A mis padres

y hermanos.

Universidad de Granada — Cátedra de Pat. Quirúrgica II
Facultad de Medicina — Prof. Dr. D. RAFAEL VARA THORBECK

ESTUDIO CLINICO-EXPERIMENTAL DE LOS PROCESOS BIOLOGICOS REPARADORES DE LAS HERIDAS TRATADAS CON DEXTRANOMERO.

TESIS DOCTORAL

José Antonio Pérez Ramón.

1980.

D. RAFAEL VARA THORBECK, catedrático de Patología y Clínica Quirúrgicas de la Facultad de Medicina de Granada.

CERTIFICO: Que D. José Antonio Pérez Ramón, ha -/ realizado bajo mi dirección el trabajo titulado:

" ESTUDIO CLINICO-EXPERIMENTAL DE LOS PROCESOS BIOLOGICOS REPARADORES DE LAS HERIDAS TRATADAS CON DEXTRANOMERO".

Y por creer que reúne las condiciones necesarias.

AUTORIZO a D. José Antonio Pérez Ramón, para presentar dicho trabajo como Tesis Doctoral.

Granada , 9 de junio de 1980.

Vara Thorbeck

A G R A D E C I M I E N T O S

En el momento de escribir estas líneas, quiero dejar patente dos experiencias que he vivido durante la elaboración del presente trabajo. Por un lado la limitación/ de la persona humana para realizar íntegramente una obra. Por otro, el maravilloso valor que tiene la ayuda desinteresada de los amigos. Este llega a hacer posible que te/ sientas capaz de coronar felizmente cualquier proyecto -/ que te propongas.

Por este motivo, quiero resaltar, aquí, mi sincero agradecimiento a las personas que, con ilusión y desinteresado esfuerzo, me han ayudado a sentirme "más capaz" de lo que mi propia limitación me permite.

Tengo que citar, en primer lugar, a mi maestro el/ Prof. RAFAEL VARA THORBECK. Gracias a su maduración humana y cientifica, ha sabido cristalizar en mí, con gran -/ acierto pedagógico, mis primeros pasos en el campo de la investigación. Sin su ayuda, estímulo y dirección de esta tesis doctoral no hubiera tenido la tenacidad necesaria / para llevarla a feliz término. Su constante afán por poner la medicina española en las cotas más altas ha sido / el que le ha llevado a considerar, como un logro para ésta, la realización del presente estúdio sobre el DEXTRANOMERO.

En segundo lugar, doy las gracias a mis compañeros del Departamento de Patología y Clínica Quirúrgicas II -/ destacando, de modo especial, a mis buenos amigos y compañeros el Dr. José Antº Guerrero Fernandez-Marcote y al -/ Dr. Miguel Arrabal Martín. Por su colaboración en las fotos, a los Drs. Gollonet y Pérez Benitez. También quiero/ hacer, dentro de este departamento, una especial mención/ a D. Nicolás Prados, alumno interno de 5º curso, así como a las enfermeras de la Sala de Quirúrgica II-III y Recuperación II, que, con su alto grado de profesionalidad han/ colaborado en las curas hechas a los enfermos.

A continuación quiero dar las gracias a distintos/ Departamentos de la Facultad de Medicina:

Al Departamento de Microbiología que dirige el Prof Piédrola. Este Departamento, mediante la colaboración del Dr. José Guillén Salvat, me proporcionó los gérmenes y ,/ después, me los identificó.

Al Departamento de Anatomía Patológica en las personas de su Director: Prof. Lucio Diaz-Flores y en la del Dr. Aneiros.

Al Departamento de Documentación Clínica en las -/

personas de su Directora: Drª. Ocón y en la Dr. Miguel / Prados de Reyes.

Finalmente, no quiero dejar de citar al profesor / agregado de Dermatología Médico Quirúrgica Dr. Francisco/ Camacho.

A la Drª. María del Rosario Rubio Altamirano, por/ su ayuda prestada en el montage del método y resultados / de laboratorio.

A mi esposa María del Carmen y a nuestra amiga -/ María del Pilar , que, con tanto amor , han mecanografiado este trabajo.

S U M A R I O

AGRADECIMIENTOS

1.- INTRODUCCION

2.- FUNDAMENTACION TEORICA

2.1.- Embriología de la piel.

1.1.-Morfogénesis de la epidermis.

1.2.- Histogénesis tardía.

1.3.- Melanogénesis.

3.1.- Origen de los melanocitos.

3.2.- El patrón pigmentario.

1.4.- Diferencias regionales de ls piel.

2.2.-Histomorfología.

2.1.- Epidermis.

1.1.- Queratinocitos.

1.1.- Capa de células basales.

1.2.- Capa de células escamosas.

1.3.- Capa de células granulosas.

1.4.- Capa córnea.

1.5.- Estrato lúcido.

1.6.- Microscopía electrónica de los queratinocitos.

1.7.- Sustancia de cemento intercelular.

1.8.- Unión de las células basales/ a la dermis.

1.9.- Queratinización de los queratinocitos.

1.2.- Células dendríticas de la epidermis.

2.1.- Melanocitos.

2.2.- Células de Langerhans.

2.3.- Células indeterminadas.

1.3.- Nervios de la epidermis.

1.4.- Anejos de la epidermis.

4.1.- Glándulas ecrinas.

4.2.- Glándulas apocrinas.

4.3.- Glándulas sebáceas.

2.2.- Dermis.

2.1.- Sustancia fundamental.

2.2.- Tejido conrctivo de la dermis.

2.3.- Componente celular del tejido conectivo de la dermis.

3.1.- Fibroblastos.

3.2.- Miofibroblastos.

2.3.- Fisiología de la piel y sus anejos.

3.1.- Aislamiento y protección frente a agentes externos.

1.1.- Formación y función de la queratina.

1.2.- Formación y función de la melanina.

1.3.- Funciones de la dermis.

3.2.- Conservación y regulación de las constantes del medio interno.

3.3.- La piel como órgano de secreción.

2.4.- Heridas.

4.1.- Clasificación.

4.2.- Anatomía patológica.

4.3.- Síntomas de las heridas.

4.4.- Infección de las heridas.

4.1.- Relación huesped bacteria.

4.2.- Patogenidad y virulencia.

4.3.- Capacidad tóxica.

4.4.- Flora microbiana normal.

4.5.- Fases evolutivas en la curación de las heridas.

5.1.- Fase exudativa o inflamatoria.

5.2.- Fase destructiva.

5.3.- Fase proliferativa.

5.4.- Fase de contracción de la herida.

5.5.- Fase de maduración.

4.6.- Factores nutricionales que afectan la curación de las heridas.

6.1.- Papel de las proteinas.

6.2.- Papel de los carbohidratos.

6.3.- Papel de las vitaminas.

6.4.- Papel de los minerales.

4.7.- Factores ambientales que afectan la curación.

7.1.- Papel de la humedad.

7.2.- Papel de la temperatura.

7.3.- Papel de la infección en la herida.

7.4.- Papel de la tensión de oxígeno.

4.8.- Variedades clínicas del proceso de cicatrización.

8.1.- Cicatrización per-primam.

8.2.- Cicatrización per-secundam.

4.9.- Tratamiento de las heridas.

9.1.- Tratamiento de las heridas no infectadas.

9.2.- Tratamiento de las heridas infectadas.

9.3.- Tratamiento oclusivo.

9.4.- Tratamiento de las heridas en estadío de granulación.

9.5.- Tratamiento de las heridas en estado de epitelización.

9.6.- Aceleración de la curación de las heridas.

4.10.- Patología de la cicatriz.

10.1.- Patología de la cicatriz.

10.2.- Dehiscencias de las heridas.

2.1.- Etiopatogenia.

2.2.- Clínica.

2.3.- Tratamiento.

10.3.- Hernia incisional.

3.- NUESTRA CASUISTICA

3.1.- Fase humana.

1.1.- Material.

1.2.- Métodos.

2.1.- Método terapéutico.

2.2.- Método de laboratorio.

2.3.- Método de valoración clínica.

2.4.- Método de la velocidad de cicatrización.

2.5.- Método de toma de biopsia y estadío histológico.

2.6.- Método estadístico.

1.3.- Resultados.

1.4.- Estudio estadístico.

1.5.- Gráficas.

5.1.- Grupo control.

5.2.- Grupo dextranomero.

3.2.- Fase experimental.

2.1.- Material.

2.2.- Métodos.

2.3.- Resultados.

2.4.- Estudio estadístico.

2.5.- Gráficas.

5.1.- Grupo control.

5.2.- Grupo dextranomero.

4.- DISCUSION

5.- CONCLUSIONES

6.- MATERIAL ICONOGRAFICO

6.1.- Fase humana.

6.2.- Fase experimental.

7.- REVISION BIBLIOGRAFICA

1.- INTRODUCCION

Innumerables incognitas y adversidades nos surgen, en la práctica médica diaria, que aún esperan solución y respuesta, algunas tan antiguas como la propia humanidad.

Para un profesional cada problemas es una pesadi-/ lla, la nuestra no podía faltar, es sin duda alguna den-/ tro de la clínica quirúrgica donde nos desenvolvemos, la lesión por pérdida de continuidad cutáneo muscular, debi-/ do a heridas quirúrgicas, traumáticas, úlceras vasculares por presión, quemaduras etc. que tantos enfermos crónicos engendran, pues no podemos ignorar los efectos negativos/ de la hospitalización crónica y las desavenencias Psicoso/ ciales, que envuelven al enfermo ante la ineficacia del / tratamiento que en la actualidad disponemos.

Este es , el objetivo de mi maestro, Profesor VARA THORBECK, al estimularme a aportar el presente estúdio so/ bre un nuevo método terapéutico de las heridas, basado en el conocimiento de un preparado (Dextranomero) en fase ex/ perimental por algunos investigadores (S. JACOBSSON, U. ROTHMAN, G. ARTURSON, K. GANROT, K. HAEGER y JUHLIN.) nor/ teeuropeos.

Las características comunes de todas estas lesio-/ nes, suelen ser la exudación abundante, el edema y la /

formación de pus. En todos los casos será necesario realizar un tratamiento local diario, que permita la eliminación del exudado purulento, y aplicación posterior de un apósito protector adecuado, que favorezca las mejores / condiciones de epitelización. Es importante romper el / circulo vicioso de eliminación de exudados y formación / de nuevos desechos en la herida, gracias a un tratamiento, que limpie de modo eficaz y contínuo, consiguiendose así el proceso natural de cicatrización.

Según WINTER (1962), los apósitos ó vendajes pueden dividirse en dos grupos diferentes: los que impiden/ ó limitan la evaporación, durante un tiempo suficiente , para mantener húmeda la superficie de la herida, y favorecer la migración epidermica, y los que permiten que la herida seque y se forme una costra. En 1972, el mismo/ WINTER llegó a la conclusión de que el tratamiento de elección, es el vendaje que retarda la evaporación, haciendo que la epitelización sea más rápida.

Los vendajes actuales son, principalmente de dos/ clases, vendajes convencionales de gasa y vendajes oclusivos sin propiedades absorventes, frecuentemente de --- plástico. Estos vendajes oclusivos se combinan con un -- fármaco antibacteriano, para reducir el riesgo de infec-

ción, puesto que el exudado abundante es un excelente medio de cultivo para la proliferación de bacterias y hongos (GENS 1974). Esto tiene el inconveniente de que todos los agentes antibacterianos, pueden dar lugar a problemas de toxicidad, sensibilización y desarrollo de resistencias. Además hay que tener en cuenta que con este tipo de vendaje el exudado, se acumula debajo del mismo irritando la piel circundante (REID 1974), sin lograrse, la reducción del edema, ni de los mediadores de la reacción inflamatoria.

La gasa seca, absorve grandes volúmenes de exudado, pero nunca lo suficiente, y tiene el inconveniente de que se adhiere al epitelio en proceso de regeneración y al quitarla se produce un nuevo daño a la herida (SCOLES 1961).

De acuerdo con la experiencia clínica y los trabajos experimentales realizados (WINTER 1972), el apósito ideal debe reunir las siguientes condiciones:

1) Poseer una gran capacidad de absorción contínua.

2) Facilitar la epitelización impidiendo ó limitando la evaporación de tal manera que se evite la deseca-

ción de la superficie de la herida.

3) No adherirse a la superficie de la herida para / no causar un nuevo daño al ser eliminado.

4) Inhibir el crecimiento bacteriano.

5) Evitar la formación de costras.

6) Mantener la herida suave y flexible para permi-/ tir el movimiento de las articulaciones.

7) No causar sensibilizaciones.

Ninguno de los procedimientos actuales, reune el/ conjunto de requisitos. En la escasa bibliografía de que se dispone, (S. JACOBSSON, U. ROTHMAN, G. ARTURSON, K. / GANROT, K. HAEGER y JUHLIN) el dextranomero, producto -/ sintetizado en los laboratorios farmacéuticos , Pharma - cia UPPSALA (Suecia), cumple los requisitos ideales se-/ gùn los primeros estúdios realizados en el Hospital General de Malmö (Suecia) (JACOBSSON, S. ROTHMAN, U. etc.) , comunicados en el Congreso de la Sociedad de Cirujanos / en Malmö (1974), en la Sociedad Nordica de Cirujanos en Gotemburgo, (1975) y en la Confederación Internacional /

de Cirugía Plástica Reconstructiva, en Paris (1975).

Confirmar estas comunicaciones y completar el es-
túdio del dextranomero en relación con el proceso de ci-
catrización de las heridas, es el objeto del presente -
trabajo clínico experimental.

2.- FUNDAMENTACION TEORICA

2-1.- EMBRIOLOGIA DE LA PIEL

Al igual que otros órganos, la piel es una uni-- dad anatomofuncional formada por la unión ó influencia- reciproca de dos esbozos distintos, uno derivado de la hoja externa y otro de la media del embrión.

Antes de la gastrulación, cuando los elementos - celulares del germen están en superficie y, por lo tanto, aún no hay hojas blastodermicas (blastulas en anfibios, disco germinativo en aves, reptiles y mamiferos), nos es posible limitar una amplia región, que por sus - características morfoestructurales en nada se diferencia del resto, pero que por su evolución ulterior dará- lugar al -epiblasto-.

Esta zona prospectiva epiblastica ha sido posi-- ble limitarla experimentalmente por medio de marcas coloreadas en anfibios, reptiles y aves. En la blástula - de anfibios se forma una extensa región en la parte ventral del polo animal del huevo, por encima de su ecua-- dor. En ella es posible limitar las pequeñas regiones - que más tarde orginarían el cristalino y la vesícula otica y lo restante es la zona -prospectiva epidermica-.

Sin embargo esta zona de la blástula, cultivada- in vitro, es sólo capaz de originar masas celulares de

estructura indiferenciada, lo que nos indica que no está aún determinada; por el contrario trasladada a zonas distintas de la suya, en otra blástula, es capaz de originar piel, músculo, sistema nervioso, riñón ... según/ a la región a la cual se trasplante. Cualquier tejido -/ puede pu s derivar de ella, es practicamente omnipotente y el camino que seguirá dependerá por lo tanto, de las/ influencias de vecindad. Su diferenciación es pués, dependiente.

Las cosas cambian después de la gastrulación. A/ partir de este momento, cualquier trozo de zona epiblástica, trasplantada a cualquier otra región ó cultivada / in vitro originará necesariamente piel; se ha hecho / pués, unipotente en sentido formativo y su diferencia -/ ción es consecuencia de sus propiedades intrínsecas --- (auto-diferenciación).

En esta fase, la hoja externa del embrión se designa modernamente, Ectoblasto. Rapidamente, a través de una serie de procesos, que no podemos analizar en detalle bajo la influencia inductora del tejido subyacente que/ merced a los complicados movimientos celulares de la gastrulación se colocó debajo del -ectoblasto-, se diferencia en tres regiones: una porción impar y media el

-neuroblasto- que dará lugar al sistema nervioso central, gran parte del sistema nervioso periferico y la parte noble del órgano de la visión; dos porciones pares, la cresta neural que dá lugar a las células pigmentarias y células de Schwann y el epiblasto. De este último se segregan unas porciones que engruesan rapidamente los placodos, de los que derivan el sentido olfatorio, el acústico y parte de ganglios de los nervios craneales; de otros se forma la mayor parte de la boca, encias, dientes, parte de la lengua y parte craneal de las fosas nasales; de los placodos caudales los genitales externos, uretra y canal anal; la restante más extensa, rodeará el cuerpo del embrión y formará la epidermis con sus órganos anejos (pelos ó plumas, glándulas, uñas...). La epidermis, púes, deriva de la porción restante del epiblasto, una vez que se segregarón de ella los órganos antes mencionados.

De distinto origen es la capa profunda de la piel, la -dermis- ó -corión- y los conocimientos sobre su ontogenia han variado bastante en los últimos años.- Hasta hace relativamente poco tiempo se creia que todo el corión derivaba exclusivamente de la parte muy localizada de la hoja media del embrión, el -dermatomo-.Como es sabido una porción de esta hoja media ó -mesoblas

to- se condensa y fragmenta en la parte dorsolateral -- del sistema neural formando los -somitos-; en cada uno- de ellos pronto se pueden distinguir tres porciones de- aspecto epitelial: una lateral el dermatomo, y dos me- diales, una dorsal, el miotomo, y otra ventral, el es-- clerotomo. Las células del esclerotomo toman pronto as- pecto mesenquimal para originar el esqueleto; lo mismo- sucede a las del dermatomo, que alcanzan la cara profun da del epiblasto y originan la dermis ó corión.

Pero la embriologia experimental ha demostrado - en todos los animales en que se ha podido realizar, que junto a esa fuente de origen de la dermis existen otras dos.

Existe un mesénquima derivado directamente de la linea primitiva y de la notocorda que se abre paso en-- tre las hojas del embrión, en cuyo espesor se forma la cavidad celomática. Una parte de ese mesénquima queda - lateralmente por fuera de la cavidad celomática y se de- nomina somatopleura.

Antes se creia que daba exclusivamente origen al tejido subpleural y subperitoneal, pero posteriormente- se ha demostrado que a sus expensas se forma parte del-

tejido múscular y también que dá lugar a la formación - de una parte de la dermis.

La tercera fuente de origen de la dermis procede/ de células de la cresta neural, que se denomina -ectomesénquima- ó mesectoblasto, para poner de manifiesto su origen de la hoja externa del embrión. La contribución/ del mesectoblasto en la formación del corión no es uniforme; su participación es mayor en la piel del dorso - que en la ventral y la dermis cefálica tiene casi exclusivamente este origen.

2-1-1 Morfogénesis de la epidermis.- Cuando el/ canal neural se cierra, transformandose en tubo, entre - los 20 y 26 dias de vida intrauterina, el epiblasto del que derivará la epidermis tiene una estructura muy sencilla ; se halla constituido por una sola capa de células aplanadas ó ligeramente cúbicas , en las que se observan abundantes mitosis, ya que tienen que aumentar mucho de/ superficie, dado el rápido crecimiento en volumen del embrión. Al principio del segundo mes, se forma por encima de la única capa de células, un segundo estrato. La epidermis está, pués, constituida en esta fase por una capa de células irregulares que asientan sobre el tejido conjuntivo embrionario y una más superficial de

elementos redondeados. A partir de este momento, sólo/ en la capa profunda, cuyas líneas se hacen pronto cilindricas, y disponen en hilera, pueden observarse mitosis , lo que justifica el nombre de -capa matriz- (stratum germinativum). En la capa superficial, -peridermis- ó -epitrichium- , las células se aplanan; en el curso/ del segundo mes, su protoplasma se transforma en una sustancia de naturaleza córnea, pero conservan el núcleo , a diferencia de lo que ocurre en la capa córnea definitiva. Nunca exhiben mitosis.

Esta disposición bilaminar se conserva hasta el/ comienzo del periodo fetal; en embriones de 32mm. comienza a formarse un stratum intermedium entre el -germinativum- y el -epitrichium-. El -stratum intermedium- / es unicelular hasta el final del cuarto mes fetal, en / que comienza a disponerse en varias capas y origina la / mayor parte de la epidermis definitiva.

Una transformación del peridermo en capa córnea/ verdadera sólo comienza hacia el quinto mes fetal, en / que aparecen primero gránulos de queratohialina , que / posteriormente se transforman en eleidina y sustancia / córnea, perdiendo la piel su transparencia y desprendiendose parte del epidermo por descamación.

En la segunda parte del periodo fetal comienzan a formarse los esbozos de pelos y glándulas sebáceas y sudoríparas y los musculos -arrectores pilorum- que con el músculo ciliar y el iris son los únicos de origen epi--- blástico.

El límite entre epidermis y dermis es al principio una línea recta, que sólo se hace ondulada, primero/ al aparecer los esbozos de pelo y glándulas, y más tarde, por crecimiento de la dermis hacia arriba, que dá lugar/ a la formación de papilas. Al final del periodo fetal , la secreción de las glándulas sebáceas, junto con células queratinizadas y lanugo desprendidos, forman la / - vernix caseosa - de que hay que limpiar al recien nacido.

2-1-2 Histogénesis tardía.- En el periodo fetal / la piel adquiere la estructura característica que le permite cumplir las numerosas funciones que le están encomendadas durante la vida posnatal, como la protección -- contra agentes físicos, químicos e infecciosos, regulación de la temperatura, órgano de los sentidos,etc.

Cuando el -stratum intermedium- se diferencia en/ varias hileras de células, con diferencias notables de

espesor según las distintas regiones, las células son-- más aplanadas cuando su posición es más superficial y - aparecen entre ellas puentes de unión o -citodesmos- -- (Schultze) que dan lugar a la formación de las tonofi-- brillas o epiteliofibrillas de Rio Hortega.

Es muy interesante el hecho de que al aumentar - el número y tamaño de las papilas dérmicas y hacerse -- muy ondulada la linea formada por el -stratum germinativum-, éste crece mucho en superficie haciéndose mucho - más extensa que las otras capas epidérmicas que, por- tener una forma lineal, tienen una superficie menor. - Hoy sabemos que a cada célula de la capa córnea corresponden 30 de la hilera basal, y que, por consiguiente - para sustituir cada célula córnea desprendida, basta -- con que se divida una de cada 30 células de la capa germinativa.

También durante el periodo fetal tiene lugar la diferenciación de la dermis en capas papilar y reticu--- lar; la formación de fibras de colágeno y elásticas, de las asas capilares y de las anastomosis arteriovenosa - (glomus u órganos de Hoyer Groser), y la diferenciación de los distintos receptores nerviosos, (pero su análi--- sis sobrepasa los limites de esta exposición breve y es

quemática).

2-1-3 Melanogénesis.- Uno de los elementos estructurales más característicos e interesantes de la piel, lo constituyen las células pigmentarias ó melanocitos (FITZ-PATRIVK). Se encuentran fundamentalmente en la capa basal, en cantidad variable según los individuos y las regiones.

Los melanocitos pueden ser demostrados con la reacción dopa de Bloch, con la cual el citoplasma de estas células aparece teñido de un tono gris oscuro, mientras que el resto de las células epiteliales permanecen incoloras. La especificidad de esta técnica se basa en el hecho de que la dopaoxidasa está presente en los melanocitos y falta por completo en el resto de las células epiteliales.

Existen dos problemas de gran interés en lo referente a la embriología de las células pigmentarias : 1º De donde proceden los melanocitos , algunos de los cuales sólo son potencialmente melanoblásticos , pués no todos llegan a formar pigmento. 2º Cuales son los factores ó causas que determinan el patrón pigmentario en las distintas especies , en las distintas razas ó en

unas y otras regiones cutáneas del mismo individuo.

2-1-4-1 Origen de los melanocitos.- El origen de/ las células con potencialidad pigmentaria está hoy definitivamente aclarado gracias a los estúdios de la fisiología del desarrollo, tanto en los anfibios como en las/ aves ó mamíferos en los que han podido realizarse experimentos. Hasta tal punto que prescindimos de todas las -- teorías anteriores, que sólo tienen un valor histórico/ "Todos los melanocitos derivan de elementos de la cresta neural". Ya Harrison, en 1910, señala la presencia de / células pigmentarias en cultivo in vitro de médula espinal de embriones de anfibios, sospechando su procedencia de la cresta neural, pero fueron necesarias pacientes investigaciones en el curso de más de 20 años para comprobar esta hipótesis. En 1929, Holtfreter cultiva epider - mis in vitro y nunca encuentra células pigmentarias, -- realizando así la contraprueba de las observaciones de - Harrison.

Con los avances de la microcirugía experimental - en embriología, tan perfeccionada por Spemann, se demuestra, sin lugar a dudas, el origen de los melanocitos de los anfibios a partir de la cresta neural, siendo fundamentales las experiencias de Du Shane (1934-1938). La/

extirpación bilateral de los rodetes neurales, hace que en las larvas sometidas a esta intervención no se observen jamás células pigmentarias. La extripación unilateral no produce nigún efecto, porque las células de la cresta neural del otro lado sustituyen las del operado. La misma confirmación aportan las trasplantaciones homoplásticas; si se extirpa el rodete neural de una núrula y se trasplanta a la parte lateral del cuerpo de otra, a la que se han extirpado ambos rodetes neurales- se forman células pigmentarias en la parte del tronco - en que se hizo el trasplante.

En las aves, los resultados han sido igualmente- positivos. Los cultivos de tejidos de embriones jóvenes sólo originan células pigmentarias si incluyen la cresta neural (Dawis) y lo mismo sucede en el ratón (Rawles 1940).

Hacia los tres primeros meses de desarrollo aparecen en la piel, procedentes de la cresta neural, los primeros melanocitos.

Como durante su emigración no pueden distinguirse estas células de las que las rodean, sólo el experimento puede poner de manifiesto esta emigración. Du Sha

ne, en 1944, trasplanta el esbozo de un miembro de em -/ brión de pollo de "Leghorn" negro a la cavidad celómica/ de un "Leghorn" blanco. El miembro es negro si el trasplante incluye los somitos, y blanco si no los incluye.

Es decir, que a las 62 horas los melanocitos han alcanzado los somitos, pero todavía no el esbozo de miembro. En cambio, si la experiencia se hace con un esbozo de miembro sin somitos, de un embrión de 80 horas ,/ siempre dá lugar a un miembro negro, porque los melanocitos han alcanzado ya en esta fecha el esbozo de miembro.

Es notable que no solamente los melanocitos de/ la piel dèrivan de la cresta neural, sino también los de otras regiones y órganos del cuerpo. Así, está demos-/ trado que los elementos pigmentarios del globo ocular ,/ tanto de la coroides como del iris, derivan de la cresta neural encefálica (BARDEN Y RIS, 1942). Es sumamente / curioso el hecho de que los melanocitos en su emigra-/ ción llegan al tejido subperitoneal, donde muy pocos -/ muestran actividad melanógena, quedando ésta latente en la mayor parte de ellos, pero pudiendo recobrarla en / condiciones adecuadas. Lo demuestra la ingeniosa experiencia de "RAWLES" en 1945: Si se trasplanta un esbozo de

miembro de "Leghorn" blanca, de 80 horas, a la cavidad celómica de una "Barred Rok", de 76 horas, se forma en la cavidad peritoneal un miembro negro. Si un trozo de epidermis de este miembro se injerta en la piel del dorso de un polluelo "Leghorn" blanco recién nacido, las plumas que derivan de él muestran estrías alternadas -- blancas y negras que es la característica de el "Barred Rock". Este experimento demuestra dos cosas: que el pigmento del miembro injertado procede de la cresta neural del hupesped, pero a través de la via peritoneal, que - normalmente hubiera producido algún melanocito, pero -- nunca plumas, y que el patrón de pigmentación es propiedad exclusiva de la cresta neural.

Recientemente, tecnicas experimentales más ingeniosas han permitido precisar mejor la emigración de las células pigmentarias prospectivas, utilizando el-- marcaje biológico y la separación y combinación de ectodermo y mesodermo entre razas distintas con pigmenta--- ción diferente.

Ledouarjn, en 1970, injertando cresta neural de la codorniz en el embrión de pollo, ha demostrado, debido a las diferencias de los nucléolos en la codorniz, - que la emigración de los melanoblastos sigue la vía del

mesodermo para pasar más tarde al ectodermo.

Mayer (1973) separa el mesodermo del ectodermo de ratones negros y albinos. La recombinación de ectodermo/ albino con mesodermo negro en embriones de 2 dias origina piel negra en el albino. Lo que indica que los melanoblastos del negro han invadido el ectodermo del albino.- A los 13 días tiene lugar esta invasión, pués el cultivo de ectodermo negro de 13 dias, cultivado sólo o con mesodermo albino produce piel pigmentada.

De esta forma se han podido demostrar, en las aves y algunos mamíferos, el origen de los melanoblastos la vía que siguen en su emigración y el estadio de desarrollo en que invaden el ectodermo , donde sufren la diferenciación y transformación en melanocitos.

2-1-3-2 El Patrón Pigmentario.- Admitiendo ya que todos los melanocitos derivan de la cresta neural, queda por averiguar si el patrón pigmentario de la piel y sus anejos, pelos, plumas ... tan variables de unas especies a otras y en la misma especie según las regiones/ cutáneas, se deben a factores intrínsecos de la cresta/ neural o son adquiridos por acción de vecindad. En lo - que a la acción de las especies se refiere, las expe --

riencias citadas de Rawles en pollos demuestra plenamente que el caracter pigmentario característico de la especie es, en su mayor parte un caracter intrínseco de la / cresta. En los anfibios ha sido claramente demostrado / por Raven y Twity en 1945. Si se extirpan las dos crestas neurales del "Triturus rivularis" y se injertan en uno de sus lados una de estas crestas y en el otro una de -- "Triturus torosus", la larva que se forma muestra en uno de los lados caracteres pigmentarios del primero y en el otro dos del segundo, que son muy diferentes.

En cuanto a los caracteres regionales de la pigmentación dentro de la misma especie, las cosas son más/ complicadas y la influencia de factores intrinsecos, manifiesta.

Se puede decir que cualquier trozo de la cresta - neural de una especie, sea cefálica ó truncal, tomará / los caracteres regionales de pigmentación de la región / donde vaya a parar. Estos factores radican en el epiblasto y mesoblasto de las correspondientes regiones; la cresta neural encefálica, trasplantada al tronco de - la misma especie, originan melanocitos que toman los/ caracteres del tronco. En algunas especies, los somitos son la causa de que los melanocitos se dispongan en el

tronco, según dos bandas longitudinales que siguen sus bordes. Son, púes, necesarios factores extrinsecos, para transformar los melanocitos en células con pigmento. Las razas blancas de muchos anfibios, aves y tal vez el hombre, poseen melanocitos procedentes de la cresta neural, pero les faltan los factores extrinsecos, en las regiones en que van a parar, para transformarse en células pigmentarias.

Así, el "axolote blanco" (HARRISON) se caracteriza por estar desprovisto de pigmento en el tronco y miembros y sólo posee unas cuantas células pigmentarias en la cabeza; si se extirpa un trozo de epiblasto de "Amblystoma Jefersonianum" antes de que se hayan introducido en él los melanocitos y se le trasplanta al tronco de un " axolote blanco", se forman células pigmentarias en el tronco de éste y los caracteres de estas células son las del "axlote". Es, púes, evidente que esta especie posee en el tronco numerosos melanocitos, que no se exteriorizan como células pigmentarias, porque en el tronco y miembros de esta especie faltan los factores extrinsecos necesarios.

