmente cabeza con cola, pues las porciones finales de cada fibrilla, son ricas en aminoácidos polares como el ácido glutámico, la tirosina y la lisina. Esta disposición término terminal, sería debida a dicha polaridad. En el otro caso, donde las fibras colágenas presentan espacios largos con interacción con glucoproteínas no habría superposición lateral y las moléculas de tropocolágena estarían agregadas una al lado de la otra y unidas al azar en dirección lineal. En los segmentos con espacios largos, resultantes por la interacción con el ATP, se supone que las moléculas de tropocolágena no están superpuestas lateralmente; pero también dado que todas ellas se encuentran en fase, no están unidas longitudinalmente. Quizá este mecanismo de interacción macromolecular actúe también sobre otros sistemas proteicos, y por lo mismo se considera de gran importancia.

Figura 1





INMUNOELECTROFORESIS

La otra teoría rechaza que la unión sea término-terminal y que entre un extremo y otro de la molécula, quede un espacio el cual explicaría esta periodicidad, ya que la unión lateral no sería de un cuarto de la longitud de la fibra adyacente, y de esta manera los períodos se explican no de 700 Å, sino de 640 Å.

En cuanto a la producción de substancia intercelular amorfa, ésta se realiza en el aparato de Golgi del fibroblasto. Esta substancia también denominada fundamental, son mucopolisacáridos ácidos que pueden ser sulfatados o no sulfatados. Estos mucopolisacáridos están compuestos por unidades de disacáridos formados a su vez estos últimos por ácido glucorónico y por acetilglucosamina, galactosamina, etc. Su peso molecular varía desde 300,000, hasta varios millones, y los más importantes son el ácido hialurónico, el ácido condroitinsulfúrico y el mucoitisulfúrico. La abundancia y proporciones de esta substancia dependerá del lugar de que se trate. Además de brindar protección y cierta consistencia, así como un medio adecuado, estas substancias cumplen con otras funciones; por ejemplo el ácido hialuró-

nico participa manteniendo los niveles de hidratación de los tejidos, líquido sinovial y humor vítreo. Los condroitinsulfatos son importantes porque sus propiedades los hacen intervenir en la mineralización del esqueleto y además pueden influir en la orientación de la colágena.

El fibroblasto produce otros dos tipos de fibras: la fibra elástica y la fibra reticular. Las fibras de elastina exhiben propiedades de un elastómero de color amarillento. Las fibras originales están formadas por uniones cruzadas de unidades repetidas casi compactas de moléculas esféricas en esencia. Estas ramas fibrosas se mantienen unidas por rígidas uniones cruzadas. Se han identificado dos formas de uniones cruzadas, ambas conteniendo lisina, se denominan desmosina e isodesmosina, y están formadas por cuatro residuos de lisina. Los compuestos desmosina e isodesmosina contenidos en las arterias elásticas aumentan con la edad, mientras que el contenido de lisina decrece, esto quiere decir que entre la elasticidad del tejido y las relaciones de concentración de estos compuestos hay una conexión notable, o sea que encontramos una marcada disminución tensil con niveles altos de lisina y bajos de desmosina e isodesmosina. Otros factores que

también pueden producir defectos en la elastina son deficiencias de cobre y piridoxina, lo cual claro está, disminuirá marcadamente la elasticidad del tejido.

La fibra reticular como la colágena, es una esclero-proteína, y todavía no hay un acuerdo acerca de su estructura, aunque presenta una periodicidad similar a la de la colágena. Se cree que las características propiedades tintoriales que posee esta fibra, se deben a la presencia de una capa PAS positiva adyacente o unida a la proteína de la fibra. Aunque parece ser que químicamente la fibra reticular es diferente de la colágena se acepta el considerarla idéntica pero con diferentes propiedades tintoriales y sintetizada de manera similar a la colágena. Ambas fibras, elásticas y reticulares, se cree que también pueden ser sintetizadas por los condroblastos.

De lo expuesto anteriormente es fácil en realidad hablar de la morfología que presenta el fibroblasto. Presenta un núcleo generalmente ovoide, de cara abierta y con nucleolo notable; un citoplasma basófilo con algunas granulaciones, además de numerosas prolongaciones. Conforme el fibroblasto se rodea de substancia intercelular, su morfología cambia y el núcleo se aprecia de menor tamaño, aunque todavía podemos ver los gránulos de cromatina, esto es, el núcleo se condensa. En cuanto al citoplasma apenas si se puede distinguir con el microscopio de luz como un halo en torno a este núcleo. Esta célula también es llamada fibrocito. Al ME la basofilia corresponde a un retículo endoplásmico rugoso, se aprecia también un aparato de Golgi, mitocondrias, y algunos lisosomas.