Por esta razón, muchos melanocitos quedan en estado latente mucho tiempo; tal sucede con las pigmenta-

ciones tardías que aparecen en la metamorfosis de cier - tos anfibios y en el periodo puberal de muchos mamiferos

2-1-4 Diferencias Regionales de la Piel.- El gro- sor de la epidermis y de la dermis no es uniforme en to- da la superficie cutánea; así tenemos que la piel que re cubre las superficies de extensión es más gruesa que la/ que recubre las de flexión. La piel que recubre los hom bros y las espaldas es más espesa; mide 5 mm. de diáme - tro, y la más delgada, con un diámetro de 0,5 mm., co--- rresponde a la piel que recubre los párpados.

En general, la superficie de la piel delgada no - forma arrugas y surcos como la piel gruesa de la región/ palmoplantar y, a diferencia de esta, contiene folículos pilosos y menor número de glándulas sudoríparas. La epi dermis es más delgada que en la dermis gruesa; el es-- trato espinoso es más fino; no existe estrato lúcido y la córnea está ligeramente delgada. La dermis se carac- teriza porque sus papilas están distribuidas irregular-- mente y el dibujo observado en la superficie de la piel se debe a la depresión producida por los orificios de - los folículos pilosos. Lo mismo sucede en lo que se re- fiere a sus anejos, pelos, glándulas,... tan distintos/

según las regiones, en longitud, calibre, coloración... La espectrofotometría demuestra también su diferente -- contenido en melanina, caroteno, hemoglobina...Como consecuencia de ello, la función varía también de unas zonas a otras, así como la manera de reaccionar ante ciertos estímulos, hormonales, vitamínicos, radiaciones, -- temperatura...Estas diferencias comienzan relativamente pronto durante la ontogenia, generalmente en el periodo larval de los anfibios y fetal de los mamíferos. Parece ser que las diferencias regionales son debidas a propiedades intrínsecas de cada región; así, las trasplantaciones de piel de una región de larva de anfibio a otra región dará origen a un trozo de piel con los caracteres de la región de que procede.

Durante mucho tiempo se habia creido que la piel antes del nacimiento era un elemento casí pasivo de mera protección para el cuerpo del embrión. Hoy se sabe- que no es así, sino que tiene gran importancia como membrana dotada de propiedades especiales, no solamente en la nutrición del embrión sino que tiene importancia morfogénetica decisiva en la formación de ciertos órganos- El ejemplo que hoy dia conocemos mejor es el del desarrollo de los miembros. Era clásico considerar que los factores de la morfogénesis y diferenciación de los ---

miembros eran inherentes al mesoblasto contenido en su - esbozo y que la capa epidermica que los recubría era pasiva y no hacía más que amoldarse al crecimiento del -- miembro. Desde 1948, los estúdios de diversos autores, - pero singularmente de Saunders, en el pollo, han demos-- trado que la capa epiblástica que recubre el muñón del - miembro y que se denomina cresta epitelial tiene una importancia decisiva en su formación, probablemente por -- medio de un mecanismo de inducción. Así, si se extirpa - esta cresta epitelial en el esbozo de un miembro antes - del estadio 4, no se forma la parte distal (antebrazo, - muñeca y mano); si se hace en el estadio 6 falta la muñeca y la mano, y si se hace en el estadio 7, se obtienen/ defectos más o menos extensos de la mano y dedos.

Lo mismo ocurre si se dan toques localizados con/ solución de colchicina sobre la cresta epitelial (por -- inhibición de las mitosis) y probablemente se deben a -- análogo mecanismo las malformaciones de los miembros que se obtienen con ciertos regímenes alimentarios dificitarios, vitamínicos o no, ya que Giroud ha demostrado -- que en las malformaciones de los miembros que se obtienen por carencia de ácido pantoténico, se originan unas/ vesículas edematosas y hemorragicas que destruyen sectores más o menos extensos de la cresta epitelial.

Por consiguiente, los conocimientos modernos demuestran la importancia de la piel para una morfogénesis normal y los interesantes mecanismos de acción e interreacción mutua, entre las diferentes partes que la constituyen y entre éstas y las que las rodean, para que la piel adquiera su estructura tipica y capaz de realizar las numerosas e importantes funciones que le estan encomendadas.

2-2.- HISTOMORFOLOGIA

La piel está constituida por una capa epitelial - ectodermica ó -epidermis- y la -dermis- ó corión, de origen mesodermico. Epidermis y dermis juntas constituyen - el denominado cutis, cuyo grosor varía entre 1 y 4mm. - Por debajo se localiza el subcutis ó -hipodermis- formado por el panículo adiposo.

La estructura de la dermis fué observada por primera vez por Malpighio en 1664, y descrita dos siglos -- más tarde por Kolliker (1850) y Unna (1883).

2-2-1 Epidermis.- Está formada por un epitelio estratificado, continuamente en vías de renovación, por la exfoliación incesante de las células que lo constituyen.

La epidermis está constituida por dos tipos de -- células: los queratinocitos y las células dendríticas.

2-2-1-1 Los Queratinocitos.- Los queratinocitos - difieren de las células dendríticas o células claras en/ que poseen puentes intercelulares y grandes cantidades - de citoplasma tingible. Los queratinocitos a medida que/ se diferencian en células corneas, se disponen en cuatro

capas que enumeradas de la profundidad a la superficie - son: 1º Capa de células basales. 2º Capa de células escamosas. 3º Capa granulosa y 4º Capa córnea. A menudo, las tres capas inferiores, que contienen las células basales escamosas y granulosas constituyen la epidermis nucleada se denomina estrato de Malpighio ó red Malpighiana. En - algunos cortes, se reconoce una capa adicional, el estrato lúcido, como formando parte de la porción inferior de la capa córnea, especialmente en las manos y las plantas de los piés.

2-2-1-1-1 Capa de Células Basales.- Las células - basales constituyen una capa única, tienen forma de columna y se colocan con su eje longitudinal perpendicular a la línea que divide la epidermis de la dermis. Poseen un citoplasma intensamente basófilo y un núcleo oval ó alargado que se colorea de oscuro. Están conectadas entre sí y con las células escamosas suprayacentes por medio de puentes intercelulares ó desmosomas.

Estos desmosomas son menos netos que los de la capa de células escamosas. En su base, las células basales están unidas a la zona basal subepidermica, la que sin - embargo se demuestra solamente mediante coloraciones especiales como la de P. A. S.. La cantidad de melani---

na de las células basales se corresponde con el color de la piel. En los caucasoides de piel clara, las células basales contienen unos pocos gránulos pequeños de melanina, dificilmente visibles con una coloración hematoxilina-eosina de rutina mientras que en los caucasoides de piel quemada por el sol ó de tez oscura y en los mongoloides y negroides, generalmente se observan numerosos gránulos de melanina bien diferenciados, a menudo con una localización predominante como casquetes supranucleares.

En la epidermis humana normal, las mitosis que denotan división nuclear y celular corresponden fundamentalmente a la capa de células basales. Incluso las mitosis que parecen hallarse por encima de la capa de células basales están yuxtapuestas, como se comprueba a menudo en los cortes seriados, por lo tanto representan células basales (VAN SCOTT y EKEL 1963).

Reproducción de las células y transito a través de la epidermis.- Sobre la base de una capa germinativa de una capa y media de células de espesor y con los datos obtenidos por Weinstein y Frost (1971), que indican que la célula germinativa epidermica normal promedio, con un tiempo de síntesis de ADN de 16 horas, tar-

da aproximadamente 19 dias en reproducirse, Halprin en 1972 concluyó que, una vez que se ha formado la célula, el tiempo requerido para viajar desde la capa de células basales hasta la superficie de la capa granulosa es probablemente, de 26 a 42 días en la piel humana normal Sobre la base de autorradiografías con glicina radiactiva (FROST Y COLS 1966) y de la desaparición de la fluorescencia del estrato corneo después de haberlo penetrado con un colorante fluorescente (BAKER Y KLIGMAN 1967) se calcula que el pasaje de las células corneas a través de la capa córnea normal requiere alrededor de 14 - dias. Si se supone que el tiempo de reproducción de las células germinativas es de 14 días; el tiempo de transito a través del estrato de Malpighi de 26 a 42 días, y- el tiempo de transito a través del estrato córneo de 14 días (HALPRIN 1972) el tiempo total de renovación epidermica es, por lo tanto, de 59 a 75 días.

Epstein y Maibach 1965, marcando los núcleos de- la epidermis normal mediante la inyección intradermica- de timidina tritiada, encontraron que los núcleos marcados migraban a distintas velocidades, de manera que algunos de los núcleos marcados alcanzaban la capa granulosa en una semana mientras que otros requerían seis semanas. Concluyeron entonces que los puentes intercelula

res no son elementos fijos, sino que pueden abrirse y - volver a formarse, una característica que permite a las células epidermicas alterar su tamaño, forma y movili-- dad. De modo diferente a la situación en la epidermis - viable , donde las células se liberan para subir al a-- zar, una vez que llegan al estrato córneo se unen firme mente entre sí y viajan juntas, tal como se ve en las - autorradiografías publicadas por Weinstein y Frost y - sus colaboradores en 1966 y 1965, que muestran una banda de proteina radiactiva que se mueve hacia arriba a-- través del estrato córneo.

Zona basal subepidermica.- Con la coloración de- ácido peryódico de Schiff se visualiza una zona basal - subepidermica que no se ve en los cortes coloreados con hematoxilina-eosina. Aparece como una banda homogénea - de 0,5 a 1,0 milimicras de espesor, en la unión dermoepidermica (BOURLOND Y VANDOOREN-DE FLORENNE 1968). Su - coloraciòn P.A.S. positiva indica la presencia de una - cantidad relativamente grande de mucopolisacáridos neutros en èsta zona (STOUGHON Y WELLS 1950). Además, la- impregnación con nitrito de plata, revela, en la der-- mis superior, una malla de fibras reticulares. La coloración con azul alcian, que colorea la banda de polisacáridos y la malla reticular, revela que la banda de po

lisacáridos se ubica por encima de la capa reticular -- (COOPER 1958). Vista con el microscopio electrónico, la zona basal subepidermica P.A.S. positiva del microscopio común aparece heterogénea. Debe diferenciarsela de la lámina basal de la microscopia electrónica, que se una verdadera membrana y que por tener solamente de 35 a 45 milimicras de espesor, es submicroscópica. Por lo tanto, - la zona basal P.A.S. positiva del microscopio común es,/ como promedio, 20 veces más gruesa que la lámina basal - del microscopio electrónico (BOURIOND 1968). Alrededor - de los anexos de la piel, también se encuentra una zona- basal similar a la que se ve en el límite dermoepidermico.

2-2-1-1-2 Capa de Células Escamosas.- Las células de la capa escamosa son poligonales y forman un mosaico, comunmente de 5 a 10 capas de espesor. Hacia la superficie se aplanan, siendo su eje mayor paralelo a la superficie de la piel. Las células están separadas por espa'- cios atravesados por puentes intercelulares.

El examen de la epidermis con el microscopio de/ luz polarizada revela, en el citoplasma de las células / que componen el estrato de Malpighio, numerosas tonofibrillas doblemente refractiles , formando una red tridi-

mensional alrededor del núcleo e irradiandose hacia el - borde de la célula (NIEUWMEIJER 1953). Las tonofibrillas contienen grupos sulfhidrilo u disulfuro (MONTAGNA y -- COLS 1954) y los patrones de difracción con rayos X son/ los de la queratina (NELEMANS y COLS 1952), lo que indica que las tonofibrillas son precursoras de la queratina

2-2-1-1-2 Capa de Células Granulosas.- Las célu-- las de la capa granulosa tienen forma de diamante o son/ aplanadas y están llenas de gránulos queratohialinos intensamente basófilos y de forma y tamaño irregulares. El espesor de la capa granulosa de la piel normal es proporcional al espesor de la capa córnea; en las áreas en que la capa córnea es delgada, tiene sólo una a tres capas - celulares de espesor, pero en áreas con una capa córnea/ gruesa, tales como las palmas y las plantas, tiene más - de 10 capas de espesor.

En el proceso de queratinización, los gránulos - queratohialinos, en contraste con las tonofibrillas, no contienen grupos sulfidrilos. La presencia de cantida-- des considerables de cemento queratohialino en la capa - córnea epidermica es responsable de su contenido relativamente bajo en sulfuros, en comparación con el del pe-

lo y las uñas (MATOLTSY y MATOLTSY 1962). La capa córnea epidermica por contener cemento queratohialino, se denomina queratina blanda, mientras que el pelo y las uñas , al estar libres de cemento queratohialino, representan - la queratina dura.

La capa de células granulosas representa la zona/ queratógena de la epidermis, en la que se prepara la disolución del núcleo y otros organoides.celulares. En contraste con las capas de células basales y escamosas donde las enzimas lisosómicas tales como la fosfatasa ácida y la aril sulfatasa están presentes sólo como unos pocos agregados granulares, en la capa de células granulosas , existe una difundida coloración de enzimas lisosómicas - (REES 1967) (JOHNSON y DANIELS 1969).

2-2-1-1-4 Capa Córnea.- Como resultado de su queratinización brusca y completa, las células de la capa - córnea son anucleadas. La caá córnea se colorea en forma eosinofílica, en contraste con el estrato de Malpighio - subyacente. El espesor de la capa córnea es, a menudo, - dificil de precisar en las muestras fijadas con formalina, porque con frecuencia algunas de las capas celulares externas se desprenden.

La mayor parte de la capa córnea muestra, en los especímenes fijados con formalina, una estructura entretejida, gracias a la presencia de grandes espacios intercelulares. Estos espacios resultantes de la fijación inadecuada de los componentes solubles de las células córneas por la formalina y la posterior remodelación de tales constituyentes por el agua, el etanol ó el xileno , durante el procesamiento histológico. Así la porción queratinizada del citoplasma que contiene puentes disulfuro de cisteina se contrae y forma una cubierta a lo largo de la membrana celular (SPERARMAN 1970). En contraste, la fijación con tetróxido de osmio ó glutaraldehido, como se usa para la microscopia electrónica, produce precipitación de las sustancias solubles en formalina dentro de las células córneas y colorea la capa córnea uniformemente de negro.

2-2-1-1-5 Estrato Lúcido.- En muchos cortes fijados con formalina la porción inferior de la capa córnea/ después de procesada y coloreada, aparece como una zona/ homogénea, eosinófila, delgada, denominada estrato lúcido. Esta zona es más pronunciada en las áreas en que la/ capa córnea es gruesa, especialmente en las palmas y en/ las plantas. El estrato lúcido difiere histoquímicamente del resto de la capa córnea, por ser rico en fosfolípi-

dos hidrófobos, actúa como barrera fisiológica a la penetración de agua (BLANK y SCHEUPLEIN 1964). Como tal se lo denomina también estrato unido, en contraste con el estrato separado suprayacente con su patrón entre tejido (SPEARMAN 1970).

2-2-1-1-6 Microscopia Electrónica de los Queratinocitos.- Un rasgo característico de la microscopia electrónica de los queratinocitos, en contraste con las células dendríticas de la epidermis, es la presencia de complejos desmosoma-tonofilamento.

Complejos desmosoma-tonofilamento.- Los tonofilamentos que se encuentran en el citoplasma de los queratinocitos del estrato de Malpighio son haces laxos de filamentos electrón-densos; cada filamento mide de 7 a 8 milimicras de diámetro. Por un extremo, los tonofilamentos están unidos a la placa de adhesión de un desmosoma mientras que el otro extremo se encuentra libre en el citoplasma, cerca del núcleo. Los desmosomas representan los puentes intercelulares. Aún cuando los desmosomas muestran variaciones menores que dependen del uso de tetróxido de osmio ó de glutaraldehido como fijador y de uril - acetato ó de citrato de plomo como colorante (KOMURA y OFUJI 1972), generalmente cada desmosoma consta de una -

placa de adhesión electrodensa en cada extremo, ubicada/ en el citoplasma de los dos queratinocitos conectados -- por el desmosoma.

En el centro del desmosoma, se encuentra la sus-- tancia de cemento intercelular, mostrando mayor densidad electrónica en la porción directamente adjunta a la hoja externa de la membrana plasmática trilaminar, denominada cubierta celular superficial de Hashimoto y Fever (1970). La ubicación irregular de los desmosomas demuestra que - la membrana plasmática de los queratinocitos es notablemente plegada.

2-2-1-1-7 Sustancia de Cemento Intercelular.- La- sustancia de cemento intercelular entre queratinocitos - adyacentes contiene glucoproteinas que se colorean con - rojo rutenio y lipoproteinas que se colorean con lantano.

2-2-1-1-8 Unión de las Células Basales a la der - mis.- La membrana plasmática de la superficie inferior- de las células basales muestra hemidesmosomas, que po -- seen una sola placa de adhesión intracitoplasmática, a - la que se unen los tonofilamentos del interior de la célula basal. Por debajo de la membrana plasmática de las/

células basales, una zona bastante electrón-transparente, de 35 a 40 milimicras de ancho, separa la membrana plasmática trilaminar de alrededor de 8 milimicras de ancho, de la lámina basal medianamente electrón-densa de 35 a 45 milimicras de ancho (BOURLOND Y VANDOOREN-DE FLORENNE 1968). Dentro de la zona electrón-transparente se observa, por debajo de la capa placa de adhesión del hemidesmosoma y extendiendose paralela a ella, una línea de 7 a 9 milimicras de espesor, la placa celular densa sub-basal, ubicada aproximadamente entre 10 milimicras de la hoja externa de la embrana plasmática de las células basales (HASHIMOTO Y LEVER 1970 Y TARNOWSKI 1970). Entre la membrana plasmática de las células basales y la lámina basal se extienden filamentos de amarre. Los filamentos que nacen de la membrana plasmática por debajo de la capa de adhesión del hemidesmosoma se extienden verticalmente hacia la placa celular densa sub-basal subyacente, y desde allí a la lámina basal, mientras que los filamentos no adheridos a las placas celulares densas sub-basales muestran un curso irregular "entrecruzado", desde la membrana plasmática de las células basales hasta la lámina basal. La lámina basal, de 35 a 45 milimicras de espesor, consta de una trama de filamentos muy delicados. Extendiendose entre la lámina basal y descendiendo a la dermis, se observan

fibrillas de amarre de un espesor que varía entre 20 y - 60 milimicras. Estas se aproximan, por lo tanto, al espesor de las fibrillas colágenas, pero difieren de ellas - por tener una estriación no periódica (SUSI y COLS 1967).

2-2-1-1-9 Queratinización de los Queratinocitos.- En las porciones superiores de la capa de células escamosas, aumentan el número y el espesor de los tonofilamentos. No obstante, los cambios decisivos que inicia la -- queratinización se producen en las células granulosas y se caracterizan por la aparición de gránulos queratohialinos y de cuerpos de Oldland ó queratinosomas.

La formación inicial de gránulos queratohialinos consta de la agregación de partículas de ribonucleoproteinas electrón-densas, principalmente a lo largo de los tonofilamentos. Los gránulos queratohialinos aumentan - de tamaño por agregación periférica adicional de partículas ribonucleoproteinas (BELL y KELLUM 1967) . A/ medida que los gránulos queratohialinos aumentan de tamaño en su interior se ven cada vez más tonofilamentos - y por extenderse a lo largo de numerosos tonofilamentos los gránulos queratohialinos adoptan un perfil irregular a menudo estrellado. Pueden alcanzar un tamaño de/

1 a 2 milimicras.

Finalmente agrupados, los tonofilamentos, forman en las células córneas, la matriz proteica interfilamentosa electrón-densa de la quematura madura.

Los cuerpos de Oldland, denominados también gránulos de revestimiento de la membrana y queratinosomas- son organoides pequeños, de 100 a 300 milimicras de diámetro que se originan en las células granulosas y tienen alguna función relacionada con la barrera fisiológica al agua. Son redondeados a ovales y poseen una membrana trilaminar y un interior laminado, contienen fosfatasa ácida, como los lisosómas. También contienen fosfolípidos cuya presencia se demuestra por fijación con yoduro de zinc y ósmio (NIEBAUER 1969) y son susceptibles de digestión con fosfolipasa C (HASHIMOTO 1971). - Los cuerpos de Oldland se originan en el área de Golgi, como los lisosomas, y son expulsados hacia el espacio intercelular, donde forman masas laminares densamente - agrupadas, antes de desintegrarse (WOLFF Y HOLUBAR).

Celulas córneas.- Generalmente, la transformación -- de células granulosas en células corneas, es brusca. La fijación con glutaraldehido, como se usa para micros

copía electrónica, al igual que la fijación con tetróxido de ósmio, preserva la estructura interna de las células córneas, en contraste con la fijación con formalina para el microscopio común. En las porciones inferiores de la capa córnea, el citoplasma de las células está -- compuesto de filamentos relativamente electrón transparentes de alrededor de 8 milimicras de espesor inmersos en la sustancia interfilamentosa que tiene el mismo alto grado de densidad electrónica que los gránulos queratohialinos (BRODY 1970).

En las porciones superiores de las capas córneas las células pierden su estructura filamentosa. Junto a la súbita queratinización en la periferia del citoplasma se formà una banda marginal homogénea electrón-densa en intima relación con la membrana plasmática trilaminar. La banda marginal tiene la misma ubicación, espesor y ultraestructura qué las placas de adhesión desmosómicas de la epidermis no queratinizada (BRODY 1969). Mientras que en la capa córnea inferior, la membrana -- plasmática trilaminar se conserva en la porción media,- se hace discontinua y luego se descama, de manera que - la banda marginal sirve como una verdadera membrana celular (HASHIMOTO1969). En la porción superior de la capa córnea, a menudo, también desaparece la banda marginal, simultaneamente con la degeneración y descamación de las células córneas. Al principio, los contactos desmosómicos de la capa córnea se conservan, pero desaparecen antes de la descamación de las células córneas.

Lisosómas en los queratinocitos.- En los queratinocitos se ven pequeñas cantidades de lisosómas prima -/ rios unidos a la membrana y que contienen diversas enzimas hidrolíticas tales como fosfatasa ácida, aril sulfatasa y beta galactosidasa; se encuentran en su mayor -/ parte, pero no exclusivamente, en la capa de células basales y en la capa inferior de células escamosas (WOLFF/ y SCHREINER 1970). Estos lisosómas primarios se ven en / el área de Golgi, donde se originan y en otros lugares, del citoplasma. No obstante en el examen con el micros-/ copio electrónico, dentro de los lisosómas primarios se ve sólo una porción muy pequeña de estas enzimas lisosómicas; la mayoría de las enzimas lisosómicas se encuentran libres en el citoplasma como agregados de forma i-/ rregular, no ligados a la membrana (BRAUM-FALCO Y RUPEC-1967). Como se ha dicho, también se encuentran enzimas/ lisosómicas en los cuerpos de Oldland, no solamente cuando estos están dentro de las células granulosas, sino / también después de su liberación en el espacio intercelular (WOLFF Y SCHREINER 1970).

Además de los lisosómas primarios, en la epider - mis inferior, especialmente en las células basales, se - encuentran lisosómas secundarios denominados también fa golisosómas. Digieren a los melanosómas fagocitados, comunmente como complejos melanosómicos.

En casos de lesiones epidermicas, tales como quemaduras solares ó dermatitis de contacto, en los queratinocitos se observan numerosos fagosomas que contienen organoides celulares; los queratinocitos, como resultado de la acción de las enzimas lisosómicas de los lisosómas primarios, se han transformado en fagolisosómas (WOLFF / y SCHREINER 1970).

2-2-1-2 Células Dendríticas de la Epidermis.- De/ los tres tipos de células dendríticas presentes en la - epidermis, en los cortes histológicos coloreados con hematoxilina-eosina sólo se identifica facilmente uno de - aquellos, el melanocito. El segundo tipo, la célula de - Langerhans, se identifica con certeza solamente con métodos histoquímicos ó por microscopia electrónica. El tercer tipo, la célula dendrítica indeterminada, se identifica sólo mediante el microscopio electrónico.

2-2-1-2-1 Melanocitos.- En los cortes colorea --

dos con hematoxilina-eosina, los melanocitos aparecen - como células claras, con un núcleo pequeño que se colorea de oscuro y, principalmente como resultado de la retracción, un citoplasma claro. Se encuentran entre las- células basales de la epidermis. A pesar de que el número de melanocitos en relación con las células basales - varía con la región del cuerpo y aumenta por la exposición reiterada a la luz ultravioleta, la cantidad promedio de células claras en los cortes verticales coloreados con hematoxilina-eosina, es de una célula por cada- 10 de la capa basal (COCHRAN 1970). No obstante, no todas las células claras que se ven en los cortes de rutina son necesariamente melanocitos, ya que los queratinocitos basales ocasionalmente pueden mostrar el mismo artefacto de contracción haciendose entonces indistinguibles de los melanocitos (CLARK Y COLS 1961). Como regla general, los melanocitos se colorean con la reacción dopa de Bloch porque tienen la capacidad de formar melanina y se tiñen con colorantes de plata porque contienen- melanina. Los procesos dendríticos de los melanocitos - se reconocen con la reacción dopa y generalmente se los ve también en las coloraciones con plata, siempre y cuando tengan una cantidad suficiente de melanina. Desde- los melanocitos, la melanina es transferida, por medio- de los procesos dendríticos, a los queratinocitos basa-

les donde se almacena primero y se degrada después. Co-/ mo regla general, hay mayor cantidad de melanina en los queratinocitos basales que en los melanocitos. Debido a que sólo alrededor del 10% de las células de la capa basal son melanocitos, cada melanocito provee de melanina a varios queratinocitos, formando con ellos una unidad epidermica de melanina (FITZPATRICK Y COLS 1967).

En los individuos con piel de color claro, con la coloración con nitrito de plata se ven gránulos de melanina sólo en la capa basal. En los individuos de piel de color oscuro, especialmente en los negroides, los gránulos de melanina , aunque predominan en la capa basal, / se encuentran en toda la epidermis incluyendo la capa -/ córnea y, en algunos casos, también en la dermis superior, dentro de los macrófagos denominados melanófagos.

Microscopia electrónica de los melanocitos.- Los melanocitos difieren de los queratinocitos por carecer de tonofilamentos y desmosomas. Sin embargo, en su base donde se encuentran en íntima aposición con los melanocitos de la capa basal, muestran estructuras que se asemejan a los hemidesmosomas de los queratinocitos basales (TARNOWSKI 1970). Este estructura consta de una pla-/ ca citoplásmica densa adherida a la hojilla interna/

de la membrana plasmática trilaminar y exceptuando que/ son ligeramente más pequeñas, tienen la misma aparien-- cia que las placas de adhesión de los hemidesmosómas. -- Desde la hojilla interna de la membrana plasmática se ex tienden filamentos de anclaje que se dirigen a la lámina basal. No obstante, no existe placa celular densa sub-ba sal, como en el caso de los queratinocitos basales. Tam- bién existen menos fibrillas de anclaje extendidas entre la lámina basal y la dermis junto a los melanocitos, que junto a los queratinocitos basales. La enzima melanogéni ca, comunmente denominada tirosinasa, pero considerada - una peroxidasa por Okun y sus colaboradores se sintetiza en los ribosomas, como lo establecen la separación ultra centrífuga de partículas celulares, la centrifugación - por gradientes de densidad y el monitoreo por microsco-- pia electrónica (SEIJI Y COLS 1961).

2-2-1-2-2 Células de Langerhans.- Las células de/ Langerhans, el segundo tipo de células dendríticas de la epidermis, se ven en los cortes histológicos coloreados/ con hematoxilina-eosina como "Células claras de alto ni- vel" en la epidermis superior. Aún cuando en los cortes/ teñidos con hematoxilina-eosina se asemejan a las"célu-- las clara de la capa basal".

Reacciones de coloración.- En cortes impregnados con cloruro de oro, colorante específico para las células de Langerhans estas aparecen como células dendríticas (ZELICKSON Y MOTTAZ 1968). Por otra parte, la fijación con yoduro de ósmio y zinc muestra los melanocitos y las células de Langerhans como dendríticas (NIEBAUER Y COLS 1968). Tanto las células de Langerhans como los melanocitos son argirófilos, es decir, impregnables con nitrato de plata , pero, en contraste con los melanocitos, las células de Langerhans no son argentafines y por lo tanto no se tiñen con el colorante de Masson-Fontana.

Para identificar las células de Langerhans y diferenciarlas de los melanocitos pueden usarse varias coloraciones enzimo-histoquímicas; entre estas se encuentran la adenosin-trifosfatasa y la aminopéptidasa(WOLFF Y WINKELMANN 1967). En contraste con los melanocitos, las células de Langerhans son dopa negativas.

Funciones de las células de Langerhans.- Nada determinado se sabe de las funciones de las células de Langerhans. La relación con los melanocitos ampliamente aceptada en una época (MASSON 1948), es negada por la mayoría de los autores actuales (WOLFF , BLEEHEN Y COLS

BREATHNACH Y COLS) , a pesar de que unos pocos autores - aún creen en la existencia de tal relación, posiblemente por vía de una célula indeterminada. Se ha postulado una relación con la queratinización de la mucosa oral, tal - como se la encuentra en el dorso de la lengua y el paladar duro, contiene significativamente más células de Langerhans que la mucosa oral no queratinizada de la mucosa bucal de la cara inferior de la lengua (HUTCHENS Y COLS/ 1971). Por otra parte en las verrugas hiperqueratósicas/ se encuentran menos células de Langerhans que en las paraqueratósicas (FRITSCH 1971).

2-2-1-2-3 Células Indeterminadas.- Las células - dendríticas indeterminadas se identifican sólo por microscopia electrónica y se caracterizan por la ausencia de - melanosómas y de gránulos de Langerhans. Las células indeterminadas generalmente se ubican en los niveles más - inferiores de la epidermis (ZELICKSON Y MOTTAZ 1968).

Se conocen dos hipótesis con respecto a la naturaleza de las células indeterminadas : podrían ser células indiferenciadas , capaces de diferenciarse en células - de Langerhans ó en melamocitos (ZELICKSON Y MOTTAZ --- 1968) , ó podrían ser precursores de los melanocitos, ya

que la histoquímica de microscopia electrónica con dopa/ como sustrato revela la presencia de precursores de melanosómas, con actividad melanogénica, en las células indeterminadas (FITZPATRICK 1968). La observación hecha por/ Konrad y Hönigsmann, de que las células de Langerhans - que sufren mitosis contienen numerosos gránulos de Langerhans habla en contra de la idea de que las células indeterminadas representan células de Langerhans jóvenes - que aún no han formado gránulos.

2-2-1-3 Nervios de la Epidermis.- Las terminaciones nerviosas intraepidermicas están representadas por - los complejos neurita-célula de Merkel. No se sabe con - certeza si en la epidermis humana existen además terminaciones nerviosas libres. Los examenes con el microscopio común no son decisivos porque los métodos de coloración/ utilizados para poner de manifiesto los nervios no son - suficientemente específicos. Así, en los cortes impregnados con nitrato de plata (MANTAGRA Y FORD) ó teñidos con azul de metileno (ARTHUR Y SCHELLEY) no sólo - se colorean los nervios sino también los melanocitos y/ sus dendrítas (FITZPATRICK Y COLS 1961) y en los cortes gruesos coloreados con colinesterasa (MONTAGNA Y COLS - 1969) es imposible decidir si un nervio está ubicado - dentro de una papila ó en la epidermis. De cualquier /

forma, los examenes con microscopio electrónico, hasta-ahora, no han probado en forma concluyente la presencia de terminaciones nerviosas libres en la epidermis humana (ORFANOS Y MAHRLE 1973).