Entre las incógnitas que todavía prevalecen en el conocimiento actual se encuentra el origen de las células cebadas. Estas células como es bien sabido se encuentran distribuidas en todo el tejido conjuntivo laxo ordinario, principalmente en torno de los vasos sanguíneos. También es bien sabido que estas células poseen en su interior histamina y heparina. Estas substancias se encontrarían dentro de los gránulos metacromáticos que presentan estas células. En cuanto a la heparina podemos nosotros anotar dos funciones principales: la primera es actuar como anticoagulante para evitar la formación de fibrina en el espacio intercelular, ya que en éste circula tan lentamente que de otra manera constantemente se formarían coágulos en este sitio. La segunda función es la de combinarse con la histamina y de esta manera inactivarla evitando la acción que podría

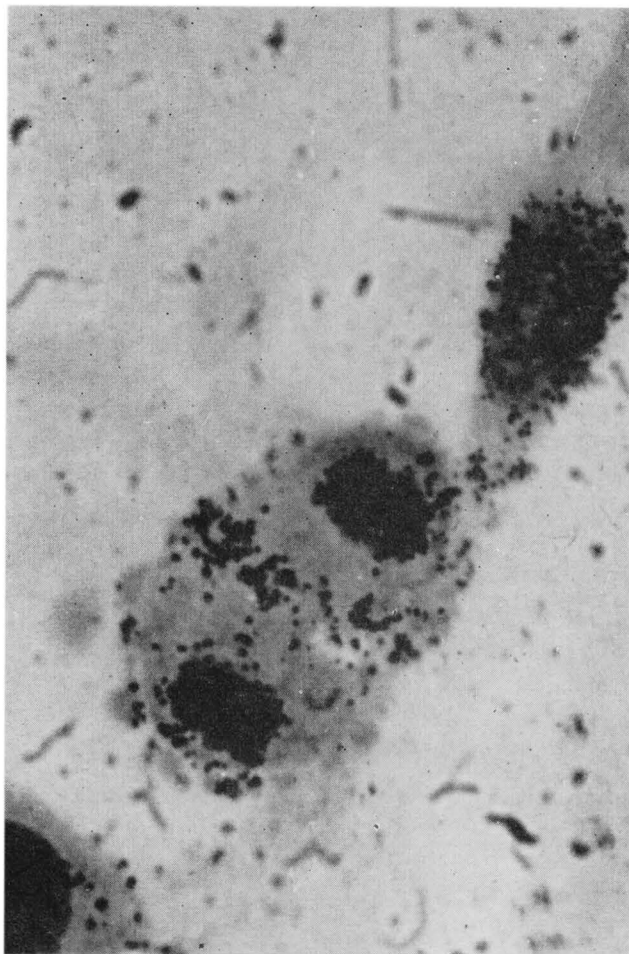
Figura 2



Fibroblastos en cultivo de tejidos teñidos con naranja de acridina Método de Fluorescencia, si se observa con luz ultravioleta el colorante fluoresce y se observa el RNA de color rojo y el DNA de color verde.

tener en perjuicio del organismo. La histamina tiene como funciones, cambiar la permeabilidad de los vasos producir vasodilatación, etc. Fuera de las mitosis encontradas en estas células en los mastocitos (tumor de células cebadas) no se observa que haya una constante reproducción de las mismas para mantener el número elevado en que se encuentran, además en tejidos normales habitualmente no se observan mitosis en las mismas. Durante un tiempo se mantuvo la idea de que las células cebadas podrían provenir de los basófilos, esto se ha desechado pues morfológicamente se ha demostrado al

Figura 3



Radioautografía de un fibroblasto en mitosis. Se dio un material radiactivo (timidina marcada) el cual se incorporó a la célula durante la duplicación del DNA. Se puso una emulsión fotográfica y la energía emitida redujo las sales de plata formando un precipitado en forma de gránulos, que los que se observan.