Complejos neurita-célula de Merkel.- En los cortes vistos con el microscopio común, las células de Merkel no se reconocen como tales, a pesar de que en los cortes impregnados con plata, se ve la sección neural meniscoide que cubre la porción basal de cada célula de Merkel, es decir: el disco de Merkel (SMITH 1970). En el disco termina una fibra nerviosa sensitiva.

Las células de Merkel se ubican por debajo de la superficie de la epidermis. Son bastante escasas, distribuidas de modo irregular y ocasionalmente se disponen en grupos (HASHIMOTO 1972). Se supone que la célula de Merkel es un receptor del tacto (KIDD Y COLS -- 1971).

Microscopia electrónica.- En el examen con el microscopio electrónico las células de Merkel por lo común se ubican directamente por encima de la lámina basal. Con el microscopio electrónico se las reconoce facilmente porque poseen gránulos electrón-densos , ban--

das de filamentos y desmosómas ocasionales (KIDD Y COLS 1971). Los gránulos electrón-densos tienen un tamaño - que varía entre 80 y 200 milimicras y están unidos a la/ membrana. Son identicos a los gránulos de la médula adrenal y otras células cromafines que contienen norepinefrina (HASHIMOTO 1972). Los filamentos recuerdan a los tonofilamentos y, en forma semejante a ellos, en algunas -- áreas se ve que convergen hacia los desmosomas. En algunos cortes, el disco de Merkel se encuentra sobre la lámina basal como una "almohadilla", sobre la que descansan las células de Merkel. Consta de una terminación axónica no mielinizada, rica en mitocondrias (HASHIMOTO --- 1972). En otros cortes, la neurita no mielinizada se ubica por debajo de la lámina basal (KIDD Y COLS 1971). En algunas células de Merkel hay complejos melanosómicos . Como las células de merkel emigran con los nervios periféricos durante la vida fetal, son células neuroectodermicas (HASHIMOTO 1972).

2-2-1-4 Anejos de la Epidermis.- El estrato germinativo embrionario se diferencia no sólo en células basales , que dan origen a la queratinización de la epidermis , sino también en yemas epiteliales primarias , - por una parte, denominadas igualmente yemas del pelo ,- que originan el pelo, las glándulas sebáceas y las glán

dulas apocrinas, y por otra, en yemas glandulares ecri - nas, que dan origen a las glándulas ecrinas.

2-2-1-4-1 Glándulas Ecrinas.- Las glándulas ecrinas se encuentran en toda la piel humana, pero faltan en las áreas de piel modificada que carecen de anexos cutáneos, es decir, el borde rojo de los labios, los lechos/ ungueales, los labios menores, el glande del pene y la/ cara interna del prepucio. Son más abundantes en las/ palmas de las manos , plantas de los pies y axilas . - Son glándulas tubulares cuyas células secretorias, bajo estímulos apropiados, especialmente calor, pueden producir grandes cantidades de sudor. Durante el proceso de - secreción, las células secretorias no cambian de tamaño ni de forma. Con la coloración con hematoxilina-eosina , el sudor ecrino no se visualiza en la luz . Schieff Erdecker llamó ecrinas a las células sudoríparas, porque como las glándulas merocrinas, sus células secretorias -- simplemente excretan. Las glándulas ecrinas poseen un -- glomeralo basal y llegan directamente a través de la -- dermis hasta la epidermis. Están compuestas por tres - segmentos : porción secretoria, conducto intradermico y conducto intraepidermico. La porción secretoria constituye aproximadamente la mitad del glomeralo basal; la o-- tra mitad está compuesta por el conducto. El glomeralo

basal se ubica en el borde entre la dermis y el celular subcutáneo ó en el tercio inferior de la dermis. Cuando se ubica en la dermis inferior está rodeada de tejido - graso que se conecta con el celular subcutáneo. La porción secretoria de la glándula ecrina presenta solamente una capa definida compuesta por células secretorias. La razón por la cual hay nada más que una sola capa neta, estriba en el hecho de que únicamente la capa externa de células epiteliales se ha diferenciado en células secretorias ó mioepiteliales entre el 6º y el 8º més de la vida intrauterina. Las células secretorias que tapizan la luz son de dos tipos: células claras y células - oscuras y están presentes en cantidades iguales. Generalmente las células claras son más anchas en la base - que en la luz , son algo más grandes que las oscuras y contienen gránulos pequeños y ténues. Las células oscuras, por su parte, son más anchas cerca de la luz y contienen numerosos gránulos basófilos (MONTAGNA Y COLS -- 1953). Las células claras contienen glucógeno y las oscuras mucopolisacáridos néutros, diastasas resistentes- y P.A.S. positivo. Las células claras secretan grandes- cantidades de material acuoso y glucógeno, mientras -- que las oscuras secretan una sustancia mucoide (O'HARA Y BENSCH 1967). La sudoración prolongada lleva a la depleción de glucógeno de las células claras (DOBSON Y --

COLS 1972). Las células mioepiteliales poseen un núcleo pequeño en forma de espícula y fibrillas contráctiles - largas. Las fibrillas son espiraladas con su eje mayor- alineado en forma oblícua con respecto a la dirección - del túbulo secretor. El pase del sudor a la superficie cutánea se facilita mucho por la contracción mioepite - lial(HURLEY Y WITKOWSKI 1962). Por fuera de las células- mioepiteliales se halla una zona basal hialina, compues ta por fibras colágenas y que contiene fibroblastos cu yos núcleos se asemejan mucho a los de las células mioe piteliales. La transición del epitelio secretor al duc- tal es brusca. El conducto ecrino intradermico se compo ne de dos capas de células epiteliales pequeñas, cuboi- des e intensamente basófilas.

El conducto ecrino intraepidermico.- Se extiende desde la base de una red de crestas hasta la superficie y sigue un trayecto espiralado. Las células que lo com- ponen son distintas a las de la epidermis circundante,- de manera que el conducto ecrino intraepidermico se de- nomina acrosiringio ó unidad ductal sudorípara epidermi ca. El conducto ecrino intraepidermico consta de una ca pa única de células internas ó luminares y varias hile- ras de células externas. las células ductales sufren -- queratinización parcial tal como lo evidencia la presen

cia de gránulos queratohialinos, en un nivel más inferior que las células de la epidermis circundante , y a nivel del estrato de la epidermis circundante están completamente queratinizadas (HASHIMOTO Y COLS 1966). Las glándulas ecrinas sirven fundamentalmente para regular la temperatura.

2-2-1-4-2 Glándulas Apocrinas.- Las glándulas apocrinas difieren de las ecrinas con respecto al origen/ distribución, tamaño y forma de secreción. Mientras que las glándulas ecrinas sirven fundamentalmente para regular la temperatura, las glándulas apocrinas representan glándulas odoríferas. Las glándulas apocrinas, junto - con el pelo y las glándulas sebáceas, se originan del - brote epitelial primario. Por lo tanto, el conducto de/ la glándula apocrina habitualmente termina en un folículo polisebáceo. Ocasionalmente, sin embargo, algún con - ducto excretor se abre directamente a la superficie cutánea, proximo a un folículo polisebáceo.

Las glándulas apocrinas se encuentran solamente/ en unas pocas áreas: en las axilas, en la región anogenital y, como glándulas modificadas, en el conducto auditivo externo, en los parpados (Glándulas de MOLL) y en la mama . Ocasionalmente, se encuentran unas pocas --

glándulas apocrinas en la cara, el cuero cabelludo y el abdomen; generalmente son pequeñas y no funcionantes -- (HURLEY Y SHELLEY 1960). Las glándulas de Montgomery, - presentes en la areola de la mama femenina como peque - ñas elevaciones, son consideradas por muchos autores co mo glándulas apocrinas (ELLIS 1967, BRAUN-FALCO Y RUPEC 1968). No obstante, Montagna y Yun (1972) las conside-- ran glándulas mamarias ya que a menudo funcionan duran- te la lactancia. Las glándulas apocrinas desarrollan su porción secretoria y por lo tanto se hacen funcionantes durante la pubertad (PINKUS 1972).

Las glándulas apocrinas son tubulares y sus cé- lulas secretorias pasan por diversos estadíos. Schieff Erdecker, quien describió por primera vez estas glándu- las en 1917. observó que durante el proceso de secreción -- parte de la célula era prensada y liberada en la luz Llamó a este proceso secreción por decapitación. Eligió el nombre de apocrinas para estas glándulas para indi - car que parte del citoplasma de la célula secretoria re sultaba prensado hacia afuera .

Las glándulas apocrinas como las ecrinas están - formadas por tres segmentos: porción secretoria, conduc to intradermico y conducto intraepidermico. En contras-

te con las glándulas ecrinas, el arrollamiento basal se ubica en el celular subcutáneo y está compuesto totalmente por células secretorias, ya que la capa celular externa consta , como en la glándula ecrina, de células - mioepiteliales . La altura de las células secretorias varía mucho , de acuerdo con el estadío de secreción. No/ obstante , las células secretorias que tapizan la luz de una glandula, siempre muestran el mismo estadío de secreción (HASHIMOTO Y COLS 1966). Los gránulos apocrinos -- frecuentemente contienen hierro (SOLTERMANN 1956). La luz de la porción secretoria de las glándulas apocrinas es grande , siendo el diámetro de más de 200 milimicras/ esto es diez veces el diámetro de la luz de las glándulas ecrinas. Las células mioepiteliales contienen numerosas fibras contractiles que se extienden en forma espirada alrededor de los túbulos secretorios (PINKUS -- 1972). Por fuera del mioepitelio se vé una membrana basal hialina que contiene fibroblastos dispersos.

2-2-1-4-3 Glándulas Sebáceas.- Las glándulas sebáceas se encuentran distribuidas por toda la piel, excepto en las palmas de las manos y las plantas de los -- piés . En la piel se asocian a las estructuras pilosas . Además; en ciertas áreas de piel modificada, tales como la aréola de la mama femenina, los labios menores y la/

cara interna del prepucio pueden encontrarse glándulas-sebáceas no asociadas a estructuras pilosas. Sin embargo, en el glande del pene no hay glándulas sebáceas (HYMAN Y BROWNSTEIN 1969). Una glándula sebácea puede constar de un sólo lóbulo, pero a menudo tiene varios lóbulos, que terminan en un conducto excretor común, compuesto por epitelio escamoso estratificado. Las glándulas sebáceas, por ser holocrinas, forman su secreción por descomposición de sus células. En las glándulas sebáceas de la piel, el folículo polisebáceo en que desemboca el conducto sebáceo, puede tener un pelo largo ó un vello demasiado pequeño como para alcanzar la superficie cutánea. No hay relación entre el tamaño de la glándula sebácea y el del pelo asociado. Por ejemplo, en el centro de la cara y en la frente, donde las glándulas sebáceas son muy grandes, los pelos asociados son de tipo vello.

Cada lóbulo sebáceo posee una capa periférica de células cuboides intensamente basófilas, que habitualmente no contienen gotitas lipídicas. Las células ubicadas en posición más central, cuando se usan colorantes para lípidos en cortes congelados ó fijados con formalina, contienen gotitas lipídicas; pero en los cortes de rutina en los que se extraen los lípidos, el citoplas-

ma de estas células aparece como una trama delicada. El núcleo ocupa una posición central. En la porción del lóbulo situada más cerca del conducto, las células se desintegran.

2-2-2 Dermis.- Es una de las capas constituyentes de la piel situada inmediatamente por debajo de la epidermis. Es 200 veces más grande que la epidermis, está constituida por tres tipos de elementos:

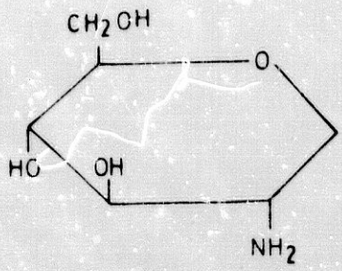
a) Sustancia fundamental.

b) Fibras: colágenas, reticulares y elasticas.

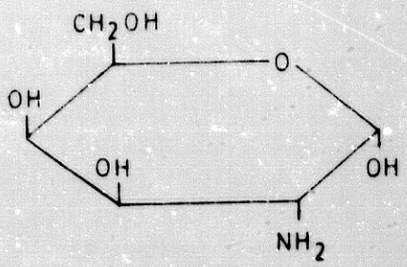
c) Células: fibroblastos y miofibroblastos, existen otro tipo de células pero debido a nuestro estúdio sólo/ vamos a mencionar estas, ya que desempeñan un papel fundamental en la cicatrización de las heridas, que es el motivo de nuestro estúdio.

2-2-2-1 Sustancia Fundamental.- La sustancia fundamental, un material amorfo que rellena los espacios entre las fibras colágenas y los haces colágenos, está presente en la piel normal en cantidades tan pequeñas que habitualmente , no se puede poner de manifiesto mediante

(1)

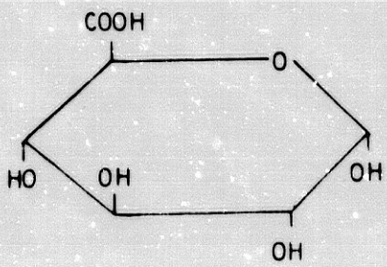


D-GLUCOSAMINA

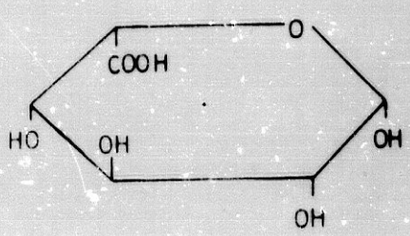


D-GALACTOSAMINA

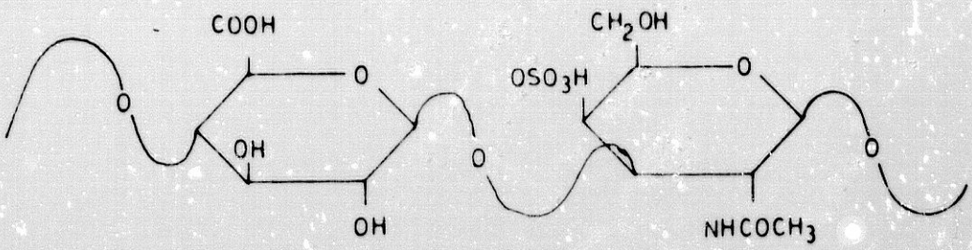
(2)



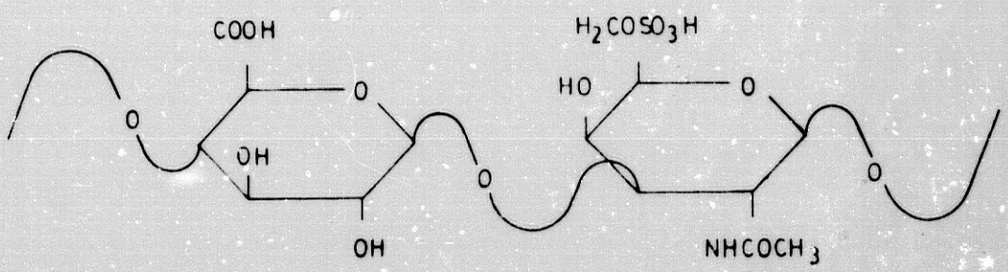
AC D-GLUCURÓNICO



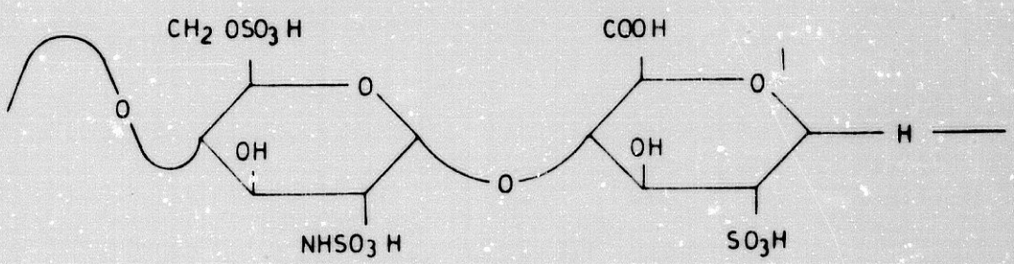
AC D-IDURÓNICO



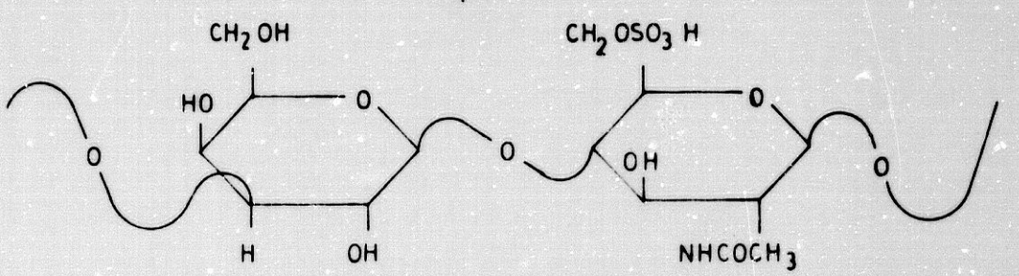
Dermatosulfato



Condroitin-6-sulfato = Condroitin sulfato C

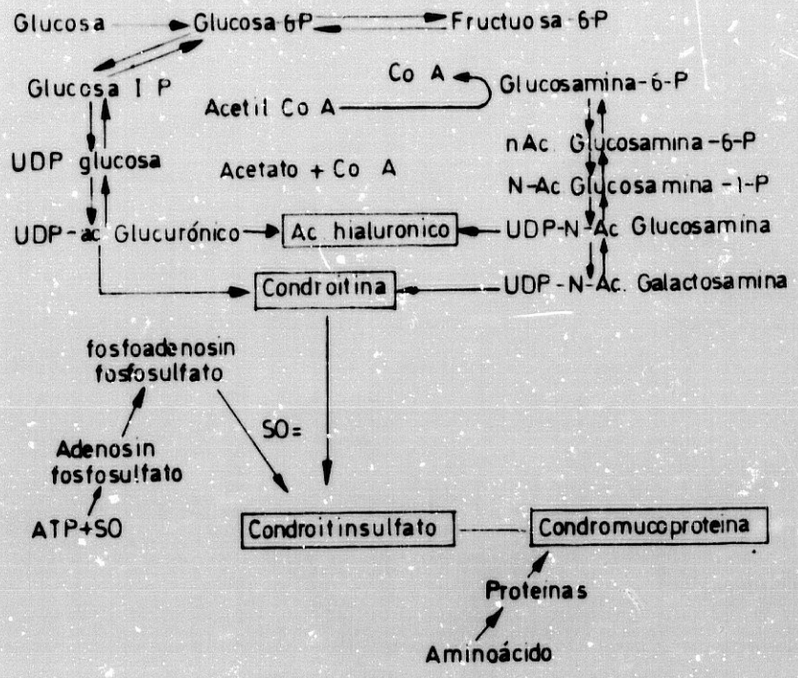


Heparina



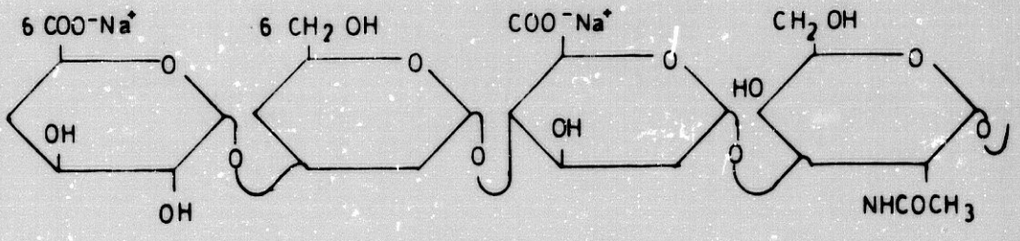
Keratosulfato

ESQUEMA DE LA BIOSINTESIS DE LOS GLICOSAMINOGLUCORONGLICANOS

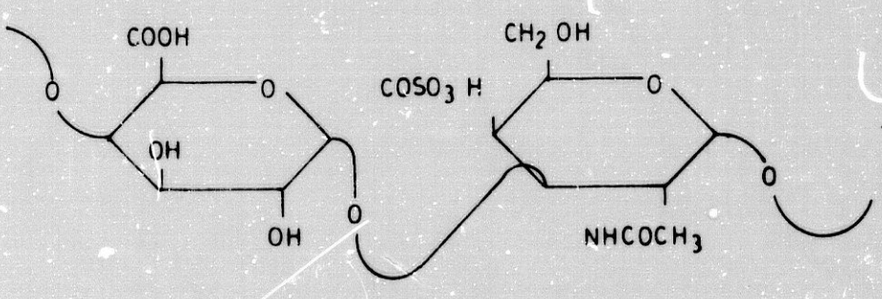


Biosintesis de los glicosaminoglucoronglicanos

La estructura quimica de los principales glucosaminoglucoronglicanos seria



Hialuronirato sódico



Condroitin-4 sulfato=Condroitin sulfato A

métcdos de coloración de rutina ó especiales, excepto en la papila pilosa del pelo anagen, que contiene mucopolisacáridos , ácidos sulfatados y no sulfatados. Sólo rara vez se ponen de manifiesto pequeñas cantidades de mucopolisacáridos ácidos no sulfatados en las papilas subepidermicas, alrededor de los anexos epidermicos y alrededor de los capilares (MONTAGNA 1962). Además, a través / del estúdio de tejidos con crecimiento activo de los fibroblastos, tal como se ve en la dermis papilar del dermatofibroma y en el tejido conectivo que rodea a los islotes tumorales de epitelioma de células basales, se sabe que la sustancia fundamental de la dermis consiste mayormente en mucopolisacáridos ácidos no sulfatados, tales como el ácido hialurónico (JOHNSON Y HELWIG 1963). - En las heridas en curación no obstante, en las que se deposita colágeno nuevo, la sustancia fundamental contiene, además de mucopolisacáridos ácidos no sulfatados y mucopolisacáridos néutros (JACQUES y CAMERON 1969). Los mucopolisacáridos ácidos no sulfatados, están compuestos fundamentalmente de ácido hialurónico, y se colorean con -- azul alcian a Ph 2,5 pero no a Ph 0,5 y muestran metacromasia con azul de toluidina a Ph 3,0 pero no a Ph 1,5.

Los mucopolisacáridos ácidos sulfatados consisten principalmente en condroitin sulfato y se colorean con

azul alcian solamente a Ph 0,5 y muestran metacromasia con azul de toluidina también a Ph 1,5. Tanto los - mucopolisacáridos ácidos sulfatados como los no sulfatados se tiñen con hierro coloidal y son extraibles con -- hialuronidasa testicular.

Los mucopolisacáridos néutros muestran una reac-- ción P.A.S. positiva que también es diastasa resistente. Los mucopolisacáridos ácidos y neutros se unen en forma/ covalente a cadenas péptidicas para formar complejos de/ alto peso molecular. Estos complejos proteina-polisacárido se denominan prcteoglucanos.

2-2-2-2 Tejido Conectivo de la Dermis.- El tejido conectivo de la dermis consta de fibras colágenas y - elasticas sumergidas en sustancia fundamental. Los tres componentes son producidos por los fibroblastos y miofibroblastos. Las fibras reticulares por ser simplemente/ fibras colágenas delgadas, no constituyen una entidad separada.

Fibras colágenas.- Reciben la denominación de fibras colágenas porque después de la cocción se transforman en gelatina ó cola. Suelen disponerse en forma de/

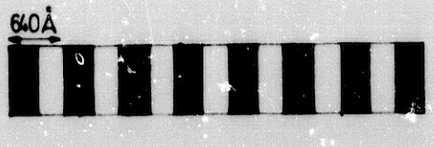
haces paralelos que se distribuyen en espiral ó se entrecruzan, siendo lo más frecuente que el diámetro mayor de las mallas de la red se orienten según las líneas de tracción. Las fibras colágenas poseen una notable resistencia a la tracción (soportan hasta 6 kgr. por mm^2 de sección transversal), pero aún las tracciones maximas no consiguen más de un 5 por 100 de alargamiento. De forma general, están sometidas a una tensión caracteristica que tiende a mantenerse constante tras haber cesado las fuerzas que las acortan ó alargan. Estas propiedades dependen de un partícular sistema de uniones ó enlaces intermoleculares que se establece en el espacio extracelular; no obstante, el tipo y porción de estas uniones varía según el tejido, lo que hace pensar en la existencia de una relación entre la naturaleza de las interacciones y uniones intermoleculares con la función del tejido (BAILEY 1975). En concreto las fibras colágenas, por su especial resistencia, suelen encontrarse, sobre todo, en los tejidos de sostén que tienen que soportar tracciones más o menos contínua, como el tejido conjuntivo denso, tendones, cartílago, hueso, dentina...

Con microscopia óptica las fibras colágenas aparecen como fascículos de trayecto rectilíneo ó tortuoso y de variable grosor, habiendose distinguido dos orde--

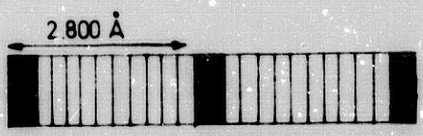
nes de elementos: fibra colágena (de 1 a 20 micras de diámetro y fibrilla colágena (de 0,2 a 0,5 micras de diámetro) estando la primera constituida por multiples fibrillas. Por otra parte, las fibras colágenas se agrupan en haces más o menos voluminosos manteniendose unidas mediante una sustamcia cementante del tipo de las mucinas, responsable de la apetencia por ciertas impregnaciones argénticas, y que se disuelve con relativa facilidad en ácido pícrico y agua de calcio, por lo que estos materiales son idóneos para aislar las fibras colágenas. No hay ningún método histoquímico específico para detectar las fibras colágenas, que, por otra parte se colorean de rosa con la eosina, amarillo con la sufranina, verde con el tricrómico de Masson y azul con el de Mallòry.

La microscopia electrónica pone en evidencia la existencia de múltiples subunidades fibrilares y filamentosas (de 200 a 1000 Å y de longitud intermedia), dispuesta paralelamente (hecho responsable de la birrefringencia) y distribuidas como elementos independientes (no se anastomasan). Lo más llamativo en la ultraestructura de las fibras colágenas es la existencia, en todo su trayecto de una estriación transversal axial característica (Esquema en página adjunta): esta consiste

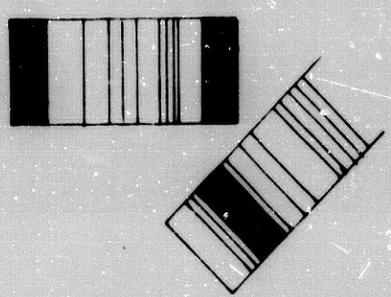
CARACTERICTICAS ESTRUCTURALES DE LAS FIBRAS COLAGENAS



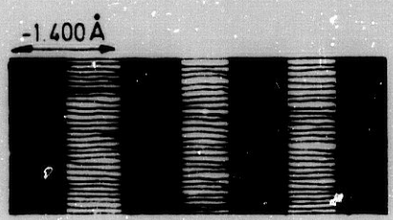
FIBRAS COLAGENAS COMUNES
(640 Å de (periodicidad)



FIBRAS COLAGENAS DE ESPACIO LARGO (2.800 Å de periocidad)



COLAGENA CON SEGMENTO DE LARGO ESPACIO
(Periocidad variable)



CUERPOS DE LUSE
(1.400 Å de periodicidad)

en la aparición de bandas claras y densas, dispuestas alternativamente, con una periodicidad de 640 a 700 Å según que las fibras estén ó no desecadas, respectivamente . Cada período está formado por dos bandas sucesivas: una clara y otra oscura; esta última sería el resultado de una mayor fijación de la sustancia de contraste debido, para algunos, a una proporción de radicales químicos libres más elevada a este nivel. Sin embargo, la periodicidad varía según el momento del desarrollo (en algunos tejidos embrionarios de vertebrados tienen 200 Å de periodicidad), la especie animal (la lombriz de tierra carece de periodicidad), la tecnica de fijación empleada e incluso, con elevada resolución e impregnación con ácido fosfotúngstico, se han descrito hasta 13 subbandas por periodo (MILLER 1972), siendo especialmente abundante en el disco oscuro, designandoselas con las letras del alfabeto; una de las más gruesas es la D. de forma general, con el estiramiento se acortan las bandas oscuras y se alargan y adelgazan las claras.

Además de las fibras colágenas comunes descritas se han observado "fibras colágenas con periodicidad de espacio largo" en multiples tejidos normales y, sobre todo, en numerosos procesos patológicos (tumorales y no

tumorales).

Fibras reticulares.- Las fibras de reticulina aparecen sobre todo en los puntos donde el tejido conjuntivo forma el armazón de "células delicadas ó labiles"- y que a la vez precisan de cierta elasticidad (capilares, sinusoides, glándulas, vías urinarias,..)también- constituyen parte importante de dos variantes del tejido conjuntivo tales como el reticular (estroma de órganos linfoides) y adiposo; con frecuencia asientan en -- las áreas vecinas a epitelios, fibras musculares lisas, células de Schwann (endoneuro), endotelios capilares .. donde se insertan en las membranas basales y, finalmente, delimitan células en necrobiosis ó degeneradas.

De forma general las fibras reticulares son más- flexibles pero menos resistentes a la tracción que las- fibras colágenas, son digeridas por la pepsina (no por- la tripsina) y suelen resistir la necrosis tisular más- que las fibras colágenas. Con la microscopia óptica, -- las fibras de reticulina no se observan en las preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina, poniendose especialmente de manifiesto con las tecnicas de impregnación -- argentica que las colorea de negro (las fibras colágenas de castaño). Por lo que se las ha denominado tam-

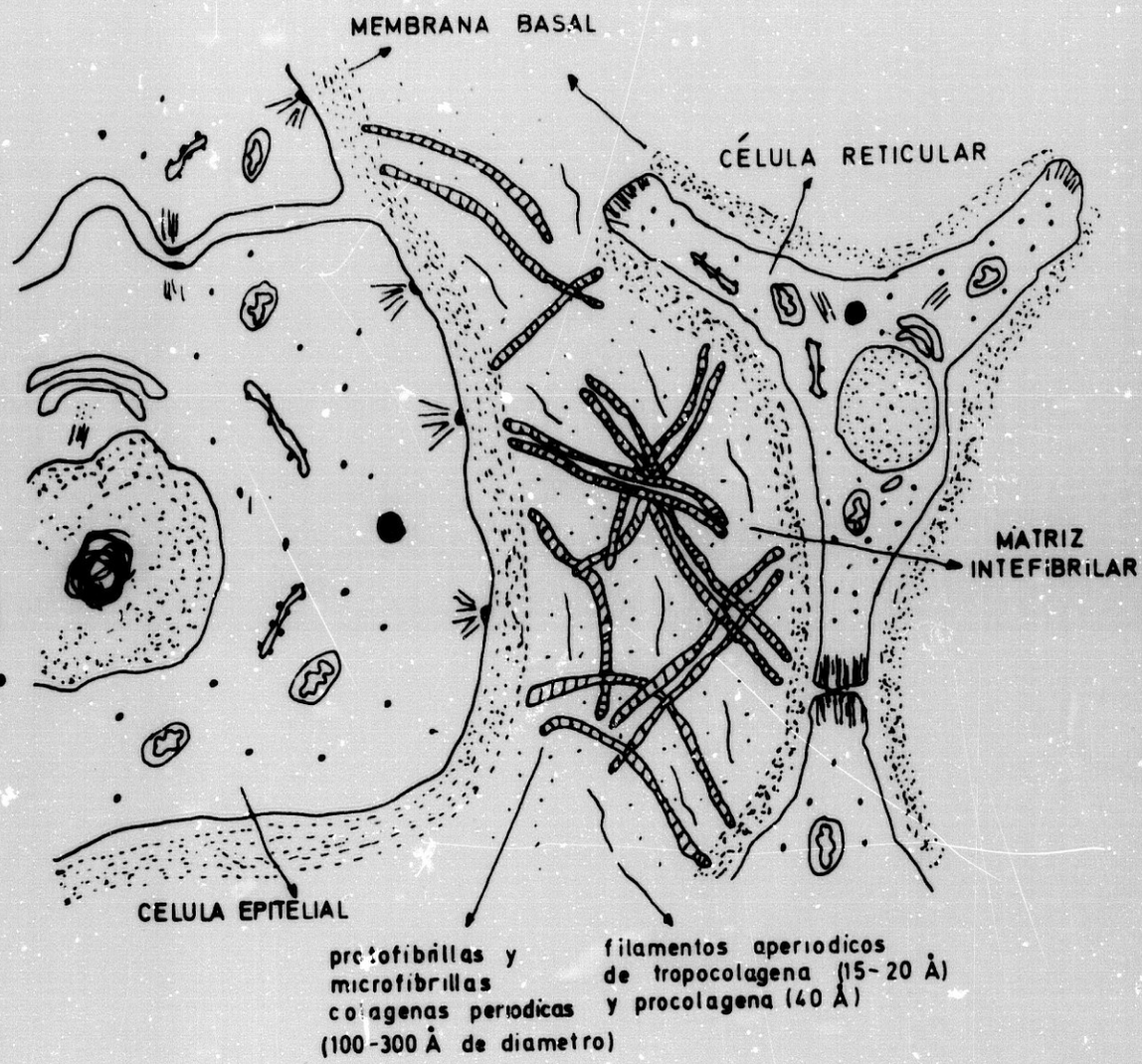
bién "fibras argirófilas". Son intensamente P.A.S. positivas, basófilas y tienen capacidad metacromática. - Tanto la argentofilia como la P.A.S. positiva y metacromasia parece ser que son debidas a los mucopolisacáridos interfibrilares, de tal modo que estúdios ultraestructurales han permitido evidenciar que las sales de - plata aparecían depositadas en el cemento interfibrilar

Las fibras reticulares se encuéntran con frecuencia en la vecindad de fibras colágenas, pero dispuestas en red de brazos aparentemente anastomosados y no entrecruzados como en aquellas. Las mallas de esta red están completas de sustancia fundamental amorfa.

Con la microscopia electrónica (esquema en pagina adjunta) las fibras de reticulina muestran caracte - rísticas identicas a las microfibrillas colágena, teniendo un grosor de 200 a 600 Å cada fibra aparece constituida por multiples filamentos aperiódicos de 70 Å de - diámetro.

El segundo componente está representado por la - sustancia fundamental interfibrilar que a diferencia de la de las colágenas es más abundante y está formada especialmente por glucidos y lípidos.

CARACTERICTICAS ESTRUCTURALES Y ORGANIZACION DE LAS FIBRAS DE RETICULINA.



Las fibras reticulares representan a fibras de-colágena delgadas, que miden de 0,2 a 0,1 milimicras de diámetro, en vez de 2 a 15 milimicras que es el diáme-- tro de las fibras colágenas (Schmidt 1968).

Fibras elasticas.- En los cortes de microscopia-óptica coloreados en forma rutinaria las fibras elasti-cas no se ven. Con coloraciones especiales para tejido-elastico, como la orceina ó la resorcina-fucssina, se - las encuentra entremezcladas con los haces colágenos.

Como las fibras elasticas son bastante delgadas-en relación con los haces colágenos midiendo de 1 a 3 - micras de diámetro, y son onduladas, en los cortes his-tológicos sólo se ve una porción de cada fibra, dando aún a las fibras elasticas normales, una apariencia -- fragmentada. Las fibras elasticas son más gruesas en la porción inferior de la dermis, donde se disponen, como-los haces de la colágena, en forma paralela a la super-ficie de la piel.

No obstante, en las papilas subepidermicas, las fibras elasticas delgadas ascienden casi verticalmente hacia la epidermis y terminan libremente por debajo - del borde dermoepidermico (PINKUS 1970).

La microscopia electrónica de las fibras elasticas.- Las fibras elasticas se forman mucho más tarde -- que que las colágenas durante la restauración de las heridas cutáneas. Cuando comienzan a formarse, se les ve muy proximas a los fibroblastos (WILLIAN 1970). Con el microscopio electrónico se ve que las fibras elasticas constan de dos componentes: la sustancia amorfa, y filamentos. La sustancia amorfa, la elastina es elec -- trón densa. Inmerso en ella se encuentran filamentos - electrón densos de 5 a 15 micras de diámetro . Han recibido diferentes nombres, tales como protofilamentos (- HASHIMOTO Y DIBELLA 1967), fibrillas elasticas (KOBAYASI 1968) y microfibrillas (BREATHNACH 1971).

Las fibras elasticas son poco importantes en la- cicatrización de las heridas porque no se regeneran.

Composición química de la colágena.- Vamos a hacer un estúdio más detallado de este tipo de fibras -- por ser fundamentales en la cicatrización de las heri - das.

La colágena es la proteina más abundante del organismo humano, representando cerca del 30 por 100 de - la totalidad de las proteinas, y tiene una particular -

composición de aminoácidos, entre los que destacan: Glicina (30 por 100), prolina (10 al 20 por 100), hidroxiprolina (1 al 5 por 1000) y, en muy escasa proporción,- aminoácidos sulfurados (carece de cisteina). De todos - los aminoácidos señalados hay que destacar de forma especial la hidroxiprolina e hidroxilisina, puesto que la colágena es la única proteina del organismo que los contiene en cantidad apreciable; en consecuencia la dosificación, especialmente de hidroxiprolina, permite determinar la cantidad global de colágena en un tejido e incluso, su medición en orina, es útil para investigar el turnover (recambio) de la colágena.

La proteina colágena es digerida por las soluciones ácidas de pepsina y tripsina y el enzima colagenasa

Configuración molecular de la colágena.- La macromolécula proteica que puede considerarse como unidad elemental básica de la colágena es la "tropocolágena". Esta molécula aparece, ultraestructuralmente, como un - fino filamento denso, de 2.800-3.000 Å de longitud por 15 a 20 Å de grosor; tiene un peso molecular de 300.000 daltons, aproximadamente, y está constituida por tres - polipéptidos (cadenas alfa), asociados paralelamente y- de forma típica en triple hélice (GALLOP Y PAZ 1975) --

(KUHN Y FIETZEK 1975). (Tengase en cuenta que algunos autores utilizan indistintamente los términos de tropocolágena y colágena, pudiendo incluso con el primero referirse tanto a cada una de las cadenas-alfa como al conjunto trihelicoidal de las mismas).

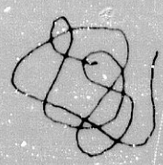
Estudios con difracción de rayos X han permitido calcular la distancia entre las cadenas alfa (4,4 a 11,5 Å) y comprobar como incluso se pueden obtener artificialmente estructuras análogas.

Desde el punto de vista de su textura molecular, en la tropocolágena se distinguen tres porciones: una helicoidal, media y grande, y dos helicoidales, pequeñas y ubicadas en los extremos. Cada cadena polipéptida -alfa está formada por cerca de 1.000 aminoácidos, tiene un peso molecular de 95.000 a 100.000 daltons, muestra una neta polaridad asimétrica , que se manifiesta por las distintas propiedades químicas de los terminales C y N de su molécula (esquema en página adjunta) y, como es lógico presenta también una porción helicoidal-media y dos no helicoidales en los extremos.

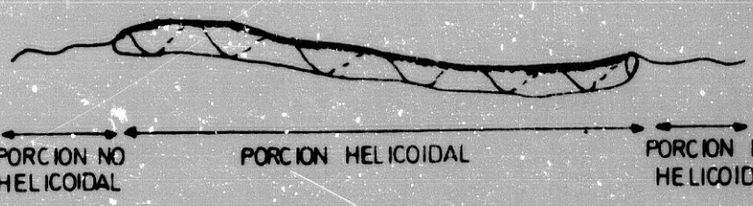
La "porción helicoidal" está constituida por una secuencia de aminoácidos aún no perfectamente estableci

ORGANIZACION MOLECULAR DE LA FIBRA COLAGENA

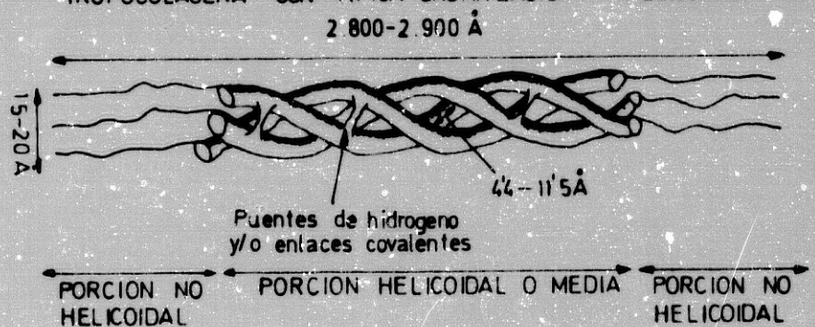
CADENA POLIPEPTIDICA ALFA DE LA COLAGENA DESNATURALIZADA O NATIVA



CADENA POLIPEPTIDICA ALFA DE LA COLAGENA ENROLLADA EN DISPOSICION α-HELICOIDAL



TROPOCOLAGENA CON TIPICA ORGANIZACION TRIHELICOIDAL



dos (HANNIG Y NORDWIG 1967), en la que destacan la glicina (30 por 100 aproximadamente), prolina (10 por 100) e hidroxiprolina (10 por 100). Pero estos aminoácidos no se disponen al azar, sino que podría considerarse a esta porción helicoidal formada por la sucesión de "unidades elementales" que se repiten, estando cada una de ellas constituida por un tripéptido. En este último uno de los aminoácidos es la glicina (DONOFF T McLENNAN -- 1971) y el conjunto de la porción helicoidal de la cadena -alfa podría representarse, de forma abreviada, por-(-X-Y-Gli-)n.

La glicina de la porción helicoidal (DONOFF Y -- McLENNAN 1971) se repite en cada tripéptido elemental y por carecer de cadena lateral facilita la agregación trihelicoidal de las cadenas-alfa que forman la tropocolágena, de tal modo que en esta última la glicina queda situada axialmente en la molécula (TRAUB Y PIEZ 1975),- mientras que la prolina e hidroxiprolina lo hacen hacia fuera.

La hidroxiprolina no es un aminoácido habitual en el organismo, dado que se encuentra sólo en porción apreciable en la colágena y en pequeña cantidad en la elastina (GRANT ,STEVEN , JACKSON Y SANDBERG 1971) ----

(SANDBERG , WISSMAN Y SMITH 1969) y el componente de la primera fracción del complemento (C1q) (CALCOTT Y MULLER 1972) (REID 1974) (YONEMASU y colabs. 1971). Se ubica predominantemente en la porción helicoidal de las cadenas-alfa y puede aparecer en dos formas: 4-hidroxiprolina y 3-hidroxiprolina. La primera suele ocupar la posición Y del tripéptido elemental (-X-4HPro-Gli-); por el contrario, la 3-hidroxiprolina suele situarse en el lugar X del tripéptido (-3HPro-Y-Gli-) y además es mucho menos frecuente, encontrarse encantidad apreciable practicamente sólo en la colágena tipo IV (KHALIFA y colab. 1975).

La 4-hidroxiprolina confiere, por su estructura molecular, estabilidad a la agregación trihelicoidal típica de la tropocolágena (RAMACHANDRAN y colabs. 1973)-(RAMACHANDRAN y colabs. 1975), de modo que la colágena no hidroxilada es muy inestable desde el punto de vista molecular. El papel biológico de la 3-hidroxiprolina continúa siendo desconocido.

En la "porción no helicoidal" de las cadenas alfa hay mayor candidad de hidroxilisina que en el resto de lamolécula. Tampoco es este un aminoácido usual en el organismo, dado que sólo se encuentra en porción a--

preciable a nivel de la colágena y en menor grado en el CIq (CALCOTT Y MULLER 1972) (REID 1974) (YONEMASU y colaboradores 1971). El papel biológico de la hidroxilisina es doble: por una parte, interviene en el establecimiento y mantenimiento de la configuración trihelicoidal de la tropocolágena, en base a los enlaces que se forman en su cadena lateral (BAILEY y colabs. 1974) (GALLOP y colabs. 1972) (TANZER 1973), y , por otra parte, repr-senta el punto predilecto para la adherencia de los hidratos de carbono (Galactosa y glucosil-galactosa) de la tropocolágena, a nivel de su radical hidroxilo (-OH) (BUTLER y colab. 1966) (SPIRO 1969); estos elementos probablemente juegan importante papel en la regulación de la polimerización de la tropocolágena.

En definitiva, teniendo en cuenta la diferente composición y organización molecular de las unidades de tropocolágena, se puede deducir que su polimerización en el espacio extracelular es responsable de los distintos tipos ultraestructurales de fibras colágenas y, además, explica su disposición en los diversos órdenes enumerados previamente.

Tipos de colágena.- Hay que tener presente que la composición, organización molecular, y aspecto de la

tropocolágena es muy variable debido a : a) la existencia de cinco variantes de cadenas polipéptidicas-alfa - que son las alfa$_1$ tipos I, II, III, IV, y la alfa$_2$, y b) las distintas combinaciones en triple hélice de las- diferentes cadenas.

En efecto, a nivel de los diversos órganos y tejidos, se han podido identificar hasta la actualidad - cinco variantes bioquímico-moleculares de tropocolágena (tipos I, II, III, IV, y V) , las cuales, en base a sus particulares características y distribución por el organismo, pueden ser interpretadas como manifestación de - una adaptación ó diferenciación funcional precisa.

En general, las distintas moléculas de tropocolágena se distinguen entre sí por: la proporción relativa de aminoácidos, en indice de hidroxilación (especialmente de prolina y lisina), el grado de glicosilación y la estabilidad de las uniones intercatenarias, todo lo- cual condiciona sus diferentes propiedades biológicas.

Conviene tener presente también que los distin-- tos tipos de tropocolágena son lo suficientemente diferentes en su estructura que tienen especificidad de anticuerpo (TIMPL 1976) estando el determinante antigéni-

co a nivel de la porción N-terminal de la molécula. Esta propiedad ha sido aplicada para el estúdio de la distribución de los distintos tipos de colágena en los órganos y tejidos; para ello se usaron tecnicas de inmunofluorescencia que utilizan anticuerpos anti-colágena -- marcados con fluoresceina (BECKET y colabs. 1976) (-- TIMPL y colabs. 1973). Con estos procedimientos se ha comprobado, por ejemplo, que en el hígado normal (GAY Y colabs. 1975)(NOWACK y colabs. 1976), la colágena tipo-1 predomina en el espacio periportal, mientras que la - tipo III lo hace en la red de reticulina tanto periportal como intralobulillar.

La colágena tipo I (esquema en página adjunta) - tiene como unidad molecular básica la tropocolágena tipo 1, la cual, a su vez está formada por la agregación-tribelicoidal de dos cadenas polipeptídicas alfa$_1$ tipo I y una alfa$_2$ (CLICK y colab. 1970) (EPSTEIN y colabs. 1971). En las cadenas polipeptídicas alfa$_1$ y alfa$_2$ destaca la ausencia de cisteina (CLICK y colab. 1970) (EPSTEIN y colabs. 1971)y la presencia de hidratos de carbono (1 por 100) (PINNELL 1978). Con respecto a la distribución tisular predominante de la colágena tipo I, - hay que señalar que representa la mayor parte de la colágena del tejido conjuntivo vascular del organismo --

(dermis, estroma pulmonar y hepático. cornea, válvulas cardíacas etc.) así como de las fascias, ligamentos, - tendones, tejido óseo y dentina.

En la colágena tipo II (esquema en página adjunta) la unidad molecular básica es la tropocolágena tipo II, la cual está formada por tres cadenas polipeptídicas alfa$_1$ tipo II (MILLER 1972) (MILLER y colab. 1973) En la composición química de estas cadenas alfa$_1$ tipo II destaca la proporción relativamente elevada de hidroxilisina y carbohidratos (en su mayoría ligados a aquella). Se localiza predominantemente a nivel del tejido cartilaginoso, núcleo pulposo del disco intervertebral y notocorda.

La colágena tipo III (esquema en página adjunta) tiene como unidad molecular elemental a la tropocolágena tipo III, que está constituida, a su vez, por tres - cadenas polipeptídicas alfa$_1$ tipo III (CHUNG y colabs. 1974) (EPSTEIN 1974) en las cuales destaca la relativa-abundancia de glicina y 4-hidroxilisina (CHUNG y colab. 1974), la existencia de cisteina, suele colocarse en el C-terminal de la molécula (por ello se establecen enlaces disulfuro intercatenario-intramoleculares -77-), y una proporción de carbohidratos que alcanza el 1 por -

100 aproximadamente). La colágena tipo III tiene predilección, en condiciones normales, por los tejidos fetales (EPSTEIN 1974), dermis joven, estroma cardiovascular y de ciertos órganos (pulmón, intestino delgado, hígado etc.); en condiciones patológicas se ha encontrado, entre otros, en el estroma de algunos tumores (ejm. leiomioma uterino). Tiene como propiedad particular el que es muy insoluble, habiéndose aislado únicamente después de tratamiento con pépsina (CHUNG y colabs. 1974. CHUNG y colabs. 1975. CHUNG y colab. 1974.) (EPSTEIN - 1974).

En la molécula tipo IV (esquema en página adjunta) la unidad molecular básica es la tropocolágena tipo IV, constituida por la asociación de tres cadenas polipeptídicas alfa$_1$ tipo IV (KEFALIDES 1971); estas cadenas son más grandes que las restantes mencionadas con anterioridad (alcanzan un peso molecular de 140.000 daltons aproximadamente)y suele asociarse mediante enlaces disulfuro intercatenarios. En su composición química -- destaca la relativa elevada proporción de 3-hidroxiprolina, cistéina (responsable principal de los enlaces disulfuro intercatenarios), hidroxilisina y carbohidratos (en su mayoría unidos a la hidroxilisina). La colágena-tipo IV tiene especial predilección por las membranas -

TIPOS DE COLAGENA

	Unidad molecular básica tropocolágena	Cadenas -α de cada tropocolágena	Proporción relativa de aminoácidos de las cadenas -α* Gli	Pro	Li	Cisteina	4-H Pro	3-H Pro	H Li	Proporción relativa de H.C	Distribución tisular predominante
Colágena Tipo I	Tipo I	2(α tipo I)	346	129	30	0	93	0'8	4'9	1% aprox	Dentina Dermis, Estroma pulmonar y Hepático corna valvulas cardiacas, Pascas, Ligamentos tendones, hueso
		1α$_2$	347				83	0'8	9,2		
Colagena Tipo II	Tipo II	3(α, tipo II)	326	108	13	0	97	2	14	> 1%	Cartilago, nucleo pulposo del disco intervertebral, notocorda
Colágena Tipo III	Tipo III	3(α, tipo III)	354	109	35	2	124	0	5	1% aprox	Tejidos fetales, dermis joven, estroma cardiovascular y de ciertos organos (pulmon, intestino delgado, higado)
Colágena Tipo IV	Tipo IV	3(α tipo IV)	310	60	5	8	130	11	45	> 1%	membranas basales
Colágena Tipo V	Tipo V	—	—	—	—	—	—	—	—	——	Placenta, tejido muscular liso,

* Los valores para la proporcion de aminoacidos fueron medidos en dermis humana para las Colagenas Tipo I (82,127) y Tipo III (126,77), cartilago articular humano para la Colagena Tipo II (240) y membrana basal glomerular humana para la Tipo IV (240), menos para la prolina y lisina que son de piel de rata para las Colagenas Tipo I y III (64), cartilago de pollo para la Tipo II (312) y membrana glomerular del perro (239,244), para las Tipo IV

basales (KEFALIDES 1971), habiendose aislado de estas- mediante digestión pépsica (DANIELSEN y colab. 1972) -- (KEFALIDES 1971) e incluso demostrado a este nivel median --te inmunohistoquimia ultraestructural (utilizando anticuerpos anti-colágena tipo IV marcados con peroxidasa (YAOITA y colabs. 1978). Es sintetizada por células epiteliales y/o endoteliales (KEFALIDES 1973, 1975).

La colágena tipo V (esquema en página adjunta) - descrita recientemente (BURGESON y colabs. 1976) (KLEINMAN y colabs. 1978), se localiza en la placenta y tejido muscular liso, pero se desconoce aún su exacta composición y distribución (KLEINMAN y colabs. 1978).

Ciclo biológico de la colágena.- La colágena tiene un ciclo biológico variable según la localización - topográfica, tipo y, probablemente momento funcional. - En síntesis y de forma sécuencial, la colágena es: a) elaborada por células , tales como fibroblastos, miofi-- broblastos (GABBIANI y colabs. 1971, 1972 . GOKEL Y colab. 1977. LINARES DIAZ-FLORES y colabs. 1978, MAGNO y- colabs. 1971. MUSSINI y colabs. 1977. RYAN y colabs. -- 1974. SANCHEZ, DIAZ-FLORES 1978. VARELA - DIAZ-FLORES y colabs.1978), osteoblastos, condroblastos y condrocitos (DESHMUKH y colabs. 1973. LAYMAN y colabods. 1972. LE

VITT Y colabs. 1973. MAYNE y colabs. 1975), odontoblastos (WEINSTOCK y colabs. 1974), células endoteliales -- (KEFALIDES 1971. 1973), Células musculares lisas, células de Schwann (CHURCH y colabs. 1973) y algunas células epiteliales (ejem. epitelio corneal); b)liberada al espacio extracelular, donde ejerce su principal función c) degradada sobretodo por enzimas vertidos al espacio extracelular (colagenasas y proteasas tisulares). En base a esto último es facíl deducir la necesidad de una - renovación constante de la colágena, mediante nueva síntesis que equilibre su desgaste , con la finalidad de - mantener constante la textura de los distintos tejidos y facilitar fenómenos reactivos y/o de adaptación, tanto normales como patológicos (ejm. remodelación ósea ,- cicatrización y curación de las heridas etc.)

A continuación se presentará , de forma esquemática, la colagenogénesis, en sus etapas intra y extracelular, y la degradación de la colágena.

Colagenogénesis.- Sobre la dinámica biológica de la síntesis de la colágena, en la actualidad, practicamente, sólo se dispone de información con respecto a la colágena tipo I . De forma esquemática, en la colagenogénesis se van a distinguir varias etapas: a) intracelu

lares, tales son incorporación de materias primas, --- transcipción genética, traducción del mensaje genético- ó biosíntesis de cadenas polipeptídicas , hidroxilación arrollamiento en alfa- hélice de las cadenas polipeptídicas, glicosilación, agregación tribelicoidal, vehiculación al aparato de Golgi y liberación al espacio in-- tersticial. y b) extracelulares, que incluyen la escisión -- proteolítica de la precolágena y la polimerización - de la tropocolágena (esquema en página adjunta).

En la etapa intracelular se consigue la formación de precolágena soluble (pre-tropocolágena) que posteriormente es liberada al intersticio, hecho comprobado in - vitro, en cultivo de tejidos, utilizando prolina marcada con C^{14} (SMITH y colab. 1965), la cual es incorporada ,- procesada y secretada por el fibroblasto. En la etapa extracelular se ha seguido la evolución de la prolina -C^{14} incorporada a la precolágena hasta su polimerización, -- para dar origen a las fibras colágenas.

A continuación se presentará, esquematicamente, - la cinética intra y extracelular de la colagenogénesis - en sus diferentes fases.

Incorporación de materias primas por la célula de

su vehiculación al lugar de la síntesis.- Este proceso ocurre en la superficie celular, teniendo como substrato citológico los fenómenos de membrana relacionados con la incorporación de productos (pinocitosis, atrocitosis, etc). De esta forma, la célula capta las sustancias necesarias para la fabricación de colágena, tales como aminoácidos (glicina, prolina, y lisina sobre todo), monosacáridos (galactosa, glucosa), iones y vitaminas, que actúan como cofactores enzimáticos (Fe^{++}, Mn^{++}, vitamina C etc.); todos estos materiales son vehiculados hasta el lugar de la síntesis, el R.E.R.

Hay que tener presente también que en determinadas fases de la colagenogénesis (hidroxilación) se necesitan algunos materiales que actúan como co-substratos (el alfa-cetoglutarato) para la actividad del enzima (hidroxilasas); en concreto dicho co-substrato es proporcionado por las miticóndrias, dado que representa un metabolito intermediario del ciclo de Krebs.

Transcripción genética.- La cinética molecular de este fenómeno ocurre a nivel del DNA nuclear y es similar para todo tipo de síntesis protéica. En concreto, mediante esta actividad se fabrican los RNAm específicos para la biosíntesis de los enzimas que intervienen -

en la colagenogénesis, así como de los que tienen el mensaje que codifica los aminoácidos de las distintas cadenas polipeptídicas-alfa. De esto último se deduce que hay tantos genes diferentes, y por tanto RNAm, como cadenas polipeptídicas alfa distintas.

Traducción del mensaje genético ó biosíntesis de las cadenas polipeptídicas.- La biosíntesis de las cadenas polipeptídicas ocurre a nivel del R.E.R. (BORNSTEIN 1974. MARTIN y colabs. 1975. SCHOFIELD y colabs. 1973),- comenzando secuencialmente por el N-terminal de la molécula para acabar en el C-terminal (VUUST y colab. 1970) Se ha señalado que los polirribosomas más activos con - respecto a esta biosíntesis tienen de 350 a 1.600 S (embrión de pollo) (FERNANDEZ-MADRID 1967. GOOD Y colab. -- 1967). En este momento se fabrica la denominada cadena - polipeptídica pro-alfa, que está caracterizada por los - siguientes hechos:

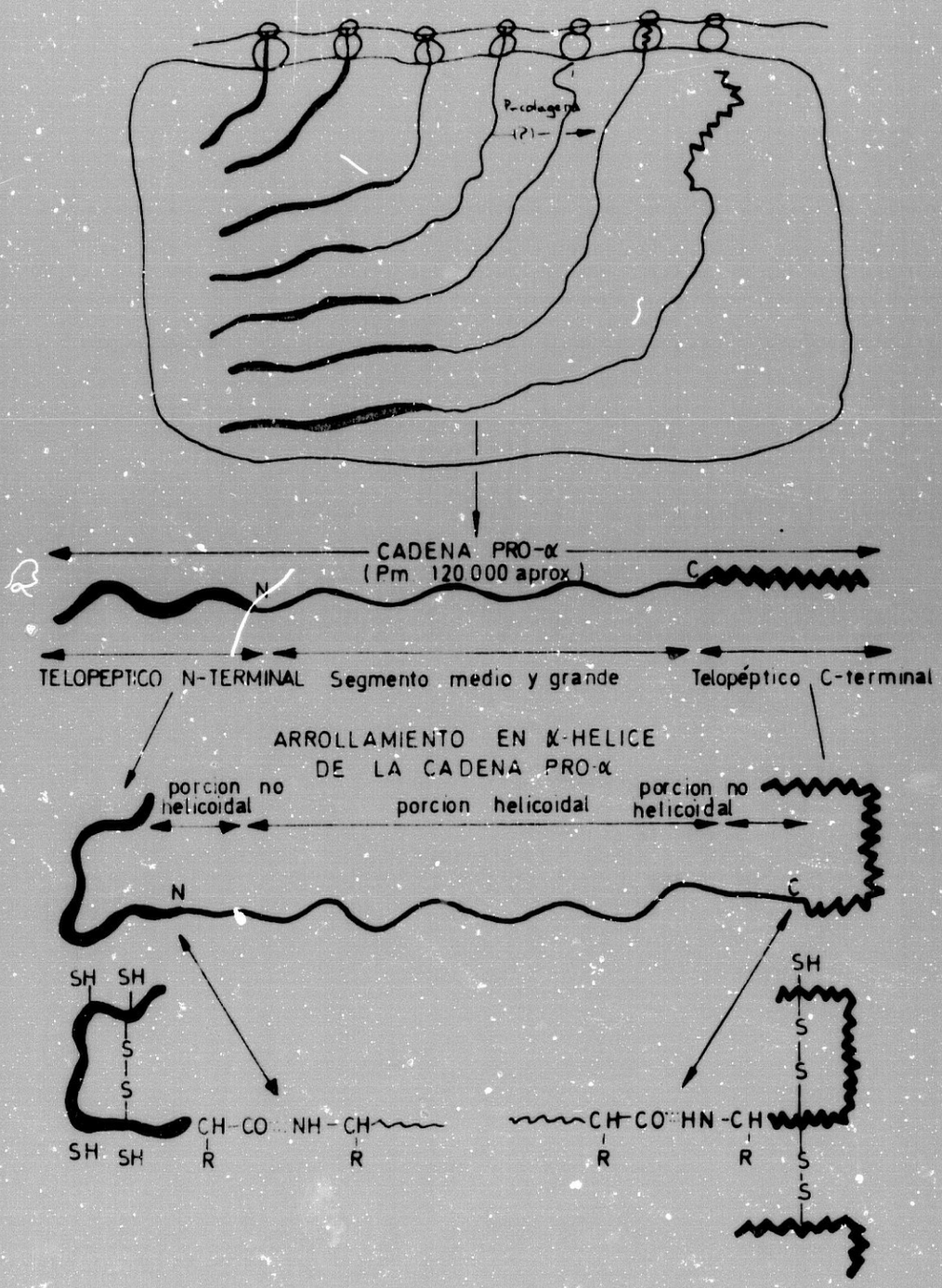
a) Tiene un peso molecular(aproximado de 120.000 -- daltons) mayor que el de la cadena-alfa de la tropocolágena (95.000 a 100.000 daltons), debido a que en su molécula se añaden dos telopéptidos, uno en cada extremo (C y N-terminales), los cuales alargan la molécula en un - 30 a 50 por 100.

b) Está formada por una cadena de amincácidos (glicina, prolina, lisina, cisteina, etc.)entre los que no se encuentran la hidroxiprolina ni la hidroxilisina (típicos de la colágena), dado que no existen RNAt para ellos; lo que ocurre es que la prolina y lisina, una vez incorporadas en la cadena polipeptídica son posteriormente hidroxiladas (véase más adelante).

En síntesis, la cadena polipeptídica pro-alfa está constituida por tres fragmentos: uno medio y grande (futura cadena alfa de la tropocolágena) y dos telopéptidos a nivel de los terminales amino (BORNSTEIN 1974. BYERS y colabs. 1975. MONSON y colabs. 1975. TANZER y colb 1975. 1974.), y carboxilo (DEHM y colabs. 1972. JIMENEZ y colabs. 1973. IENAERS y colabs. 1971. STARK y colabs,. 1971) del anterior.

Se ha descrito la existencia de un producto intermediario y precursor de la cadena pro-alfa, denominado "p-colágena"; este elemento se caracteriza por poseer segmento intermedio (futura cadena-alfa) y telopéptido-N- terminal, faltandole en cambio el C-terminal. De esta peculiar composición molecular se deduce que la p-colágena no es apta para la agregación trihelicoidal, al no poder establecer enlaces disulfuro intercatenarios --

CARACTERICTICAS DE LOS TELOPEPTIDOS DE LAS CADENAS PRO α



(-S-S-) (véase más adelante).