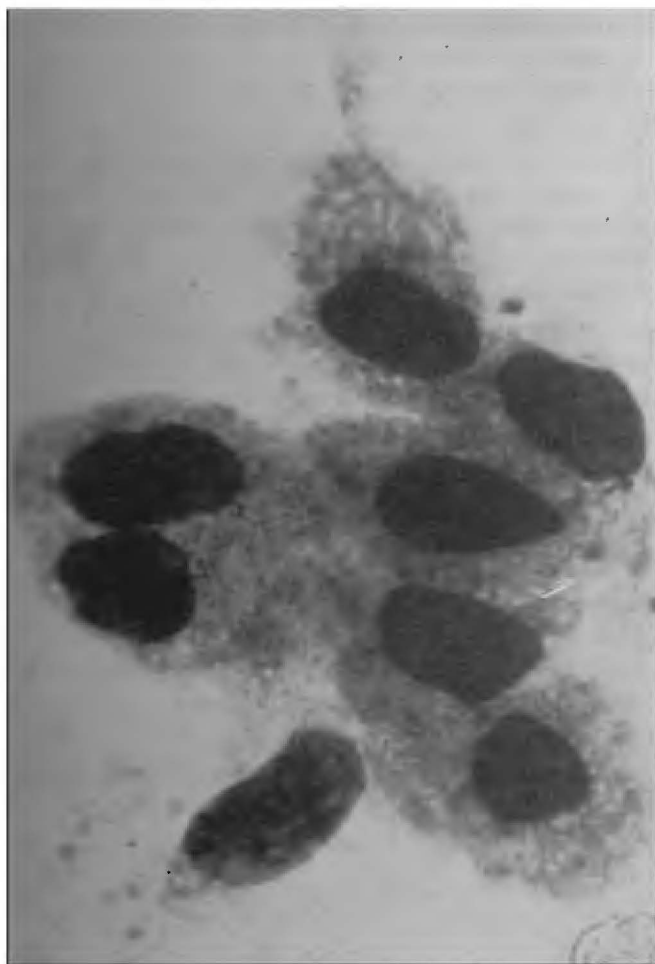
ME una diferente estructura de dichos gránulos; el basófilo presenta un patrón definido de éstos, no así las células cebadas cuyos gránulos son de diferente densidad electrónica. Además el número tan bajo de estas células en comparación a la elevada cantidad de células cebadas, descarta al parecer definitivamente el origen hemático de estas últimas. "in vitro", y con sustancias del tipo del glucán que aumentan la pinocitosis del fibroblasto, se ha observado que después de un cierto tiempo el fibroblasto presenta en su citoplasma gránulos metacro-

máticos, que le dan una apariencia idéntica a las células cebadas. Existe el hecho de que las células cebadas disminuyen con la edad, sobre todo a partir de los 40 años; es precisamente en esta época en la que los procesos arterioescleróticos se hacen más notorios. Sería interesante hacer evidente una posible relación entre el número de células cebadas y la arterioesclerosis, pues a este respecto cabe anotar que otra función muy importante de la heparina es la de activar una lipasa plasmática que hidrolisa los lípidos circulantes en la sangre, esta disminución de las células cebadas en la economía podría representar una baja de la cantidad de heparina que active la lipasa mencionada y que por lo mismo aumentará la cantidad de lípidos circulantes favoreciendo de esta manera los procesos arterioescleróticos. Claro está que éste es un problema mucho más complejo, y es difícil que sólo dependa de un factor desencadenante.

También hay algunos datos que hacen pensar en un probable origen fibroblástico de los eosinófilos. En el ratón se observó que algunos eosinófilos no presentaban el característico núcleo bilobulado de estas células; estudiando esto con más detalle vieron que algunos fibroblastos empezaban a acumular gránulos en torno a su núcleo al principio, más tarde estos gránulos ocupaban toda la célula dando el aspecto de eosinófilos, pero con diferente morfología nuclear. Se ignora si este hecho también pueda ocurrir en el hombre; de cualquier forma el aumento del número de estas células en ciertos procesos inflamatorios o alérgicos, sugieren cierta relación con el fibroblasto. Si aceptamos que los gránulos del eosinófilo podrían tener como función la de lisar o hacer posible la fagocitosis de sustancias e incluso de células por otras células encargadas de esta función fagocítica, el hecho que el fibroblasto tuviera la capacidad de elaborar sustancias semejantes a las del eosinófilo para comportarse como tal, por razones obvias esto brindaría una mayor protección para el organismo, puesto que el fibroblasto como ya se dejó anotado, es una célula muy abundante y de esta manera se eliminarían sustancias más rápidamente o se destruirían células que pudieran estar perjudicando a la economía.