Con respecto a los telopéptidos conviene aclarar algunas de sus características más importantes (esquema en página adjunta). Así, en su composición química son diferentes a las cadenas -alfa de la molécula de tropocolágena; en efecto la glicina representa menos del 30 por 100 del total de sus aminoácidos, la hidroxiprolina es inferior al 10 por 100, carece de hidroxilisina, la cisteina es constante (no como en la tropocolágena, que falta en los tipos I y II), aparece en cantidad apreciable y favorece el establecimiento de enlaces disulfuro; el triptófano, ausente en la tropocolágena (SHERR y colabs. 1973. TANZER y colabs. 1975) forma el C-terminal del telopéptido.

El "telopéptido N-terminal" tiene enlaces disulfuro intracatenarios y no intercatenarios, por el contrario el telopéptido C-terminal tiene enlaces disulfuro intra e intercatenarios (FESSLER y colabs 1974. GRANT y colabs. 1973. HARWOOD y colabs. 1975. UITTO y colabs. 1973.) y es de mayor tamaño que el N-terminal (BYERS y colabs. 1975. DAVIDSON y colabs, 1975. FESSLER y colabs. 1975. MONSON y colabs. 1975. PARK y colabs. 1975. TANZER y colabs. 1974).

En cuanto al papel biológico de los telopéptidos- (BORNSTEIN y colabs, 1975. MARTIN Y colabs. 1975), hay - que realtar los siguientes hechos:

a) Facilitan el mecanismo de la agregación trihelicoidal de las cadenas-alfa para formar la precolágena, - gracias a los enlaces disulfuro intercatenarios que se - establecen entre los telopéptidos C-terminales a nivel- de la cisteina (SPEAKMAN 1971).

b) Prestan solubilidad a la molécula de tropocolágena y actúan como transportadores intracelulares de la -- misma, llevandola desde el lugar de su síntesis (R.E.R.) pasando o no por el aparato de Golgi, hasta su destino - final en el medio extracelular (BORNSTEIN y colabs. 1975 MARTIN y colabs. 1975).

c) Previenen la polimerización intracelular (formación de fibrillas) de la tropocolágena; de tal modo que in vitro, por la acción de ciertas peptidasas se separan los telopéptidos y se induce así la polimerización.

Hidroxilación de las cadenas polipeptídicas proalfa.- Este proceso ocurre a nivel de las cisternas de R.E.R. comenzando ya antes de que las cadenas polipeptí

dicas se despegen de los ribosomas, para continuar una - vez que están libres en el espacio intracisternal (UITTO y colab. 1973). Por lo tanto este fenómeno se dá antes - de la agregación trihelicoidal de las cadenas pro-alfa - (RYHANEN y colab. 1974), hasta tal punto que el grado y calidad de esta agregación depende, en gran parte, de la extensión de la hidroxilación; incluso la adopción precoz de dicha configuración trihelicoidal impide la hidroxilación intracisternal de las cadenas pro-alfa a nivel- de la prolina (BERG y colab. 1973. MARPHY y colabs.1973)

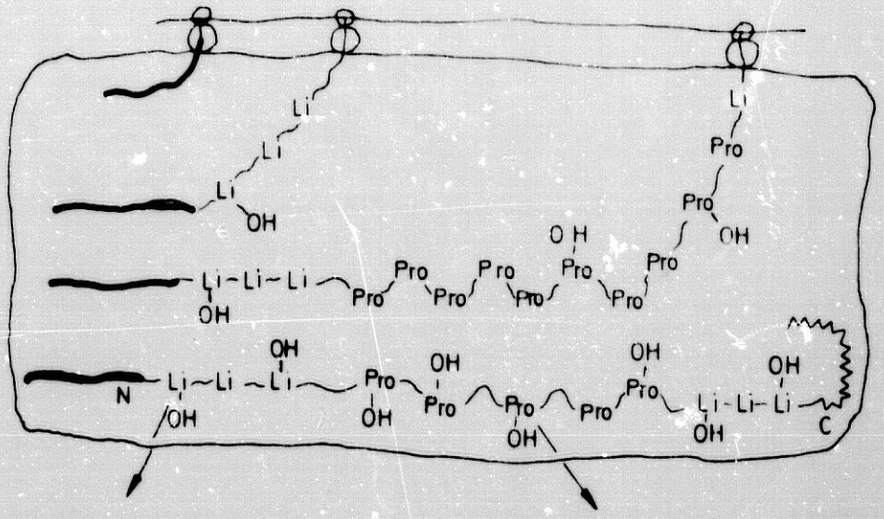
Mediante la hidroxilación se consigue la transformación de algunas moléculas de prolina y lisina de la cadena pro-alfa en sus derivados hidroxilados, propios de las cadenas-alfa de la tropocolágena.

La hidroxilación de la prolina es incompleta (o- sea que no se hidroxilan todas las prolinan de la cadena pro-alfa) (BORNSTEIN 1967. RHOADS y colab. 1971), se realiza casi exclusivamente en la porción helicoidal del - fragmento medio y grande de la cadena pro-alfa y en ella intervienen el enzima prolina-hidroxilasa, el cosubstrato alfa-cetoglutarato y los cofactores Fe^{++}, y vitamina C (esquema en página adjunta), y O_2.

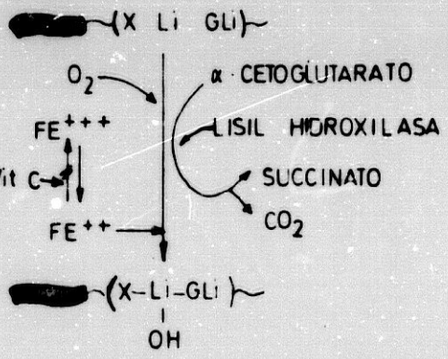
La prolina-hidroxilasa.- Se localiza adherida a las membranas del R.E.R. (GUZMAN y colab. 1973. OLSEN y colab. 1973. PETERKOFSKY y colab. 1965) ó en el espacio intracisternal (CUTRONEO y colab. 1974. DIEGELMANN y col 1973. HARWOOD y colab. 1974. OLSEN y colab. 1973) , ultraestructuralmente (OLSEN y colab. 1973) puede adoptar aspecto de bastoncillo, de V aislada ó de dos V entrelazadas (OLSEN y colab. 1973)(esquema en página adjunta). Este heterogéneo aspecto ultraestructural se explica por su particular organización molecular, ya que la molécula de prolina-hidroxilasa es un tetrapéptido formado por dos dipéptidos entrelazados (V entrelazadas), cada uno de los cuales está constituido por dos péptidos de 60000 y 64.000 daltons de peso molecular, respectivamente --(ramas corta y larga de la V dipéptida - esquema en página adjunta-) (BERG y colb. 1973. KUUTI y colab. 1975 - PANKALAINEN y colab. 1970. TUDERMAN y colab. 1975). Se ha podido, además, establecer estrecha correlación entre el aspecto ultraestructural, configuración molecular y actividad biológica de la prolina-hidroxilasa, resultando que el tetrapéptido tiene actividad intensa, el dipéptido moderada y los péptidos carecen de ella; en otras palabras, es necesaria la conjugación de las subunidades moleculares para conseguir la actuación del enzima.

El ión ferroso (Fe^{++}) es necesario como cofactor-

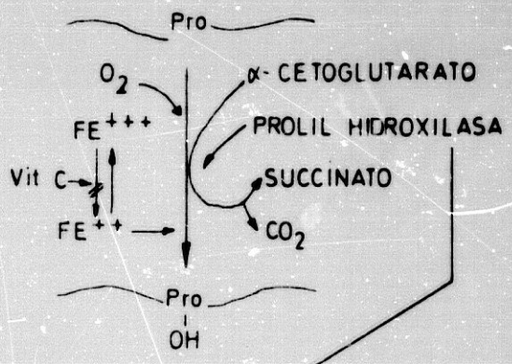
CINETICA BIOMOLECULAR DE LA HIDOXILACION DE LAS CADENAS PRO-α



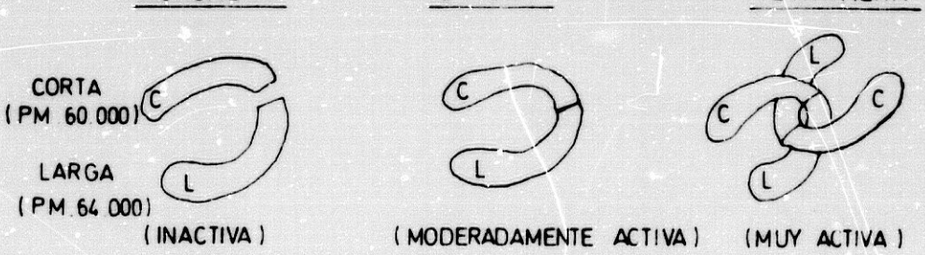
HIDROXILACION DE LISINA



HIDROXILACION DE PROLIFERA



CONFIGURACION MOLECULAR DE LA PROLIL HIDROXILASA



de la prolina-hidroxilasa (PROCKOP y colab. 1965. RHOADS y colab. 1970); La vitamina -C probablemente actúa comodador de electrones para el mantenimiento del hierro enestado reducido y el oxigeno molecular es utilizado en - forma directa, ya que se incorpora en el "radical hidroxilo" de la hidroxiprolina (CARDINALE y colab. 1971. FUJIMOTO y colab. 1962. 1963. GRAHAM y colab. 1967). El alfa- cetoglutarato es cosubstrato de la prolina-hidroxilasa (RHOADS y cola. 1968), su consumo es equimolar a la - cantidad de hidroxiprolina formada (RHOADS y colab. 1970 y por la acción del enzima se transforma en succinato y CO_2 (decarboxilación). Como resultado de este proceso se forma 4-hidroxiprolina, ya que hasta la actualidad no se dispone de información al respecto, de la síntesis de 3-hidroxiprolina.

La hidroxilación de la lisina.- De la cadena pro-alfa es, como la prolina, incompleta (BALIAN y colab. -- 1971. BORSTEIN y colab. 1969. BUTLER 1968. 1972. KIVIRIKKO y colab. 1973. WENDT y colab. 1972), pero, al contrario de lo que ocurria en aquella, se va a realizar a nivel de la porción no helicoidal del fragmento medio y mayor de la cadena pro-alfa (STOLTZ y colab. 1973). Para - esta hidroxilación se precisan lisina-hidroxilasa, Fe^{++}, vitamina C (HAUSMANN 1967. HURYCH y colab. 1967. KIVIRI-

KKO y colab. 1967. MILLER 1971. 1972. PROCKOP y colab. - 1966) , O_2 y alfa-cetoglutarato (HAUSMANN 1967. KIVIRI - KKO 1972. POPENOE y colab. 1972).

La lisina-hidroxilasa se localiza en el espacio-intracisternal del R.E R. (HARWOOD y colab. 1974), habién--dose aislado de la fracción microsomial (HARWOOD y colab. 1974). En el enzima activo se ha encontrado en dos-formas de peso molecular 200.000 y 550.000 daltons, respectivamente (KIVIRIKKO y colab. 1967); actúa sólo sobre la lisina situada en posición y del tripéptido elemental (-X-Li-Gli-) (KIVIRIKKO y colab. 1972. RYHANEN 1975) de-la porción no helicoidal del segmento medio de la cadena pro-alfa (STOLTZ y colab. 1973) y para su actividad precisa de radicales sulfidrilos libres; por ello puede ser inhibida por el p-mercurio-benzoato (HARWOOD y colab -- 1974). Los restantes elementos (Fe , vitamina C, O_2 y - alfa-cetoglutarato) tienen función análoga a la desempeñada en la hidroxilación de la prolina.

Con respecto al significado de la hidroxilación,- hay que destacar los siguientes hechos:

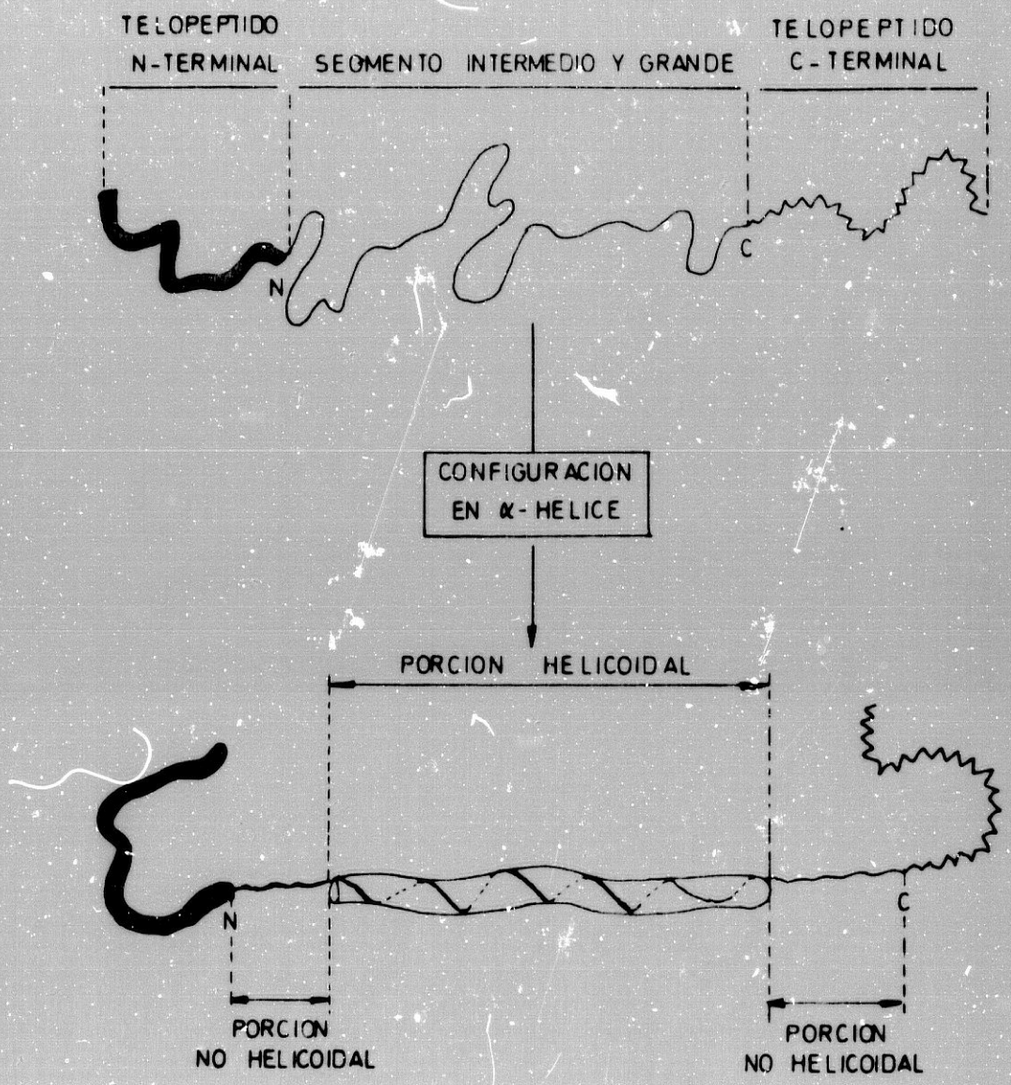
a) la hidroxiprolina es necesaria para estabilizar-la configuración trihelicoidal de la tropocolágena.

b) la hidroxilisina es el lugar específico para la glicosilación de la cadena pro-alfa.

c) También la hidroxilisina, previa desaminación- oxidativa (mediante la lisil-oxidasa) interviene en el establecimiento de enlaces tipo aldimina estables , entre-moléculas de tropocclágena vecinas, contribuyendo así a-su polimerización.

Adopción de la configuración alfa-helicoidal por-la cadena polipeptídica pro-alfa.- El establecimiento de la configuración trihelicoidal por las cadenas pro-alfa-ocurre en el interior de las cisternas de R.E.R. y representa la estructura terciaria de este polipéptido; se --forma gracias a una serie de enlaces peculiares que se -disponen entre las cadenas laterales (R) de los aminoácidos. La cadena pro-alfa sufre un característico enrrollamiento helicoidal (alfa-hélice), que difiere del que mues--tran otras proteinas porque la distancia entre dos aminoácidos consecutivos con la misma posición respecto al-eje de la hélice es de 2,9 Å en lugar de 1,5 Å, lo que -supone una pendiente de 9,5 Å (TRAUB y colab. 1975) (esquema en página adjunta); ello indica que las espiras de esta cadena helicoidal están separadas más, que las restantes proteinas del organismo de similar configuración-

ARROLLAMIENTO EN ALFA-HELICE DE LA CADENA PRO-ALFA



molecular. Esta particular disposición explica que la asociación trihelicoidal de 3 cadenas-alfa dá lugar a una molécula de tropocolágena, con aspecto global de bastón-rígido de 3.000 multiplicado por 15 Å.

Glicosilación de la cadena pro-alfa.- La glicosilacición de la cadena pro-alfa consiste en la incorporación de galactosa ó galactosil-glucosa a nivel del radical hidroxilo (-OH) de la hidroxilisina (porción no helicoidal del segmento medio) (BUTLER y colab. 1966. CUNNINGHAM 1968. SPIRO 1967 . 1969)

Ocurre a nivel de las cisternas del R.E.R. (SPIRO y colab. 1971. HARWOOD y colab. 1975), puede iniciarse estando aún la cadena pro-alfa pegada al ribosoma (BROWNELL y colab. 1975. HARWOOD y colab. 1975) y continúa después en el espacio intracisternal (HARWOOD y colab. 1975), habiéndose encontrado incluso la actividad enzimática relacionada con ella a nivel del R.E.L. (HARWOOD y colab. 1975) ; no obstante, este fenómeno ocurre antes de la agregación trihelicoidal de las cadenas pro-alfa , ya que ésta dificulta la glicosilación (MYLLYLA y colab. 1975) (RISTELI y colab. 1976).

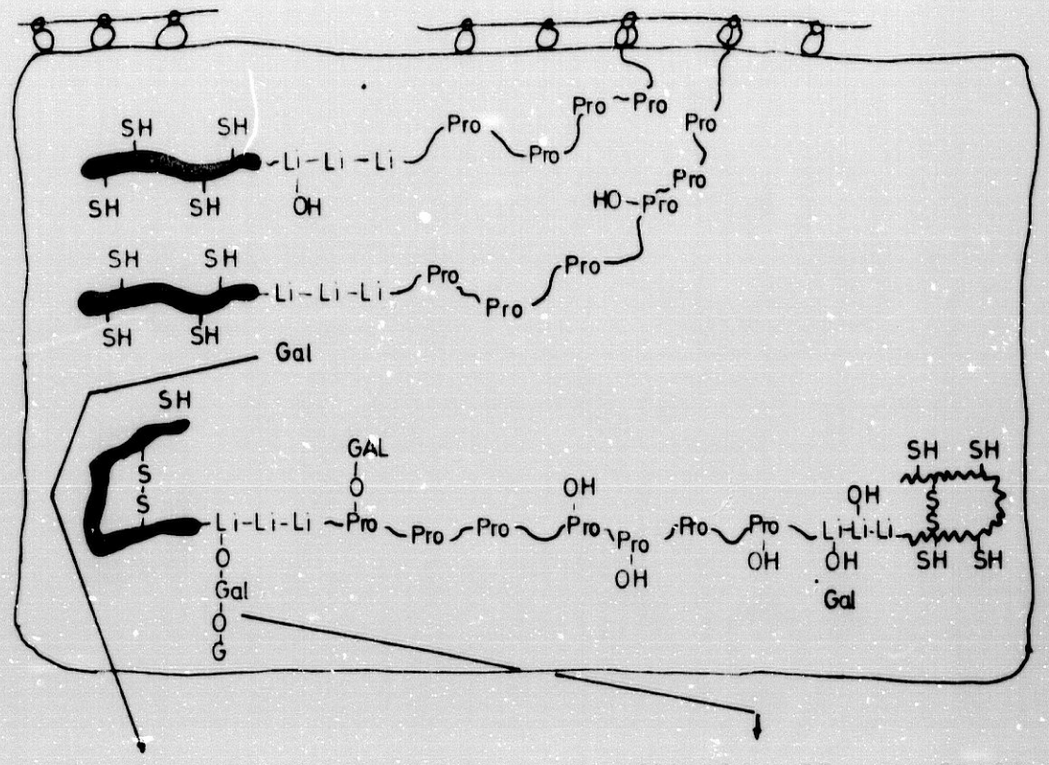
El número y distribución de las hidroxilisinas glicosiladas varía según el tipo de colágena (PINNELL y-

colab. 1971. SPIRO 1969); así en la tipo IV (membrana basal) hay un intenso grado de glicosilación (SPIRO 1967. y SPIRO y colab. 1969).

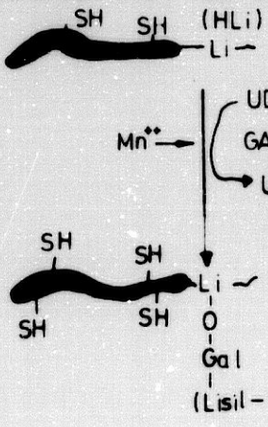
En el proceso de glicosilación (esquema en página adjunta) hay dos estadios que se suceden secuencialmente en el tiempo, de tal modo que primero se incorpora la galactosa y después la glucosa, dando origen, en este segundo caso, al disacárido galactosil-glucosa, que permanece unido al -OH de la hidroxilisina. En la glicosilación intervienen los enzimas galactosil-transferasa y glicosil-transferasa, los cosubstratos UDP-galactosa y UDP-glucosa y el cofactor Mn^{++} (MYLLYLA y colab. 1975. -- SPIRO Y colab. 1971), que en ocasiones puede ser reemplazado parcialmente por algunos iones metálicos (BORNSTEIN 1969. BRODY y colab. 1975. HARWOOD y colab. 1974. KAGAN y colab. 1971).

La galactosil-transferasa específica para la colagenogénesis (MYLLYLA y colab. 1975. RISTELI y colab. --- 1976. SPIRO y colab. 1971) se encuentra a nivel del R.E.R. (HARWOOD y colab. 1975. SPIRO y colab. 1971) y transfiere galactosa desde el UDP-galactosa a la hidroxilisina de la cadena pro-alfa, ya que no actúa sobre hidroxilisina libre (MYLLYLA y colab. 1975. SPIRO y colab. 1971

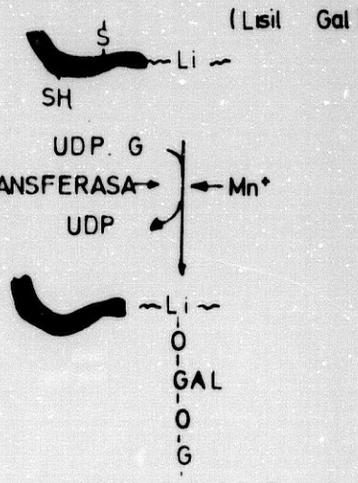
CINETICA BIOMOLECULAR DE LA GLICOSILACION DE LA CADENA PRO-α



GALACTOSILACION DE LA HIDROXILISINA (HLi)



GLICOSILACION DE LA LISIL GALACTOSA (Lisil Gal)



La glicosil-transferasa específica de la colagenogénesis (MYLLYLA y colab. 1975. SPIRO y colab. 1971), se localiza también a nivel del R.E.R. (SPIRO y colab. 1971 HARWOOD y colab. 1975),transfiere glucosa desde el UDP-glucosa a algunos radicales galactosil-hidroxilisina (puede actuar también sobre estos radicales en su forma libre) (UITTO y colab. 1974) y tiene un peso molecular de 55.000 daltons (MYLLYLA y colab. 1976).

El significado biológico de la glicosilación no está aún perfectamente aclarado, pero se piensa que interviene ejerciendo un papel de control de los enlaces-tipo aldimina que se establecen entre moléculas de tropocolágena vecinas (BUTLER y colab. 1966); en otras palabras, influye sobre la polimerización extracelular de la colágena.

En efecto, cuando el grado de glicosilación es muy elevado se han observado modificaciones ultraestructurales en la periodicidad de las fibras colágenas (RUDALL 1968), del tipo del borramiento de algunas bandas a la apariencia anormal de otras; estas imágenes se han interpretado como que algunos puntos de enlace intermolecular de la colágena son bloqueados por la presencia de carbohidratos (GRANT y colab. 1967).

Esto explica el diferente aspecto de las colágenas normales; en efecto, las tipo I y III están poco glicosiladas y tienen mayor tendencia a polimerizar en fibras; por el contrario, las fibras II y IV poseen elevado indice de glicosilación, de tal forma que los radicales galactosa y glicosil-galactosa , por una parte, bloquean las hidroxilisinas (impidiendo la formación de gran número de enlaces intermoleculares tipo aldimina)y, por otra parte, interaccionan con los glicosaminoglicanos de la sustancia fundamental amorfa del intersticio;- todo ello difuculta ó impide el establecimiento de enlaces intermoleculares y, en consecuencia, la polimerización en fibras; de esto se deduce, por ejemplo, el aspecto homogéneo y amorfo de las membranas basales (colágena tipo-IV).

Además del mencionado papel de los carbohidratos de la colágena, actuando sobre la polimerización, se han sugerido, entre otras, las siguientes funciones:

a) servir de señal que indica a la célula las proteinas que debe exportar al medio extracelular (diferenciandolas de las que son retenidas para su uso propio) (EYLAR 1966. WINTERBURN y colab. 1972).

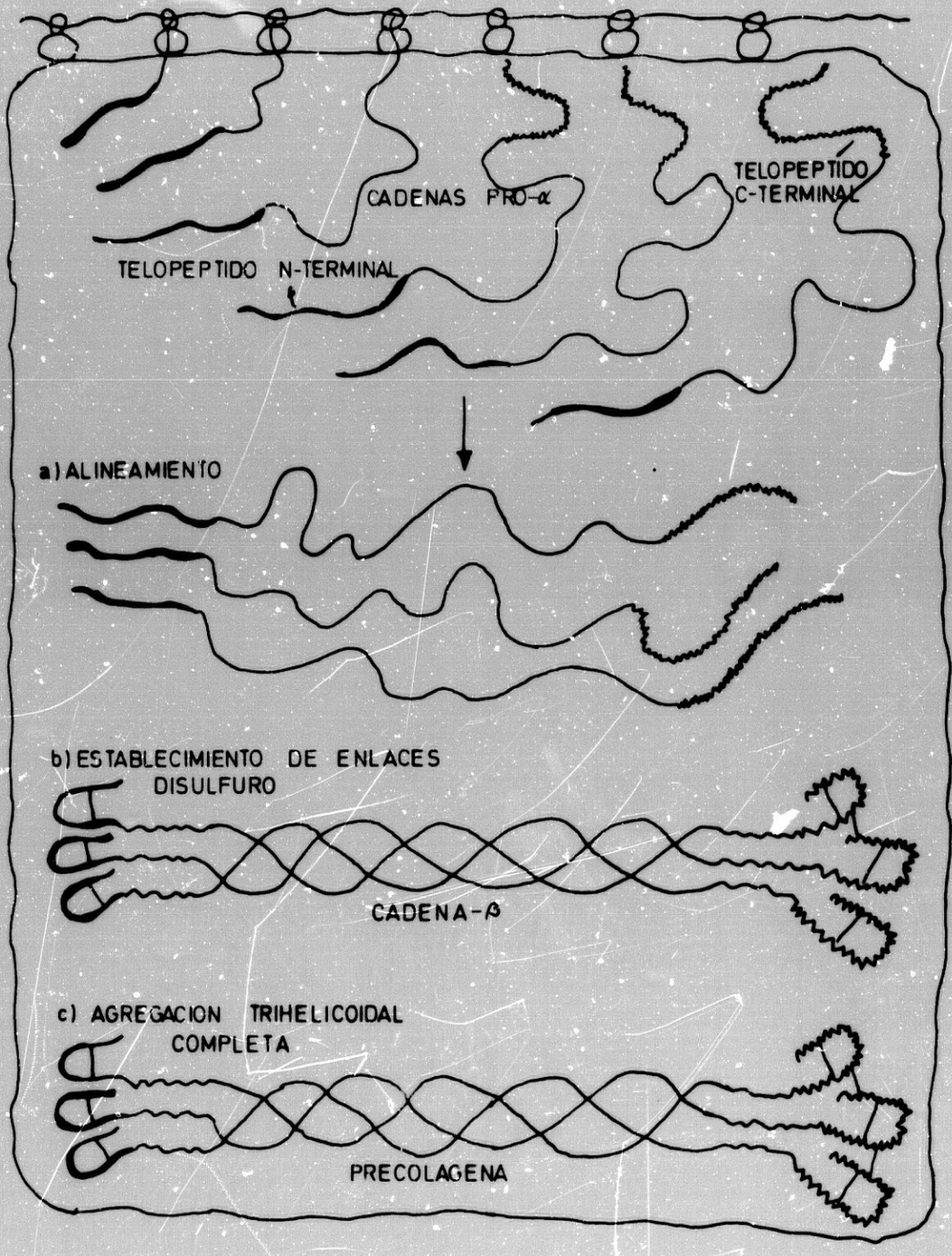
b) representan proyecciones que emergen de la molécula, con la misión de contribuir a determinar el tamaño y aspecto de las fibras que eventualmente pueden constituirse (GRANT y colab. 1972).

Agregación trihelicoidal de las cadenas pro-alfa (formación de precolágena).- Esta etapa de la colagenogénesis ocurre también en el interior de las cisternas de R.E.R. y en ella se distinguen tres estadios sucesivos: (esquema en página adjunta)

1) Disposición paralela de las cadenas pro-alfa, siendo en punto de partida para este alineamiento el telopéptido N-terminal de la cadena pro-alfa (SPEAKMAMN 1971) que facilita así la agregación.

2) Establecimiento de enlaces disulfuro entre las cadenas pro-alfa, a nivel de sus telopéptidos C-terminales (BYERS y colab. 1975. DAVIDSON y colab. 1975. FESSLER y colabs. 1973. FESSLER Y colabs. 1975. SCHOFIELD y colab. 1974. UITTO y colabs. 1973); la reducción intracelular de estos enlaces disulfuro intertelopeptídicos hace reversible la agregación trihelicoidal de las cadenas pro-alfa (UITTO y colab. 1973). En este estadio se estadio se establecen primero enlaces intercatenarios (disul

CINETICA DE LA AGREGACION TRIHELICOIDAL DE LAS CADENAS PRO-ALFA PARA FORMAR LA MOLECULA DE PRECOLAGENA



furo) entre los telopéptidos C-terminales de las cadenas pro-alfa vecinas, para originar la denominada cadena-beta; posteriormente se agrega la tercera cadena pro-alfa, conduciendo a la.

3) Formación de la agregación trihelicoidal de las cadenas pro-alfa y estabilización mediante las hidroxi - prolinas de las porciones helicoidales de los segmentos medios de las cadenas (RAMACHANDRAN y colabs. 1973. 1979 De esta manera se constituye la típica molécula de precolágena, considerada como forma de transporte de la tropocolágena.

Traslado de la precolágena desde el R.E.R. al aparato de Golgi.- El transporte de la precolágena desde -- las cisternas de R.E.R. a los sáculos del aparato de Golgi parece ser inconstante; no obstante, se ha comunicado la existencia de precolágena en los sáculos y vesículas del Golgi (OLSEN y colb. 1974. TRELSTAD 1971); este --- transporte se realizaría probablemente mediante vesícu-- las de transferencia que recorrerían el citoplasma, como ocurre comunmente en cualquier fenómeno de secreción celular.

No parece que la glicosilación de las cadenas pro

-alfa continúe a nivel del aparato de Golgi (HARWOOD y-- colaboradores 1975. MYLLYLA y colab. 1975. RISTELL y colaboradores 1976), dado que, como se ha mencionado con - anterioridad, este proceso es interferido por la agregación trihelicoidal (RISTELI y colab. 1976. MYLLYLA y colaboradores 1975).

Liberación extracelular de la precolágena.- La - cinética de este proceso es desconocida; no obstante, se ha señalado que en ella intervienen, entre otros factores, los siguientes:

a) La conformación molecular de la precolágena dado que es preciso que la molécula tenga la típica disposición -- trihelicoidal, hasta tal punto que la liberación se - retarda ó bloquea al interferirse la agregación trihelicoidal (por incorporación de aminoácidos análogos pero - distintos a la prolina -JIMENEZ y colab. 1974. UITTO y - colab. 1972.1974- , por bloqueo de la hidroxilación consecuente a un deficit de O_2 -JUVA y colb. 1966- , administración de quelantes del hierro -alfa, alfa^1 -dipiridil- -JIMENEZ y colab. 1973. FESSLER y colab. 1975- etc) apareciendo en este caso acúmulos de cadenas pro-alfa en el interior de las cisternas de R.E.R. (OLSEN y colab. 1975).

b) energía, puesto que es un proceso activo (KRUSE y colab. 1975).

c) Algunos nucleótidos como el AMPc (DEHM y colab. 1972. EHRLICH y colab. 1972); se sabe que ciertos farmacos antirreumáticos disminuyen el dintel intracelular de AMPc y, en consecuencia, la secreción de precolágena (KULONEN y colab. 1975).

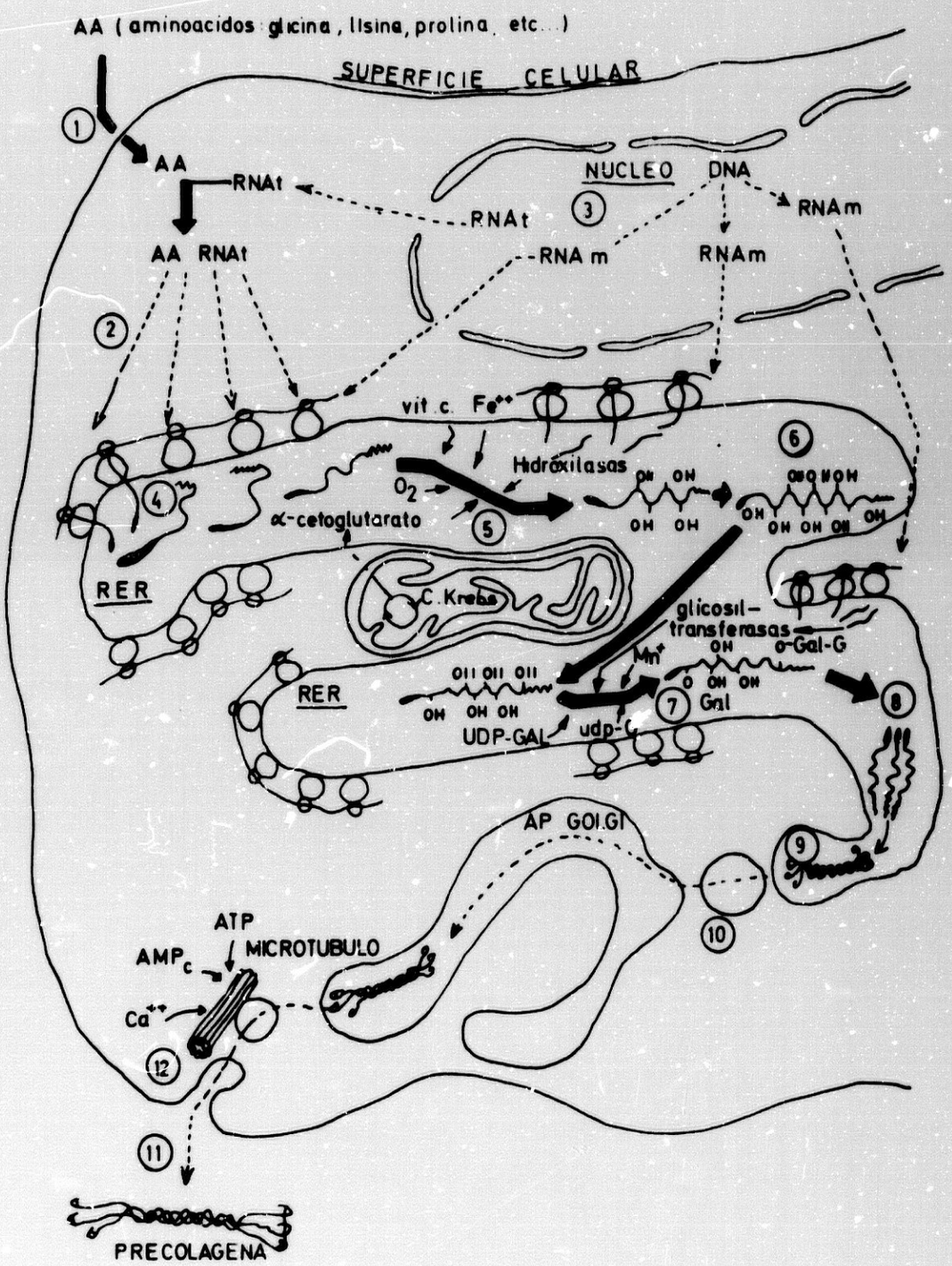
En relación al mecanismo de esta liberación, se ha sugerido que las vesículas secretorias procedentes del aparato de Golgi (HARWOOD y colab.1973. NIST y colab 1975. OLSEN y colab. 1974. WEINSTOCK y colab. 1974) vierten su contenido al espacio extracelular, mediante un fenómeno de pinocitosis reversa (exocitosis común) (REVEL y colab. 1963) ó por emiocitosis; con respecto a esto último, conviene tener presente que los microtúbulos parecer intervenir en esta secreción (DEHM y colab. 1972. DIEGELMANN y colab. 1972. EHRLICH y colab. 1972. 1974), ya que algunos fármacos que afectan la organización molecular de los microtúbulos dificultan también la secreción de precolágena (DEHM y colab. 1972. DIEGELMANN y colb 1972. EHRLICH y colab. 1972. 1974), hecho estudiado en la fibrosis hepática experimental (ROJKIND y colab. 1975 y deducido también del efecto beneficioso de la colchici

na ha tenido en casos de cirrosis grave (ROJKIND y colaboradores 1975) y esclerodermis generalizada (ALARCON-SEGOVIA y colab. 1974). No obstante se ha señalado también -- la posibilidad de la apertura directa de las cisternas de R.E.R. hacia la superficie celular (ROSS y colab. 1965), la liberación por clasmatosis ó microclásmatosis- e incluso formación en polirribosomas libres en el hialoplasma y posterior extrusión, atravesando la membrana -- plasmática (SALPETER 1968. COOPER y colab. 1968). (Esq.pag. adj.).

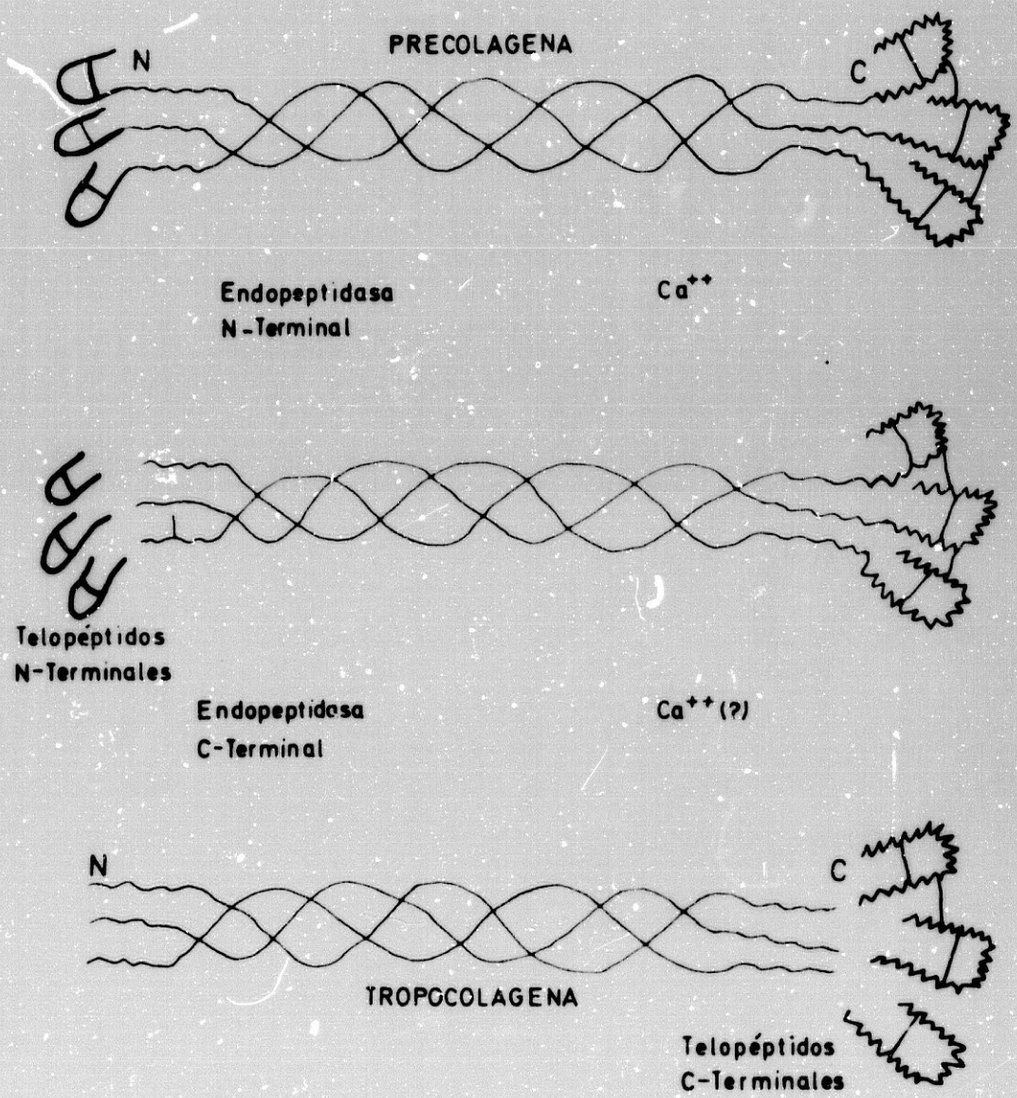
Escisión proteolítica de la precolágena para --- transformarse en tropocolágena.- En la maduración extracelular de la precolágena lo primero que ocurre es la separación de los telopéptidos del resto de las cadenas -- pro-alfa (MORRIS y colab. 1975. SCHOFIELD y colab. 1974) este proceso ocurre secuencialmente, de manera que primero se desprende el telopéptido N-terminal y después el - C-terminal (FESSLER y colab. 1975. MORRIS y colab. 1975) (esquema en página adjunta).

La escisión de los telopéptidos de la precolágena se realiza por la acción del enzima precolágena-peptidasa (BORNSTEIN y colab. 1972. DAVIDSON y colab. 1975. --- FESSLER y colab. 1975. PONTZ y colab. 1973). Este enzima se ha descrito en múltiples localizaciones e incluso en-

CINETICA INTRACELULAR DE LA COLAGENA



CINETICA BIOMOLECULAR DE LA TRANSFORMACION EXTRACELULAR DE LA PRECOLAGENA (PRE-TROPOCOLAGENA) EN TROPOCOLAGENA



fibroblastos humanos (GOLDBERG y colab. 1975. LAPIERE y colab. 1974. Layman y colab. 1973); tiene mayor actividad cuando actúa sobre un substrato de conformación helicoidal (KOHN y colab. 1974) y para ejercer su acción requiere la presencia de Ca^{++} (al menos la telopéptidasa ó endopéptidasa amino-terminal) (LAPIERE y colab. 1971). (BORNSTEIN y colab. 1972). Se ha sugerido la posible existencia de dos enzimas diferentes, las endopéptidasas ó tepopéptidasas C-terminales (DAVIDSON y colab. 1975) y N-terminales (DAVIDSON y colab. 1975. BYERS y colab. 1975. MURPHY y colab. 1975), las cuales se inhiben parcialmente ante determinadas sustancias, tales como mercapto-etanol e hidroxi-mercurio-benzoato (KOHN y colab. 1974).

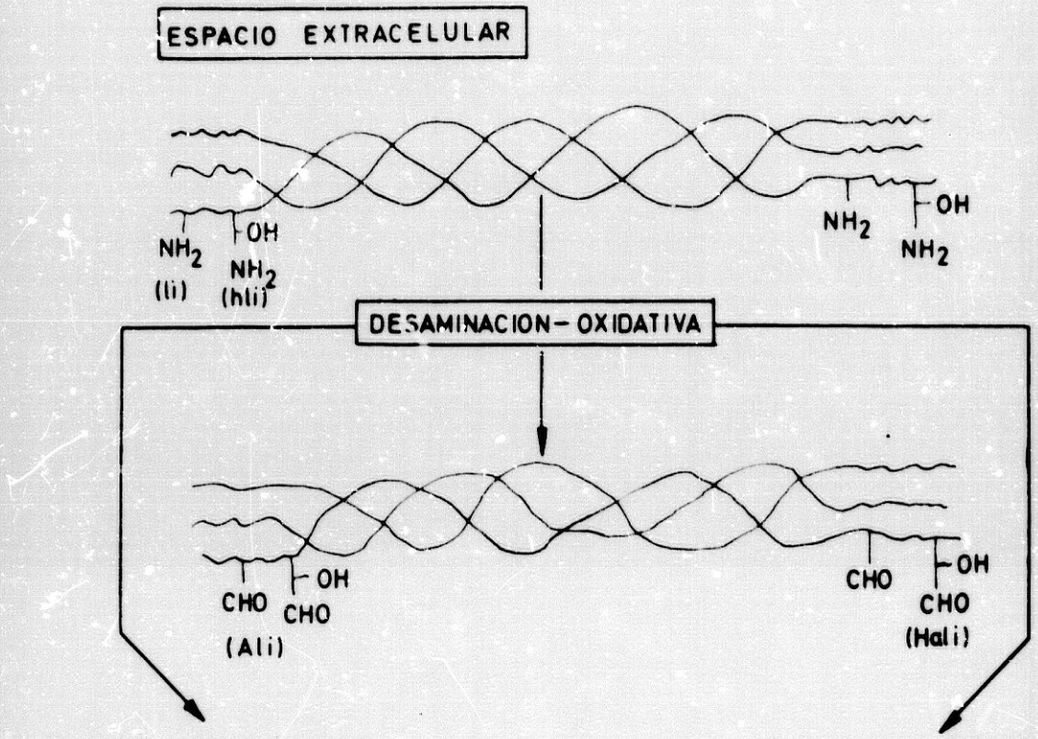
polimerización extracelular de la tropocolágena.- Una vez transformada la precolágena (ó pre-tropocolágena) en tropocolágena, esta puede polimerizarse, para lo cual tienen que formarse enlaces intermoleculares, hecho que requiere una serie de procesos secuenciales que a continuación se describen.

En primer lugar se asite a la desaminación oxidativa de los aminoácidos lisina e hidroxilisina, ubicados en las porciones no helicoidales (N y C-terminales) de -

la molécula de tropocolágena, proceso que ocurre en el - espacio extracelular poco después de que la tropocolágena se disperse en forma de filamentos aislados (SIEGEL - 1974). Mediante esta reacción, la lisina e hidroxilisina se transforman en alisina e hidroxialisina, respectivamente, gracias a la intervención del enzima lisil-oxidasa (MORRIS y colab. 1975. SIEGEL y colab. 1970), que - tiene como cofactores al Cu^{++} y O_2; éste último es incorporado a nivel del radical carbonilo (NARAYANAN y colab. 1974) (esquema en página adjunta).

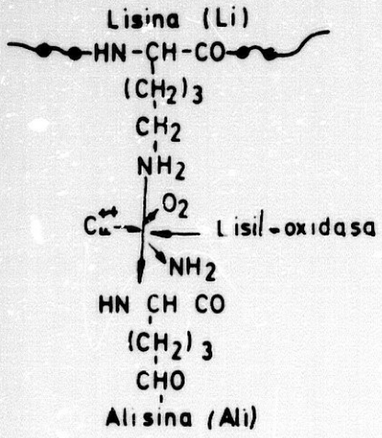
La lisil-oxidasa ha sido encontrada en multiples-localizaciones, tales como el cartílago del embrión de - pollo (MORRIS y colab. 1975.SIEGEL y colab. 1970. STA -- SSEN 1975), aorta de pollo (HARRIS y colab. 1973. KAGAN- y colab. 1971), pulmón de HAMSTER (BRODY y colab. 1975), fibroblastos humanos (LAYMAN y colab. 1972). Su peso molecular es variable según la especie, oscilando entre -- 28.400 daltons (cartílago de embrión de pollo) (STASSEN- y colab. 1975) y 61.000 daltons (aorta de pollo -HARRIS, y colab. 1973-). Es un enzima cobre dependiente, de talmodo que se inhibe en situaciones con deficiencia de este ión, si bien puede conservar parcialmente su actividad en presencia de otros iones metálicos tales ,como -- Fe^{++}, Co^{++}, etc. (SIEGEL y colab. 1970); se inactiva me-

CINETICA BIOMOLECULAR DE LA DESAMINACION-OXIDATIVA DE LA LISINA E HIDROXILINA DE LA TROPOCOLAGENA



Desaminacion oxidativa de la lisina

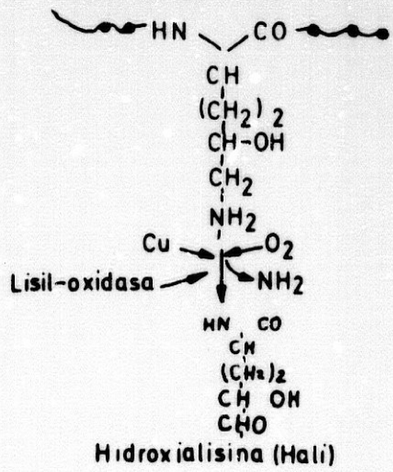
Lisina (Li)



Alisina (Ali)

Desaminacion oxidativa de la hidroxilina

Hidroxilisina (Hli)



Hidroxialisina (Hali)

diante sustancias ricas en radicales nitrilos por su efecto quelante del Cu^{++} que tienen; entre ellas cabe destacar el beta-amino-propio- nitrilo (NARAYANAN y colab. 1972).

Una vez fabricados los aldehidos alisina e hidroxialisina en el seno de las moléculas de tropocolágena, comienza la agregación ó polimerización espontánea de estas últimas (ACHIFFMAN y colab. 1970), fenómeno que tiene un substrato en el establecimiento de dos tipos de enlaces (esquema en página adjunta):

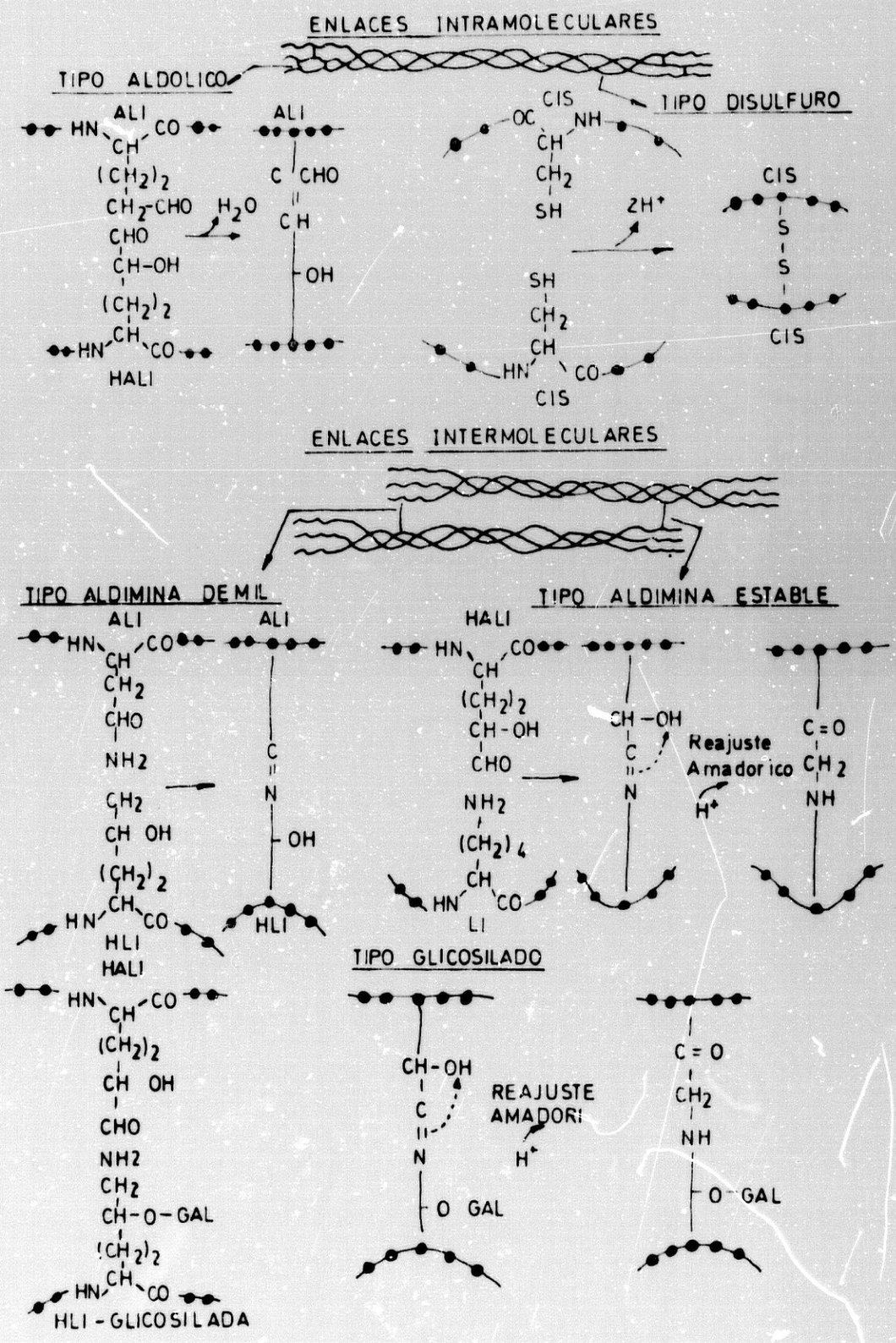
a)intramoleculares, situados entre las cadenas-alfa que forman cada molécula de tropocolágena.

b) intermoleculares, dispuestos entre moléculas de tropocolágena adyacentes.

Dentro de los enlaces intramoleculares se incluyen:

1) puentes disulfuro, comunes en otras proteinas pero raras en la colágena, ya que esta es una proteína por lo general pobre en cisteina (aminoácidos sulfurados) ; sólo las colágenas tipo III y IV los presentan entre --

CINETICA BIOMOLECULAR DE LA POLIMERIZACION EXTRACELULAR DE LAS MOLECULAS DE TROPOCOLAGENA (cross-links)



sus cadenas alfa$_1$ tipo III (CHUNG y colab. 1974) y alfa$_1$ tipo IV (DANIELS y colab. 1975. KEFALIDES 1971. PINNELL 1978) respectivamente.

2) condensación aldólica de cadenas-alfa de la tropocolágena; estos enlaces de tipo aldólico se establecen entre cadenas-alfa adyacentes, a nivel de sus porciones-no helicoidales N-terminales (EYRE y colab. 1973)ROJKIND y colab. 1969. TANZER 1973), y en concreto unen entre sí dos aldehídos, alisina y/o hidroxialisina (TANZER 1973 . KANG y colab. 1969. BORNSTEIN y colab. 1966).

Los enlaces intermoleculares son fundamentalmente de tipo aldimina (o tipo base SCHIFF-BAYLEY 1967-), ya-que se establecen entre un aldehído (alisina o hidroxialisina) de la porción no helicoidal de la molécula de -- tropocolágena y un radical amino (-NH_2) de un aminoácido situado en la parte helicoidal de la molécula de tropocolágena adyacente (este aminoácido es la lisina o, sobretodo, la hidroxilisina -BAYLEY y colabs. 1974. TANZER y colabs. 1973-). Es de interés destacar que existen dos - tipos de enlaces aldimina:

a) Débil, situado entre alisina (radical carbonilo--CHO) e hidroxilisina, ó más raramente, lisina (radical-

amino -NH_2) (este último no suele darse en la colágena - BAYLEY y colab. 1971. KANC y colab. 1970. TANZER t colab 1970- y cuando ocurre hay que suponer que es debido a una deficiente hidroxilación de la lisina, como ocurre -- por ejemplo en el escorbuto); este tipo de enlace ocurre de forma espontánea (BAYLEY 1968) y es lábil (sobre todo frente a ácidos, calor, beta-tioles etc -BAYLEY 1968-) por ello suele aparecer con caracter transitorio ó circunstancial.

b) Estable, cuando se realiza entre una hidroxialisina de la porción no helicoidal de la molécula de tropocolágena con la lisina (MECHANIC y colabs. 1974. ROBINS y colabs. 1975) o hidroxilisina (DAVIS y colab. 1971. MECHANIC 1974. MECHANIC y colabs, 1971. ROBINS y colabs, - 1973) de la porción helicoidal de una tropocolágena adyacente; la estabilidad de este tipo de unión intermolecular se debe a la emigración o desplazamiento espontáneo del doble enlace desde su posición aldimina a una posición -- ceto (proceso denominado " reajuste Amadori") (BAYLEY y colabs. 1974. ROBINS y colabs. 1971); esta unión resiste las soluciones ácidas, el calor y los beta-tioles y - es frecuente encontrarlas en las colágenas tipo I (hueso y dentina -MECHANIC y colabs. 1974-) y tipo II (Cartílago -ROBINS y colabs. 1975).

Puede haber también enlaces intermoleculares glicosilados, cuya proporción varía según el tipo de tejido y su significado no ha sido aún bien esclarecido; podrían -- considerarse como un tipo especial de enlace aldimina estable, ya que se establecen unicamente entre una hidroxialisina de la porción no helicoidal de una molécula de tropocolágena y una hidroxilisina glicosilada (a nivel - de su -OH) de la porción helicoidal de una tropocolágena adyacente. Se sabe que la hidroxilisina glicosilada de - la tropocolágena no puede sufrir desaminación-oxidativa-extracelular para formar hidroxialisina, impidiendo, por lo tanto, el establecimicnto de "enlaces glicosilados intermoleculares"; de esta manera se comprende que el grado de glicosilación intervenga regulando la polimerización, ya que si esta afecta a la hidroxilisina de la porción no helicoidal de la molécula de tropocolágena no es posible la formación de enlaces aldimina (inhibición de su desaminación-oxidativa); sin embargo, si la glicosilación afecta sólo a la hidroxilisina de la porción helicoidal, cabe la posibilidad aún de enlaces glicosilados. Este hecho explica por ejemplo la escasez de enlaces intermoleculares en la colágena tipo IV (muy glicosilada) y, por tanto, la imposibilidad de su polimerización en - fibras (aspecto amorfo de las membranas basales).

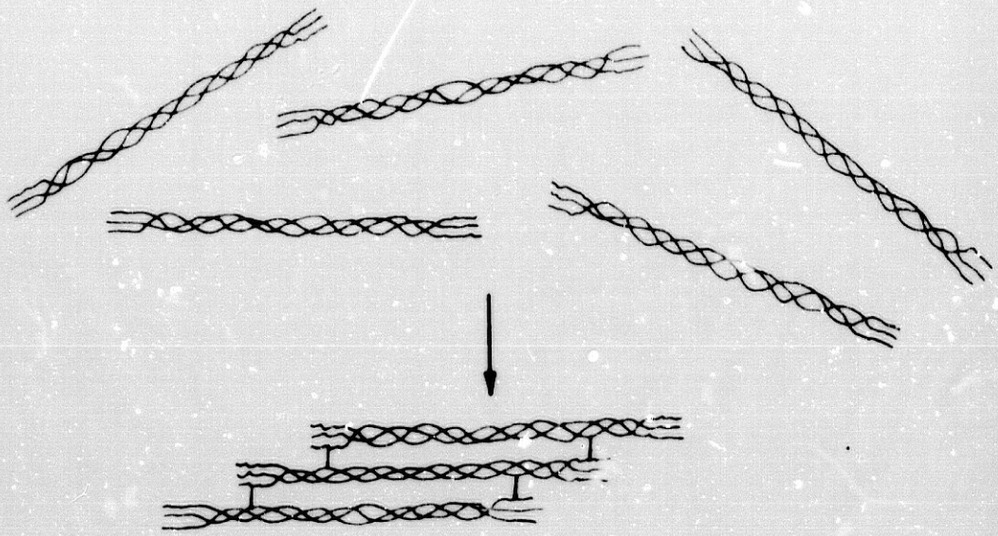
En general, deben considerarse los enlaces tipo - aldimina como uniones transitorias destinadas a estabilizar la colágena durante el crecimiento y desarrollo, a - la vez que permiten todos los cambios inherentes a estas etapas de la vida (ejemplo. osteogénesis y remodelación ósea etc.) no obstante, finalizando el crecimiento y a - medida que transcurre la época adulta, disminuye la porción tisular de enlaces tipo aldimina. Pero a pesar de este último hecho, la colágena posee una mayor estabilidad, fenómeno que se ha interpretado como una transformación de los enlaces aldimina en otros mucho más estables desde el punto de vista bio-molecular y termico, aunque su naturaleza sigue siendo en la actualidad desconocida (BAYLEY 1975).