En casos de fracturas se ha pensado que los fibroblastos pudieran transformarse en osteoblastos y osteocitos. Parecería ser que un estímulo ambiental haría que el fibroblasto se comporte como osteoblasto en presencia de sales de calcio. En esto tam-

Figura 4



Fibroblastos en cultivo de tejidos tratados con corticosteroides. Compárese con la Fig. 2 ó 5 y véase que no hay pinocitosis (introducción de material líquido a la célula) ni muestras de actividad nuclear.

Figura 5



Fibroblastos en cultivo de tejidos vistos con el microscopio de Contraste de fase. Se observan largas prolongaciones que le dan un aspecto estrellado.

bién hay discusión y algunos autores rechazan esta idea pensando que es el periostio el que de alguna manera se diferencia en el caso de una fractura y que la formación de hueso en otros lugares anormales es debida a la presencia de células mesenquimatosas.

En el antiguo concepto del sistema retículo-endotelial, no se incluye entre las células de este sistema al fibroblasto. Sin embargo es notable la capacidad que tienen estas células para fagocitar bajo la acción de estímulos tan variados como pueden ser hormonas, toxinas, etc. Por lo tanto, esta célula se llega a comportar como un verdadero macrófago y de ahí que quizás debiera incluirse también dentro de dicho

sistema. La notable semejanza morfológica entre estas dos células macrófagos y fibroblastos, y los lisosomas que como ya anotábamos se apreciaban en la estructura fina de un fibroblasto, nos sugiere que esta célula pueda diferenciarse sobre esta línea.

Aunque todavía no están claros ni ampliamente demostrados los datos al respecto, se cree que es posible que bajo determinadas condiciones (acción de hormonas hipofisiarias por ejemplo) el fibroblasto pudiera llegar a producir —desde luego diferenciándose ampliamente— en algunos casos hormonas, por ejemplo en el ovario, dando origen a células tecales, células del cuerpo lúteo, y a células intersticia-

les. Esto podría cambiar algunos conceptos respecto a ciertos trastornos frecuentes en el ser humano.

Recordemos que en el sistema nervioso, la microglia tiene un origen mesenquimatoso y que su posible función sea la de fagocitar; proviniendo estas células de la pia madre y siendo fagocíticas, quizá podrían tener alguna relación con los fibroblastos.

El fibroblasto es una de las células que han hecho posibles muchos de los avances sobre temas muy diversos. En general un porcentaje muy alto de investigaciones se realizan con esta célula en todos los campos. Para cultivo de tejidos es relativamente fácil tener una cepa de fibroblastos y para los cultivos primarios son en su mayor parte fibroblastos las células que quedan después de varios subcultivos. Aunque se sabe muy bien que "In vitro" las células sufren cambios, sería muy difícil para nosotros pensar el grado de adelanto que tendríamos si no dispusiéramos de ese conjunto de técnicas y elementos entre los cuales ocupa un lugar muy privilegiado la célula discutida. Entre las observaciones que se han hecho en esta célula, mencionaremos como ejemplo la pinocitosis, que es muy activa en ella. Cuando nosotros agregamos iones principalmente de sodio y potasio, hormonas del tipo

de la insulina, o mucopolisacáridos como el glucán o la heparina, aumenta la pinocitosis; cuando se agregan esteroides ésta se detiene. A propósito de la pinocitosis mencionemos que aunque su mecanismo íntimo permanece desconocido, algo se ha puesto en claro con el uso de estas sustancias. Por ejemplo si nosotros agregamos heparina a un medio de cultivo, aumentamos la pinocitosis; si después de un lapso de tiempo añadimos esteroides, la pinocitosis no se inhibe. Sin embargo si ponemos insulina primero a nuestro medio, esperamos a que se desarrolle su acción y después agregamos nuevamente esteroides, se observa que la pinocitosis se inhibe con el esteroide, lo cual nos sugiere un mismo punto de acción de las dos hormonas, sólo que una estimulando y otra inhibiendo este fenómeno. Nuevamente se pone de manifiesto el fino equilibrio que reina en el organismo, puesto que si estos datos se pudiesen extrapolar a otras células se ocurrirían ideas muy sugestivas con respecto a la diabetes.

Finalmente conviene subrayar la necesidad de una revisión detallada de toda la información que se ha ido acumulando en estos últimos años acerca de esta célula. Asimismo es indispensable poner de manifiesto las probables relaciones existentes entre numerosos procesos en los que quizás interviene el fibroblasto.