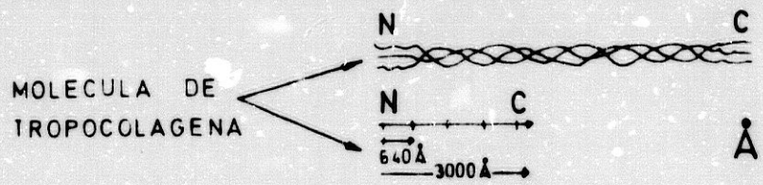
La cualidad química y grado de polimerización de la colágena se ha sugerido que puede ser específica de - tejido (BAYLEY y colab. 1974. GALLOP y colabs. 1973. -- TANZER 1973), hecho que podría ser explicado por la intensidad y calidad de hidroxilación a nivel de las porciones no helicoidales de la tropocolágena y, en menor grado, de la glicosilación de las hidroxilisinas de estos - mismos fragmentos moleculares. De esta manera se comprende que la colágena de la piel sea "ácido-soluble", ya que está poco hidroxilada y, por tanto, predominan en ella -

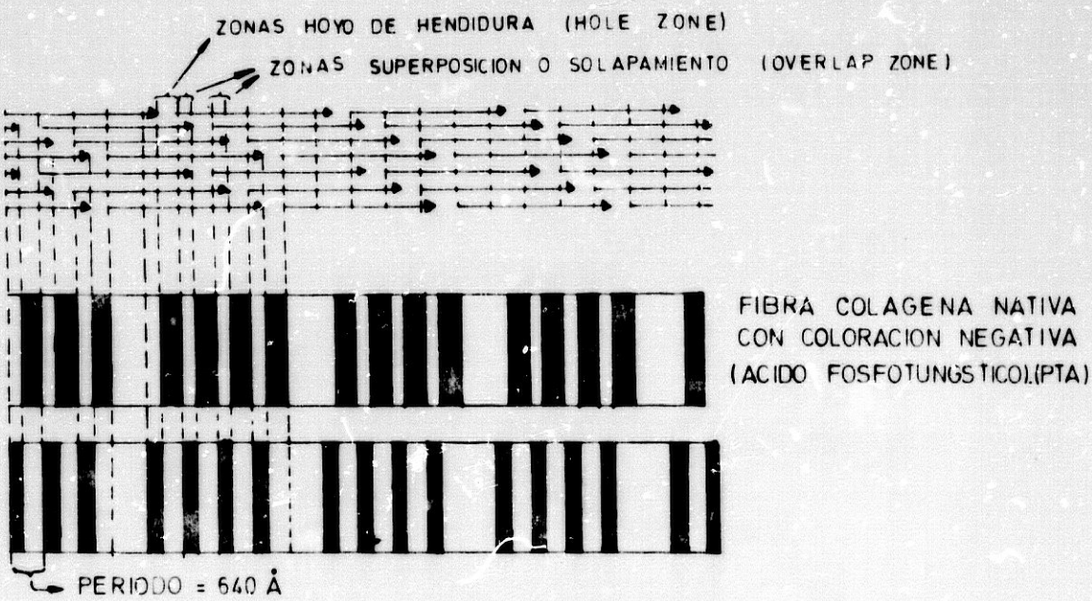
los enlaces aldimina débiles (KANG y colab. 1967. 1979), mientras que la colágena del hueso, dentina y cartílago es "insoluble" por el importante grado de hidroxilación de sus moléculas de tropocolágena, que pueden ser, por ello, enlazadas mediante uniones aldimina estables (BAYLEY y colab. 1969. BARNES 1973. KUBOKI y colabs. 1974 -- MILLER y colabs. 1969); no obstante, existen zonas como por ejemplo el tendon, donde se encuentra colágena con los dos tipos de enlaces (BAYLEY y colab. 1971).

Relación del tipo de colágena con el grado y forma de polimerización de la tropocolágena.- Se sabe que muchos tejidos y órganos pueden tener varios tipos distintos de colágena, pero hasta la actualidad no ha sido posible establecer una correlación precisa entre un tipo concreto de colágena y el grado y/o naturaleza de su polimerización (PINNELL 1978), o lo que es lo mismo, su aspecto ultraestructural: No obstante, teniendo en cuenta las distintas fases de la colagenogénesis es posible proponer un modelo biomolecular con la intención de establecer un puente de unión entre la posible organización y la periodicidad axial de 640 Å, observada en las fibras colágenas comunes ó nativas, mediante la microscopia electrónica (esquema en página adjunta).

POSIBLE MODELO BIOMOLECULAR PARA LAS FIBRAS COLAGENAS COMUNES O NATIVAS (PERIODICIDAD AXIAL DE 640 Å)







FIBRA COLAGENA NATIVA CON COLORACION NEGATIVA (ACIDO FOSFOTUNGSTICO).(PTA)

En efecto, las moléculas de tropocolágena que aparecen dispersas en el espacio extracelular tienden a formar agregados, mediante el establecimiento de enlaces intermoleculares, tal y como se señaló en el apartado anterior. Como resultado de esta polimerización se originan las fibras colágenas comunes, cuya periodicidad axial de 640 Å tiene un substrato en la peculiar organización de las moléculas de tropocolágena. De esta manera cada molécula de tropocolágena (300 Å de longitud) podríamos -- considerarla dividida en cuatro porciones iguales de 640 Å de largo cada una, más una quinta porción situada en - el C-terminal de la molécula (de 440 Å aproximadamente) Estas tropocolágenas se colocan en hileras paralelas, de tal modo que entre el C-terminal de una y el N-terminal- de la que le sigue (en la misma hilera) hay un espacio- libre de unos 200 Å aproximadamente (esquema en página - adjunta). En la hilera paralela más adyacente, las moléculas de tropocolágena se colocan de tal modo que sus -- porciones C-terminales (de 440 Å) sobrepasan ó se superponen a las N-terminales de las precolágenas de la hilera primitiva (esquema en página adjunta). Por interposición de muchas hileras siguiendo este patrón, conocido - como de tresbolillo, se obtiene una estructura molecular que permite explicar el aspecto ultraestructural de las- fibras colágenas comunes. Así, las imágenes ultraestruc-

turales obtenidas mediante coloración negativa de ácido fosfotúngstico (PTA) presentan una periodicidad axial típica, en la que las bandas densas (más impregnadas con - PTA) se corresponden con las "zonas de separación intermolecular" (zona de hoyo o de hendidura) (esquema en página adjunta); este hecho se ha interpretado como una - más fácil penetración del PTA a estos niveles; a ello se podría añadir el efecto favorecedor derivado de la existencia de radicales químicos con diferente capacidad reac--tiva (amino y carboxilo terminales). A este respecto , recuérdese que en el tejido óseo los cristales de hidroxiapatita eligen también, como lugar predilecto para su depósito, estos puntos.

El aspecto de la fibra colágena con microscopia - electrónica convencional es la imagen invertida de la observada con coloración negativa, de tal manera que las - bandas claras se corresponden con las densas mencionadas previamente y las densas representan "zonas de superposición" (o de solapamiento) de tropocolágenas paralelas y contigüas (esquema en página adjunta).

En resumen, las moléculas de tropocolágena se colocan en forma paralela-helicoidal, con una típica superposición que representa el substrato de la periodicidad-

axial observada con microscopia electrónica.

Aparte de los numerosos factores mencionados en la colagenogénesis existen otros muchos que pueden modular la polimerización extracelular de la tropocolágena - entre ellos cabe mencionar:

a) Ph del medio, debido a que se han podido separar diferentes fracciones de fibras colágenas (solubles -a / Ph neutro y ácido- e insolubles) variando el Ph del di - solvente; dichas fracciones probablemente se corresponderían con estadios sucesivos de agregación del colágeno , dado que su evolución pudo seguirse, además utilizando - glicina y prolina tritiadas;

b) factores estato-mecánicos ya que , en los geles- de colágena sometídos a tracciones, las fibras (birre -- fringentes) aparecen orientadas en el sentido de las líneas de tensión, y

c) Los fibroblastos intervendrían de alguna manera- facilitando la polimerización espontánea de las fibras - (in vitro siguen un patrón ortogonal dificil de explicar sólo por factores mecánicos), posiblemente por su colaboración en el mantenimiento de las propiedades físico-quí

micas de la sustancia fundamental que los rodea.

Degradación de la colágena.- El turnover ó renovación de la colágena representa el equilibrio entre la colagenogénesis y la destrucción de la colágena, fundamentalmente por medio de enzimas. Esta renovación se presenta como una auténtica necesidad tanto en condiciones normales (remodelación ósea durante el crecimiento , involución uterina post-parto etc.) como en múltiples situaciones patológicas, teniendo significado de fenómeno adaptativo o reactivo (ej. reparación tras destrucción tisular de cualquier naturaleza).

Por lo general, el turnover de la colágena es lento, aunque puede ser rápido en determinadas circunstancias (ej. curación de las heridas, granulomas,etc.)

La tropocolágena parecer ser bastante resistente a la acción de enzimas proteolíticos tisulares e hidrolasas ácidas lisosomiales; en cambio es sensible a un grupo especial de enzimas, las colagenasas.

Las colagenasas son sintetizadas por multiples tipos celulares, como los queratinocitos (DONOFF y colabs. 1971. EISEN y colab. 1965), las células mesenquimales -

(EISEN 1969), fibroblastos (BAUER y colabs. 1975. HOOK y colabs. 1973. WERB y colabs, 1974), células de Kupffer, granulocitos neutrófilos (LAZARUS y colab. 1968), plaquetas (CHESNEY y colab. 1974. HARPER y colab. 1975) etc. A este respecto, se han utilizado anticuerpos anti-colagenasa humana marcados con fluoresceina , comprobando su adhesión a fibroblastos dermicos en cultivo en los cuales adoptaban un patrón reticular (R.E.R.)ó granular.

Según el mecanismo de acción, se distinguen (REDDICK y colab. 1974) dos grupos de colagenasas :

a) las que actúan sobre la tropocolágena en un punto determinado de su molécula (separado del extremo C- / terminal por una distancia equivalente a 1/4 de la longitud total de la molécula), seccionandola a este nivel, / de tal manera que rompen unicamente tres enlaces peptídicos (uno de cada cadena alfa) por molécula de tropocolágena (colagenasa tipo I). Se forman así dos fragmentos desiguales A y B (JARRETT 1974) (esquema en página adjunta); el fragmento A tiene un peso molecular de 75.000 -- daltons y presenta enlaces intercatenarios, mientras que el fragmento B posee 25.000 daltons de peso molecular y carece de enlaces intercatenarios.

b) Las que atacan a la molécula de tropocolágena al mismo nivel que las anteriores (se forman los fragmentos A y B), pero además tienen la capacidad de seguir rompiendo el fragmento A en toda su longitud (colagenasa tipo II).

Dentro de las colagenasas, la mayoría son de tipo I (similares a las aisladas de la cola del renacuajo -/ GROSS y colab. 1965) y las menos pertenecen al tipo II.

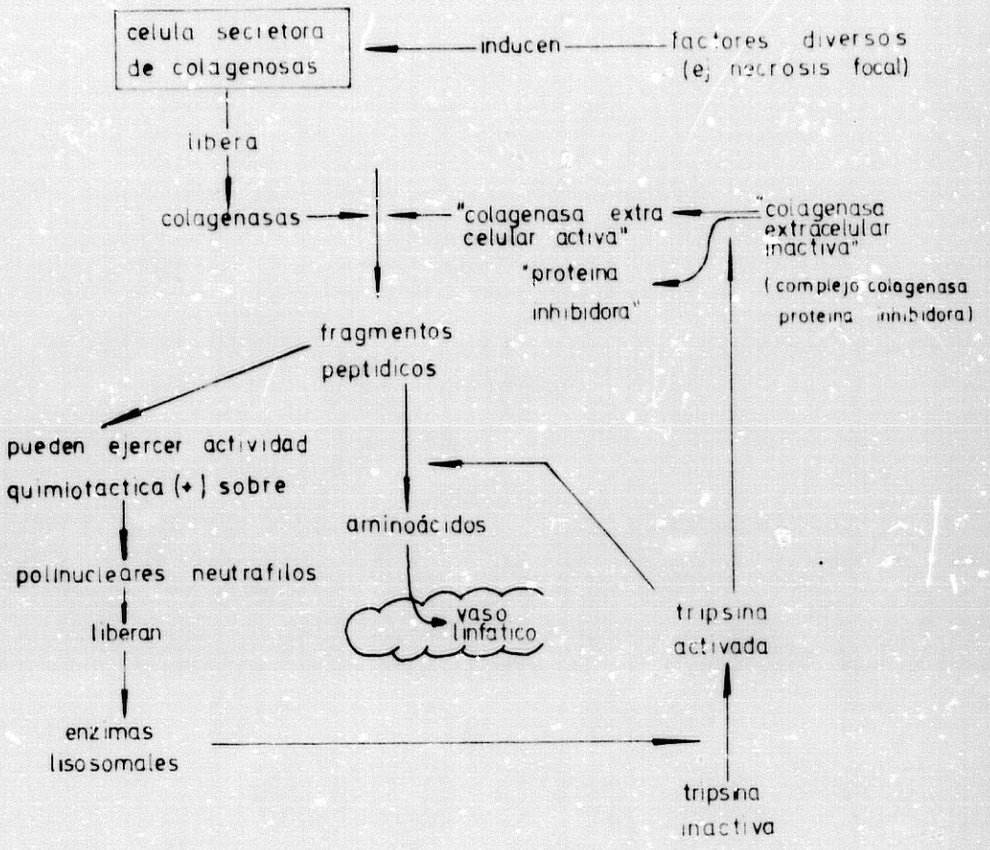
Las colagenasas son capaces de degradar las fibras colágenas nativas en condiciones normales (HARRIS y colab. 1974); no obstante, el grado de actividad lítica de estos enzimas va a depender también del tipo de colágena de que se trate (así la colágena tipo II es degradada con más lentitud -WOOLLEY y colab. 1975.- que la tipo I -NAGAY 1973-; de igual manera la porción helicoidal de la molécula de tropocolágena es más facilmente degradable que la no helicoidal -McCULLAGH y colab. 1973-) y del grado de polimerización ó calidad de enlaces intermoleculares (HARRIS y colab. 1972.1974) (es más susceptible a las colagenasas la colágena joven ó soluble que la muy polimerizada, insoluble ó vieja).Los fragmentos obtenidos por acción de las colagenasas son inestables y se desnaturalizan, siendo entonces susceptibles de ser ata-

cados por las proteasas tisulares que terminan degradándolos por completo hasta aminoácidos (esquema en página adjunta)Las colagenasas pueden ser inhibidas por diferentes elementos (ej. etilen-diamino-tetracético -EDTA-, -cisteina, alfa$_1$ -antitripsina, alfa$_2$ -globulina,etc.) -(BAUER y colab. 1972. EISEN 1969. 1970) y en su regulación intervienen también factores hormonales (los gestágenos y corticosteroides disminuyen su producción) (JEFFREY y colab. 1971. KOOB y colabs. 1974).

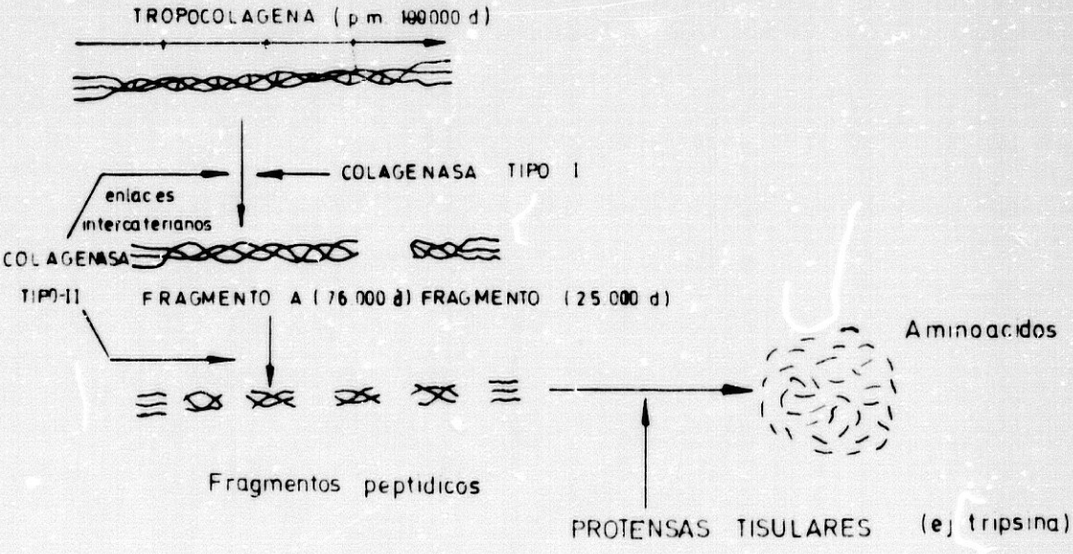
Además de las colagenasas, existen otros enzimas-colagenolíticos, algunos de los cuales pueden digerir la colágena insoluble en presencia de elevadas concentraciones de sales càlcicas ó salicilatos (GRANT y colabs.1970) La tropocòlágena despolimerizada e inmersa en un magma de mucopolisacáridos forma "complejos tropocolágena-mucopolisacáridos", los cuales son sensibles frente a hidrolasas ácidas lisosomiales y proteasas tisulares, enzimas que conducen a la separación de tropocolágena y mucopolisacáridos en los mencionados complejos.

Regulación de la colagenogénesis.- El control de la colagenogénesis es aún mal conocido, pero probablemente depende de una compleja constelación de factores, muchos de los cuales intervienen modulando determinadas e-

CINETICA BIOMOLECULAR DE LAS COLAGENAS



MECANISMO MOLECULA DE LA COLAGENOLISIS



tapas de la colagenogénesis (KIVIRIKKO y colab. 1976). - En concreto la importancia de estos factores está en relación con el nivel al que actúan, ya que la inhibición de ciertos estadios de la colagenogénesis bloquea totalmente la secreción de colágena (Ej. transcripción genética y biosíntesis de las cadenas polipeptídicas , hidroxilación de la prolina, estableciendo los enlaces disulfuro entre telopéptidos C-terminales de cadenas pro-alfa,- agregación trihelicoidal de cadenas pro-alfa y liberación de precolágena al medio extracelular), mientras que otras no son absolutamente imprescindibles para la colagenogénesis (KIVIRIKKO y colab. 1976).

Entre los factores reguladores cabe incluir : hormonas (glucocorticoides -CUTRONEO y colab. 1975- ,STH ---KIVIRIKKO 1970- , T_3 y T_4 -HALME y colabs. 1972- , PTH/ -KIVIRIKKO 1970- etc), determinados péptidos del tejido-conjuntivo ("factor activador de la colagenogénesis" ---AALTO y colabs. 1976. McGEE y colab. 1973. RONNEMAA y-colab. 1975-, "factor inhibidor de la colagenogénesis"--AALTO y colabs. 1974-), AMPc (PETERKOFSKY y colabs.1975) prostaglandinas (RAISZ y colab. 1974), etc.

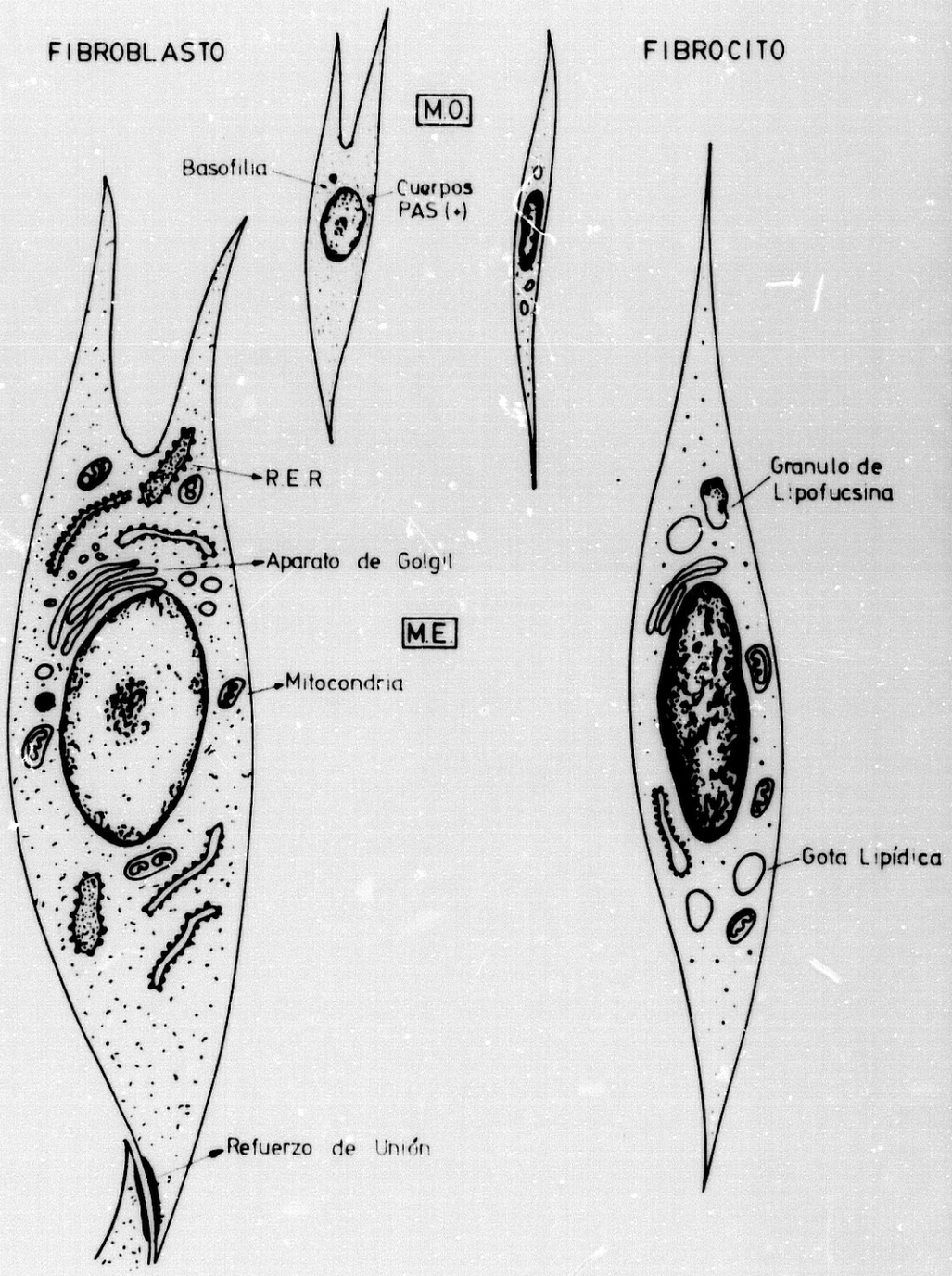
2-2-2-3 Componente Celular del Tejido Conjuntivo - de la Dermis.- Entre las células que tienen su origen y/ función a nivel del tejido están, fundamentalemente los/ fibroblastos y miofibroblastos.

2-2-2-3-1 Fibroblastos.- Denominado clásicamente/ célula fusiforme ó inocito, es el elemento fijo más co-- mún del tejido conjuntivo y elabora los precursores de - la sustancia fundamental, tanto del componente fundamental amorfo como del fibroso.

El término fibroblasto puede inducir a error, ya que generalmente el subfijo blasto (formador o precursor) se emplea para designar a una célula inmadura; sin embargo, en este caso se utiliza para referir a este elemento como "formador de fibras" y, por lo tanto, maduro y -- bien diferenciado.

Características histológicas.- Son células que se hallan situadas entre los haces de fibras de colágena, - lo que determina su forma. Efectivamente (figura y esquema en página adjunta), presentan aspecto estrellado , - fusiforme y/o aplanado y emiten largas prolongaciones citoplásmicas, su tamaño es variable y su diámetro máximo/ suele ser de 20-30 micras.

CARACTERISTICAS MORFO - ESTRUCTURALES DEL FIBROBLASTO - FIBROCITO



a) En cultivo de explantes de tejido conjuntivo -- (ABERCROMBIE 1961. 1971), los fibroblastos emigran hacia la periferia y crecen hasta formar una trama celular - con sus prolongaciones más o menos yuxtapuestas. Por -- analogía, se supone que también en el tejido conjuntivo in vivo establecerían contactos por medio de dichas prolongaciones. A pesar de ser catalogadas como células fijas, se ha podido observar, mediante la implantación, en animales vivos, de cámaras transparentes, su desplazamien --to, sobre los haces de colágena a una velocidad aproxi mada de 8 micras por hora, mientras que en cultivo pue - den desplazarse a 30 micras/hora.

b) Con microscopia de luz (figura en página adjunta y esquemà también), el "fibroblasto" muestra núcleo gran de, oval ó reniforme y a veces escotado, con cromatina - uniforme, dispersa en pequeños acúmulos, y 102 nucleolos prominentes. Todo ello permite sugerir que es una célula que sintetiza activamente proteinas. El citoplasma suele ser abundante y algo basófilo haciéndose más patente- esta última propiedad al aumentar la actividad celular./ En la zona perinuclear se halla el diplosoma y el aparato de Golgi. Con tinciones vitales pueden evitarse un nú mero variable de mitocondrias alargadas y, en ocasiones se distinguencuerpos PAS (positivos) que podrían conte -

ner mucopolisacáridos.

c) Con microscopia electrónica, en los fibroblastos (figura y esquema en página adjunta) llama la atención - su citoplasma por poseer : 1) cisternas de R.E.R, a ve - ces dilatadas y con un contenido en su interior de variable densidad electrónica. 2) polirribosomas libres en -- porción variable, y 3) Aparato de Golgi formado por sáculos paralelos, vesículas de transferencia, procedentes- de R.E. y vesículas de secreción, que se originan en su cara madura.

En determinados territorios orgánicos, fundamentalmente alrededor de formaciones glandulares (figura en página adjùnta) ó de vasos sanguíneos (fig. en página - adjunta) se disponen los denominados fibroblastos delimitantes, caracterizados por emitir prolongaciones alares muy finas (no se aprecian con la microscopia óptica , que envuelven una zona especial del estroma. Así, envecindad a algunos parenquimas glandulares (ej. en la mama ó en el testículo), delimitan una zona avascular queconstituye el "complejo de conjunción funcional epitelio -estroma).

En relación a la superficie celular, los fibro -

blastos muestran típica membrana y no están separados - del intersticio por membrana basal. Con otros elementos- de igual naturaleza pueden establecer contactos, e incluso en ocasiones, se descubren refuerzos de unión (figura en página adjunta). Dado que este último hecho se aprecia en algunos elementos endoteliformes y en células- reticulares muy especializadas, al término de la presentación del fibroblasto y miofibroblasto se planteará el problema de la naturaleza de estos elementos, relacionados con los fibroblastos, endotelios y células reticulares.

Histogénesis.- Se ha comprobado que, el tejido - conjuntivo en crecimiento ó al ser estimulado (por ejemplo en la reparación de una herida)los fibroblastos se - dividen activamente, para lo cual se hacen esféricos y después de dividirse, recuperan su forma estrellada. De- esta manera, los nuevos fibroblastos formados proceden - de fibroblastos preexistentes y de células mesenquimales y de células mesenquimales indiferenciadas que persisten en el tejido conjuntivo adulto, especialmente a lo largo de los vasos sanguíneos (sobre todo de los capilares).

En la actualidad se ha desechado la hipótesis de- que pudieran proceder de los monocitos sanguíneos, así -

como también parece poco probable que los fibrocitos se transformen en fibroblastos y posteriormente se dividan

Es de interés señalar el hecho comprobado de que en ciertas condiciones patológicas, los fibroblastos puedan transformarse en osteocitos ó células similares; sin embargo se ha abandonado la idea de que puedan diferenciarse hacia otros tipos celulares como histiocitos ó -/ adipocitos.

Histofisiología.- El fibroblasto interviene en la formación del componente intercelular del tejido conjuntivo, representado por las fibras colágenas (TEN CATE y COLS 1975), reticulares y elasticas, así como de la sustacia fundamental amorfa.

El fibroblasto aporta los materiales necesarios - para la formación de fibras colágenas reticulares y sustancia fundamental.

Respecto a la colagenogénesis conviene destacar - los siguientes aspectos :

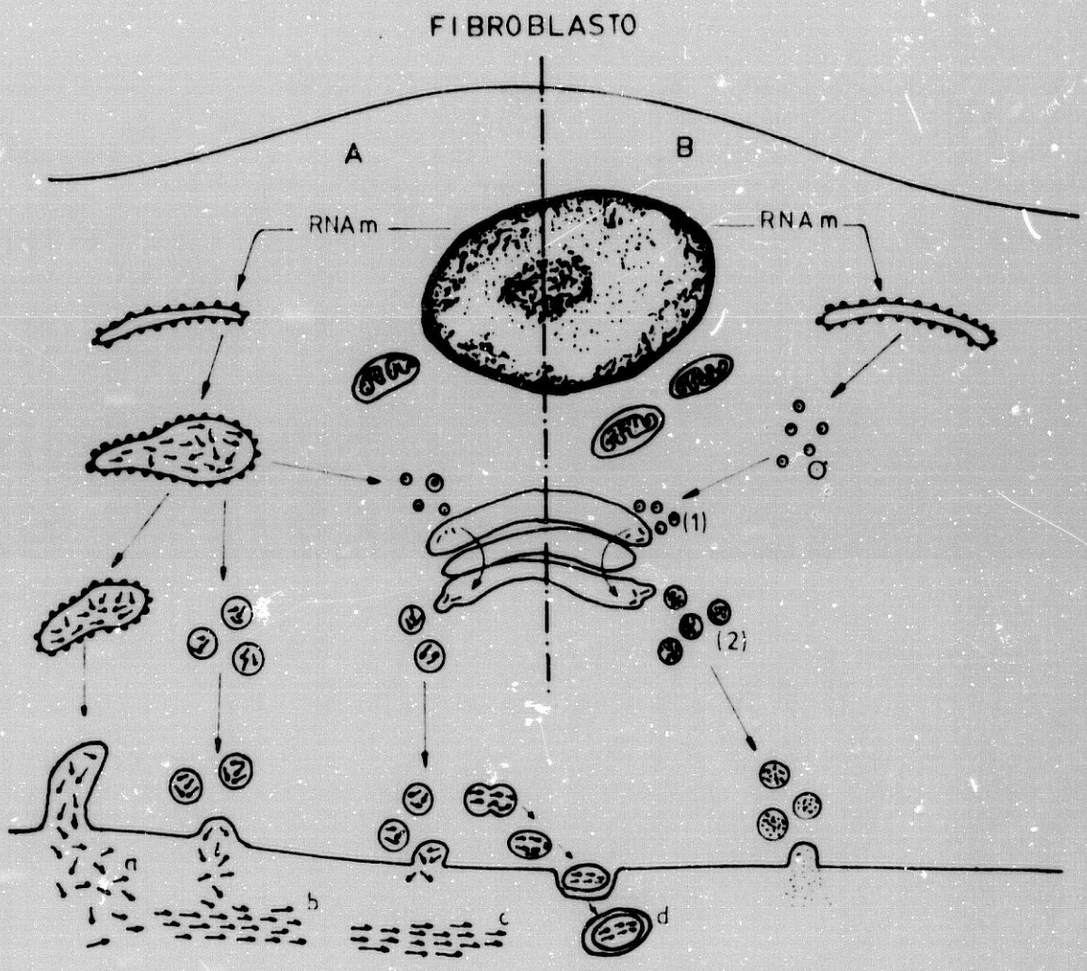
a) Se ha estudiado mediante métodos autorradiográficos, utilizando glicina, prolina e hidroxiprolina tritia

das que, como son constituyentes fundamentales de la colágena, representan marcadores útiles para seguir la dinámica biológica de la síntesis intracelular de dicha proteina por el fibroblasto.

b) Se ha comprobado que la colagenosis no es una propiedad exclusiva del fibroblasto, sino que también cualifica a otros elementos celulares (odontoblastos, osteoblastos -CARNEIRO y COLS 1959- fibras musculares lisas ? etc.); sin embargo, hay ciertas diferencias entre las que cabe mencionar el hecho, que el fibroblasto libera los "precursores de la colágena" por cualquier punto de su superficie celular , mientras que, en las otras células, este proceso se realiza en una determinada zona.

c) El mecanismo intracelular de la colagenogénesis parece ser análogo para los fibroblastos, odontoblastos, osteoblastos, y fibras musculares lisas. En dicho fenómeno (esquema en página adjunta) intervendría el R.E.R. y el aparato de Golgi, pero este último en forma inconstante, dado que los precursores de la colágena se podrían liberar al intersticio: directamente, por apertura de las cisternas de R.E.R. hacia la superficie celular ó indirectamente, mediante "vesículas de secreción" generadas a partir del aparato de Golgi.

CINETICA INTRACELULAR DE LA COLAGENOGENESIS Y DE LA FORMACION DE LA SUSTANCIA FUNDAMENTAL AMORFA



(1) Contenido PROTEICO.
(2) Contenido GLICOPROTEICO.

A.- COLAGENOGENESIS
B.- FORMACION DE SUSTANCIA FUNDAMENTAL AMORFA

a.- Tropocolágeno
b.- Polimerización
c.- Fibra de colágeno
d.- MICROCLASMATOSIS (2)

d) La "formación de fibras reticulares" es similar a la de las colágenas.

e) Tambien en la "elastogénesis" pueden intervenir además del fibroblasto, las fibras musculares lisas, sobre todo en ciertas situaciones.

f) El papel del fibroblasto en la síntesis de la -- sustancia fundamental amorfa tiene su substrato histológico en la presencia de mucopolisacáridos (glicoproteinas) intracitoplásmicos, los cuales se manifiestan con - M.O. en forma de vesículas PAS positivas, que, ultraestructuralmente se corresponden con material homogéneo y de moderada densidad que distiende los sáculos del aparato de Golgi (esquema en página adjunta).

g) En base a estúdios de cultivo de tejidos, conviene mencionar que el fibroblasto no parece sintetizar -- con igual intensidad y simultáneamente fibras y sustancia fundamental amorfa , de tal modo que cuando fabrica gran cantidad de las primeras elabora poca de la segunda y viceversa.

h) El fibroblasto posee escasa capacidad coloidopexica, debido a que incorpora poca cantidad de colorantes

coloidales electronegativos aún estando en soluciones a elevada concentración.

2-2-2-2-2 Miofibroblasto.- El miofibroblasto es un elemento celular que muestra algunas propiedades comunes con el fibroblasto (desarrollo del retículo endoplásmico rugoso y aparato de Golgi) y la célula muscular lisa (núcleo dentado, filamentos intracitoplásmicos con zonas de condensación y uniones de refuerzo).

Desarrollo histológico.- Las aportaciones sobre el miofibroblasto son muy recientes ya que se han desarrollado desde 1971 hasta la actualidad.

Efectivamente, en la primera fecha es observado en tejidos de granulación (MAGNO Y colabs 1971) , y denominado como fibroblasto modificado (BHATHAL 1972 y GABBIANI 1971) ó miofibroblasto término este último que ha hecho fortuna.

Ese mismo año se señala su propiedad de contracción (GABBIANI Y colab. 1971) y se demuestra la inmunofluorescencia, la presencia de filamentos a los que se agregan anticuerpos contra células musculares lisas (HIRSCHEL 1971).

Después de estas aportaciones, son numerosísimos/ los trabajos destinados al estúdio de su ultraestructura (GABBIANI y colabs. 1972. 1976. 1973. 1972; RYAN y colab. 1973. 1974) ó a la demostración de distintas propiedades, mediante el cultivo de tejidos (GABBIANI y colab. 1973. RYAN y colab. 1974) inmunofluorescencia (GABBIANI y colab. 1972. 1973. 1976. HIRSCHEL y colab. 1971. LAZARIDES 1975. 1976. TRENCHEV y colab. 1974) y citoquimia - ultraestructural (GOLDMAN 1975. GOLDMAN y colab. 1975) (ISHIKAWA 1969). Con ellos se comprueba que poseen activo-miosina (GABBIANI y colab. 1972) y muestran naturaleza contractil (GABBIANI y colab. 1972. MAGNO y colab. -- 1971).

A la vez que se efectuaban estos estúdios, distintos autores, de forma aislada, aportaban las diferentes/ localizaciones en tejidos normales y patológicos. Finalmente se han efectuado revisiones de conjunto al respecto de este problema, fundamentalmente en relación con -- las últimas adquisiciones (MASSINI y colab. 1977. ROLAND 1976).

Localizaciones.- En condiciones normales, han sido descritos en el sinovial (GHADIALLY y colab. 1971), - capsula de glándulas adrenales (BRESSLER 1973), capsula-

testicular (GORGAS y colab. 1974), alrededor de los túbu los seminíferos (BOCK 1972) villi de la mucosa duodenal- (GULDNER 1972) y septos de los alveolares pulmonares (KA PANCI y colab. 1974).

En su patología son numerosas las enfermedades en que se ha constatado la existencia de miofibroblastos en los tejidos afectos. Los procesos que con más frecuencia los presentan son los de naturaleza inflamatoria, -- tanto en patología experimental como humana; de esta forma se han observado en procesos inflamatorios relacionados con traumatismos (BAUR y colab. 1975. GABBIANI y colaboradores 1971. 1972 . HIRSCHEL y colab. 1971. MAGNO/ y colab. 1971.RYAN y colab. 1973) en cicatrices hipertróficas (BAUR 1975. GABBIANI y colab. 1972. HIRSCHEL y colaboradores 1971. RYAN y colab. 1973), y , en general en tejidos de granulación (GABBIANI 1971. MAGNO y colab. -- 1971. RYAN y colabs. 1974); tiende a predominar en la vecindad a las formaciones vasculares (GABBIANI y colab.- 1971. MAGNO y colab. 1971). Como se ha señalado, hay trabajos que demuestran su aparición en condiciones experimentales (GABBIANI y colab. 1976. ROLAND y colab, 1974).

Determinados procesos tumorales ó pseudotumorales también inducen la aparición de miofibroblastos ó pueden

estar formados por la proliferación de estos; así se han descrito en la microgliomatosis del sistema nervioso central (ARJONA y colab. 1978),fibroma óseo no osificante / (LINARES y colab. 1978), mixoma (FERRANS y colab. 1973), tumor de células de la granulosa (COOPER y colab. 1974), mesengimoma primitivo de hígado (LAGACE y colab. 1974),- fibromatosis circunscrita (FEINER y colab. 1976), fascitis nodular (WIRMAN 1976), fibrosarcoma e histiocitoma - fibroso maligno (CHURG y colab. 1977), enfermedad de DUPUYTREN y LEDDERHOSE (GABBIANI y colab. 1972), postulandose en esta última enfermedad que intervendrían en la - especial contractura que la caracteriza (DERMER y colab. 1974).

En distintos cuadros degenerativos se ha demostrado la existencia de miofibroblastos, tal como ocurre a - nivel del corazón en el síndrome carcinoide (BORDI y colaboradores 1972), amiloidosis endocrina en relación con tumores de la serie APUD (calcitoninoma -BOUTET y colab. 1974. PIEZ y colab. 1970-), insulinoma (LE CHARPENTIER - 1974) y en la ateromatosis, donde se presta a confusión con los elementos de la miointima transformados durante los cambios degenerativos (PARKER y colab. 1966), aunque para algunos, todos ellos corresponden a miofibroblastos (MUSSINI y colab. 1977)

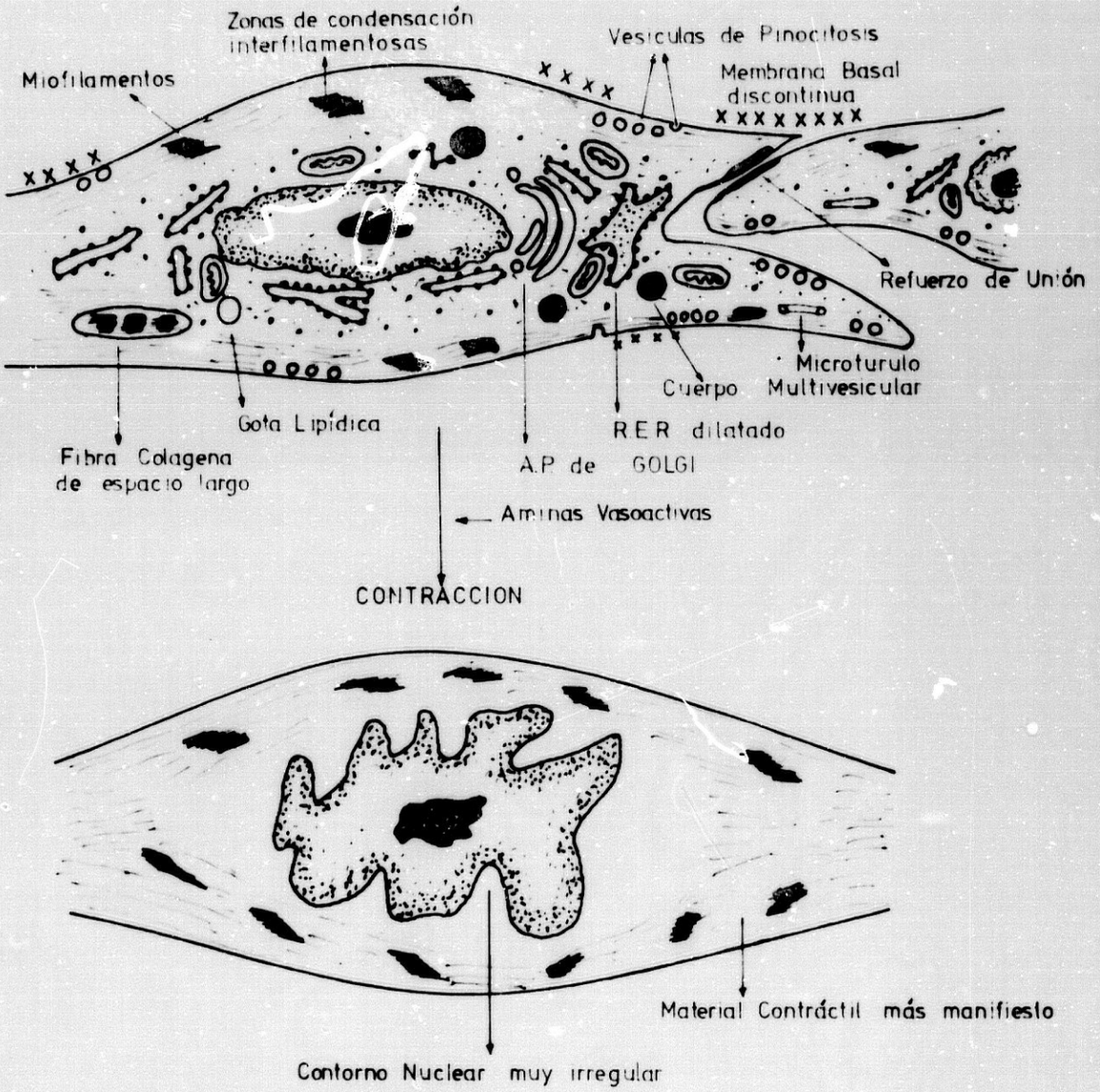
Estructura.- Los miofibroblastos aparecen como células elongadas o menos frecuentemente estrelladas, dotadas de ramificaciones o prosesos que, por lo general, -- adoptan posición bipolar.

El núcleo (esquema en página adjunta) es alargado u ovoide y muestra habitualmente numerosas escotaduras, que sólo, en ocasiones están ausentes , siendo frecuentes las áreas de constricción, hecho señalado como exponente dela capacidad de contracción celular (RYAN y colaboradores. 1973); suele presentar un aspecto estriado- por las condensaciones de su cromatina de forma lineal- y debajo de doble membrana nuclear; el núcleo es pequeño y generalmente único.

En el citoplasma se observan los organelos comunes a todo elemento celular, que tienden a predominar - en la región perinucleár, y algunos hechos específicos/ que se exponen a continuación:

A) Microfilamentos.- Se disponen de preferencia en- la proximidad de la membrana plasmática, sobre todo en - las prolongaciones ó procesos celulares. Con microscopia óptica pueden ponerse de manifiesto con la hematoxilina fosfotúngstica, aunque en ocasiones es muy dificil preci

CARACTERISTICAS MORFO-ESTRUCTURALES DEL MIOFIBROBLASTO



sar las áreas de positividad. Con microscopia electrónica (figura en página adjunta) presentan las siguientes características:

a) Espesor de 40 a 100 Á, aunque por lo general su rango se encuentra entre los 50 y 80; es decir similar al de la actina (RASH y colab. 1970. 1972).

b) Agrupación en bandas, que en conjunto suelen tener un espesor de 600 a 700 Á.

c) Estructura similar a la de los miofibroblastos de las fibras musculares lisas (RHODIN y colab. 1962) señalando algunos autores (GORGAS y colab. 1974) que a veces pueden adoptar estructura tubular. Muestran condensaciones irregulares con una mayor densidad electrónica a nivel de las bandas de filamentos (figura en página adjunta) adquiriendo un aspecto identico a las áreas densas de las fibras musculares lisas.

d) Se insertan debajo de la membrana superficial (figura en página adjunta) observandose a este nivel la existencia de placas granulares ó material denso; estas placas presentan un diámetro de 1.000 a 2.000 Á y quedan separadas por unos espacios de 100 a 200 Á de la membra-

na superficial ; también adoptan un patrón parecido a - las zonas de anclaje de las fibras musculares lisas y - probablemente tengan una función similar (LEAK y colabs. 1968).

e) mediante citoquimia ultraestructural se aprecia- un predominio de actina en el material filamentoso (GOLDMAN 1975. GOLDMAN y colab. 1975. ISHIKAWA y colab. 1969)

f) Por inmunofluorescencia se comprueban depósitos/ de anticuerpos anti-músculo liso (GABBIANI y colab 1972. 1976. HIRSCHEL y colab. 1971. TRENCHEV y colab. 1974) y la existencia de actina y tropomiosina (LAZARIDES 1975. 1976).

B) Mitocondrías.- Son pequeñas (figura en página adjunta); aparecen en variable número y se distribuyen por toda la célula.

C) Microtúbulos.- Se encuentran de forma aislada - (fig. en página adjunta) muestran 100 Å de espesor, predominan en la vecindad del aparato de Golgi y en ocasiones entre el material filamentoso.

D) Reticulo endoplàsmico rugoso y polirribosomas li

bres.-El R.E.R. es muy prominente y con numerosas cisternas que preponderan en el soma perinuclear (figura en página adjunta) y,a veces , se dilatan mostrando un contenido poco denso y finamente granular (figura en página-adjunta). Entre las cisternas de R.E.R. pueden aparecer/ polirribosomas libres; estos últimos se distribuyen en - variable proporción por todo el citoplasma.

E) Aparato de Golgi.-Es muy evidente y está formado por vario y pequeños dictiosomas en zonas vecinas al núcleo (figura en página adjunta).

F) Otras organelas y cuerpos intracitoplásmicos.- Se demuestran en variable proporción, lisosomas primarios, y a veces secundarios (figura en página adjunta) pueden contener partículas de hierro (LINARES y colab. - 1978), cuerpos multivesiculares (figura en página adjunta), algunas vesículas de micropinocitosis, gotas lipídicas etc,.

En la membrana celular destaca la presencia de uniones de refuerzo intercelular (GABBIANI 1972) que suelen aparecer, sobre todo, en las superficies identadas,/ en las cuales las prolongaciones de los miofibroblastos/ se ponen en contacto (figura en página adjunta); estas/

estructuras vemos que corresponden, en su mayoría, a u - niones del tipo de las máculas adherens, aunque algunos/ autores las han interpretado claramente como desmosomas- (MUSSINI y colab. 1977), mientras otros consideran que - en determinadas formas aparecen Gag junctions (ROLAND -- 1976) en directa proporción con las cifras de filamentos intracitoplásmicos, presentando este hecho como eviden - cia de fenómenos sincronizados de contracción, como ocu- rre en el músculo cardiaco y liso; en general las hemos- observado como aposición de superficies paralelas de -- membranas, con una separación de 80 a 120 Å y condensa-/ ción de material a su alrededor.

Adyacente a la membrana plasmática puede aparecer una membrana basal discontinua (GABBIANI y colab. 1976)

En el espacio intersticial se distinguen microfi- lamentos, que dan la impresión de insertarse en la superficie externa de la membrana celular; también se aprecian -- fibras de colágena que llegan en ocasiones a contac-/ tar con la membrana plasmática, material amorfo y varia- ble proporción de fibras elasticas.

Un hecho relativamente importante es la existen-/ cia de colágena de largo espacio incorporada en el cito- plasma de estas células, aunque en la mayoría de los ca-

sos es muy dificil precisar la estriación del material.

Función.- Las características funcionales están - en relación con su peculiar estructura, intermedia entre la de los fibroblastos y fibras musculares lisas; de esta manera, además de las funciones generales de toda célula, posee en mayor grado las de contracción (propia de las fibras musculares lisas y de otros elementos celulares) y de secreción del material intercelular (típica de los fibroblastos). En lo que respecta a la contracción,- hoy dia es bien conocido el hecho de que multiples células pueden contener proteinas contráctiles (BURRIDGE y colab. 1975. GABBIANI 1973.1978. HITCHOK 1977. ISHIKAWA 1969. LAMPERT y colab. 1974. LAZARIDES y colab. 1974. POLLARD y colab. 1974), dispuestas constituyendo microfilamentos ; se ha señalado (ABERCROMBIE 1961. ABERCROMBIE y colab. 1956. 1958. 1960)que la retracción del tejido de/ granulación se debe principalmente a la acción de los - fibroblastos más que a modificaciones de las fibras y - sustancia fundamental ; por otra parte, se ha demostrado que los miofibroblastos poseen capacidad contractil (GABBIABI y colab. 1972. RYAN y colab. 1974) e incluso, se/ han efectuado experiencias mediante estimulación electrica , administración de noradrenalina, prostaglandinas -- etc. ó en condiciones de hipoxia ó anoxia etc.

(ASCHOFF 1913. GORGAS y colab. 1974. GULDNER y colab. / 1972. RYAN y colab. 1974), habiendose observado que tienen un respuesta desigual, dependiendo de los sitios en/ que se encuentran y estímulo aplicado. De esta manera, - en la capsula testicular se contraen por estimulación electrica a los 0,5 minutos y por administración de noradrenalina (BELL y colab. 1973) ; En los tejidos de granulación responden a los 10 minutos de la administración - de prostaglandina (RYAN y colab. 1974), mientras no reac--cionan a la adrenalina y noradrenalina (RYAN y colabs. 1974); finalmente en el parenquima pulmonar se activan a los 40 minutos de hipoxia ó anoxia tras la aplicación de adrenalina (KAPANCI y colab. 1974).

En lo que respecta a la capacidad de secreción, - se ha puesto de manifiesto que pueden formar colágena inmadura tipo III (GABBIANI y colab. 1976).

Así mismo es de destacar el intenso desarrollo / del R.E.R. con dilatación de sus cisternas y aparato de Golgi, indice de dicha actividad secretoria. Por otra - parte se ha postuladosobre la reabsorción de lípidos por esta célula (MONSS y COLS 1970).

Significado y estado actual del concepto de miofi

broblasto.- De lo expuesto previamente se deduce que el/ miofibroblasto muestra caracteríticas intermedias entre los fibroblastos y las fibras musculares lisas; la primera cuestión es si posee peculiaridades que permitan - considerarlo como una nueva entidad celular ó , por el - contrario, sea sólo el exponente de una adaptación de -/ distintos tipos celulares, procedentes de un mismo tronco común, ante diversas cincunstancias.

Asistimos en la actualidad al nacimiento de un nuevo concepto y por ello no es extraño los numerosos - trabajos que han surgido y surgiran, intentando establecer ó comunicar todos los sitios en que se encuentran - células de la misma naturaleza o aportando datos histofisiológicos, con tecnicas especiales (citoquimia, inmunofluorescencia, cultivo de tejidos etc.)

El considerarlo como una nueva entidad celular peculiar y no como un elemento modificado es muy problemático, ya que hay argumentos favorables a ambas hipótesis Por una parte, en cultivos de fibroblastos (ABERCROMBIE 1961. ABERCROMBIE y colab. 1971. AMBROSE 1961. DAVIS y - colab. 1964. GOLDBERG y colab. 1964. LAZARIDES 1976. PERDUL 1973. WESSELLS y colab. 1971. Se ha demostrado la aparición de filamentos en la periferia del citoplasma --

(GOLDBERG 1964), así como conexiones intercelulares (DAVIS Y COLS 1964); también se ha comprobado que estos filamentos poseen actino-miosina (MAGNO Y COLS 1970) e incluso se ha llamado la atención sobre la presencia de células con características intermedias entre fibroblastos y fibras musculares lisas (MOSS Y COLS 1970). Estas últimas, a su vez, en determinadas circunstancias (ROSS 1971 ROSS Y COLS 1971) aumentan su capacidad secretoria con desarrollo del R.E.R. y disposición periférica de los filamentos contráctiles, habiéndose demostrado en cultivo/ de tejidos y en leiomiomas fibróticos (GARFIELD Y COLS - 1975. LAYMAN y COLS 1975. MORALES Y COLS 1975) que pue-/ den producir colágena.

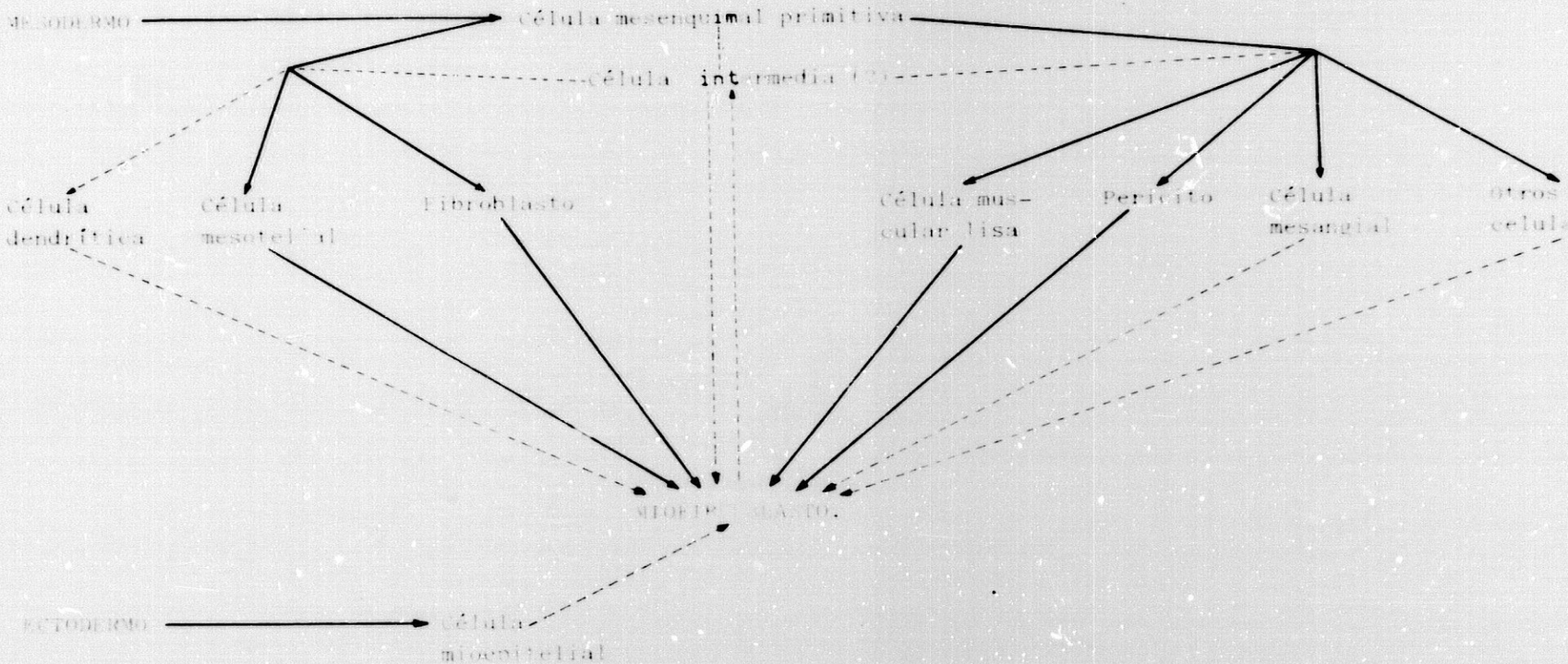
Todos estos hechos parecen indicar que el miofi-/ broblasto representa un elemento intermedio entre fibroblasto y fibra muscular lisa, que puede derivar de células mesenquimales primitivas, fibroblasto ó fibras musculares lisas.

En sentido contrario están los siguientes hechos: gran abundancia de microfilamentos, que poseen inmuno -- fluorescencia con suero antimúsculo liso; refuerzos de/ unión intercelulares tan manifiestos; zonas de condensación en las bandas filamentosas; identaciones nucleares;

respuesta farmacológica, in vitro, de contracción ó relajación que recuerda a la del músculo liso; R.E.R. muy manifiesto; aparato de Golgi desarrollado y membrana basal discontínua. Mediante estos datos se puede postular que/ debe ser considerado como un elemento con característi-/ cas propias.

Nosotros creemos que el concepto de miofibroblasto ha experimentado una gran hipertrófia y que es expo-/ nente de un origen común para las células endoteliales,- pericitarias, fibroblásticas y musculares lisas, de manera que los elementos surgidos en esta línea pueden tener caracteríticas de las distintas variantes.
(esquema en página adjunta)

RELACION DEL MIOFIBROBLASTO CON OTROS TIPOS CELULARES



Tomado de Mussini, J.M. ; Slabodsky-Brousse, N. ; Henin, D. y Turpelin, F. Pathol. Biologie. 147-184, [illegible].

2-3.- FISIOLOGIA DE LA PIEL Y SUS ANEJOS

La piel cumple las siguientes funciones:

A) Aislamiento y Protección Frente a Agentes Ex-- ternos Mecánicos, Fisicos y quimicos.- Por una parte es prácticamente impermeable no sólo al agua, sino también a numerosos compuestos quimicos que se absorben rapidamente si falta la cubierta epidérmica. Por otro lado, - protege a las estructuras subyacentes de la acción de- la luz solar y otras radiaciones. Finalmente su elasticidad, compresividad y capacidad de deformación evitan al organismo la actuación nociva de los agentes mécanicos.

B) Conservación de las Constantes del Medio Interno.- Por razón de su misma impermeabilidad, y por medio de la circulación cutanéa y de la sudación, desempeña - un papel esencial en la conservación de la temperatura- y regulación de los fluidos del medio interno.(homeostasis).

C) Secreción.- A través de su formidable aparato - glándular constituido por la suma de glándulas sudoríparas y sebáceas.

D) Percepción.- Gracias a su riqueza en terminaciones nerviosas sensitivas.

E) Excreción.

2-3-1 Aislamiento y Protección Frente a Agentes Externos.- Frente a la penetración de cuerpos extraños sólidos, líquidos o gaseosos, y contra radiaciones e insultos mecánicos, la piel constituye una verdadera entidad/ funcional con una serie de mecanismos que se modulan con facilidad para adaptarse a los cambios ambientales adversos. El conjunto de los mismos puede dividirse en:

a) Formación y funciones de la queratina.
b) Formación y funciones de la melanina.
c) Funciones de la dermis.

2-3-1-1 Formación y Funciones de la Queratina.- Como decíamos al estudiar la histología de la epidermis/ en ella pueden distinguirse dos estratos completamente diferentes desde el punto de vista fisiológico : el germinativo ó epidermis -viviente- y la capa córnea ó epidermis -muerta-. Las células basales entran en la mitosis y la célula neoformada desplaza a otro elemento vecino que asciende progresivamente a la capa córnea donde/ se arruga, pierde su núcleo y se elimina por descamación. Este proceso de contínua renovación dura tres o cuatro semanas (27 o 29 días) y es el ritmo mitótico de/

la epidermis.

Las investigaciones autoradiográficas han demostrado que la síntesis de DNA queda estrictamente limitada a la capa basal. Hay algunos factores que pueden influir el ritmo mitótico y la queratinización. Así, por ejemplo, tanto la vitamina A como los andrógenos actúan como estimulantes en este sentido. El papel de los estrógenos es dudoso.

Las hormonas suprarrenales actúan como inhibidoras y lo mismo hace la adrenalina.

Las células, una vez cornificadas, pierden su núcleo y parte del citoplásma, menos en palmas y plantas, donde la cornificación es incompleta y sólo pierden el núcleo.

La descamación es más intensa en cuero cabelludo, frente, palmas y plantas que en otras regiones del cuerpo, alcanzando cifras de 2,1 a 3,5 g. de células córneas por dia y centimetro cuadrado.

El tránsito desde la capa basal a la granulosa dura unos 14 días y el tránsito a través de la capa cór--

nea un periodo de tiempo parecido.

Los elementos cornificados están compuestos en- su mayor parte de una fibroproteína denominada queratina. La piel se comporta como una enorme glándula holocrina y fabrica la queratina en proporción a sus necesidades. Si efectuamos un pelado repetido de la capa córnea, mediante esparadrapo ó papel celo, vemos como al cabo de un tiempo se produce un agrandamiento de las células epidermicas y un aumento de mitosis en la basal.- Los queratinocitos son muy sensibles a los cambios externos y a las alteraciones de la dermis.

Pero la queratina no es una proteína fibrosa uniforme. No hay una sola queratina, sino varias fibroproteínas adaptadas plenamente a determinadas funciones.-- Por ejemplo, hay la queratina blanda ó esquizoqueratina propia del estrato córneo, y en pelos y uñas encontramos la queratina dura ó escleroqueratina. Su composición quimica es diferente.

En el proceso de formación de queratina o queratogénesis hay que distinguir dos: a) La queratinización morfológica, y b) La queratinización bioquímica.

El sustrato anátomico de la queratinización morfológica muestra tres fases: a) Desarrollo de productos de diferenciación (tonofilamentos y gránulos de queratohialina); b) Descomposición del núcleo, y c) Descamación y coalescencia de los componentes celulares.

El mecanismo de diferenciación de los tonofilamentos se inicia en la capa basal y en la parte periférica de las células y no cesa hasta la capa córnea. Los tonofilamentos de estructura tubular, con una parte central clara y otra más oscura, a manera de vaína, rodeados por un cemento amorfo interfilamentoso, miden inicialmente unos 50 Å., y en sus fases iniciales son posiblemente un sistema macromolecular con ordenación definida, que se precipita por la fijación artificial. Paulatinamente van madurando, aumentando de tamaño, de manera continua, hasta alcanzar en la capa córnea 70 Å. - En un principio se observan aislados ó en pequeños grupos y envueltos en un citoplasma rico en partículas deribonucleoproteínas de los ribosomas. A medida que la - célula alcanza mayor altura hay cada vez menos ribonucleoproteínas y más filamentos porque los ribosomas van sintetizando queratina. Al propio tiempo se produce una agregación activa de los filamentos. En la capa granulosa todavía se conserva la identidad de los tonofilamen-

tos, pero en la capa córnea se observan en gran canti-- dad, dispuestos en forma de red, con espacios interfi-- brilares ocupados por sustancia amorfa.

El papel de los tonos filamentos en la formación de queratina es discutido. Para Brody constituyen el -- componente más importante. Mercer les asigna una impor tancia relativa. Para Jarrett, los tonofilamentos no -- contribuyen de manera alguna a su formación.

El -cemento amorfo osmiófilo- que rodea los tono filamentos sería el precursor de los granos de querato hialina. Iniciandose también en la basal, se condensa - progresivamente formando grandes masas en el estrato -- granuloso, las cuales se entremezclan con los tonofila- mentos de lacapa córnea.Tanto los tonofilamentos como - los gránulos de queratohialina sirven esencialmente pa ra la producción del estrato córneo final.

El papel de la queratohialina no está establecido con exactitud. Desde su aparición posee una estructu ra interna que sugiere el patrón completamente ordenado de la capa córnea. Según Brody sería el inmediato pre-- cursor de la queratina, puesto que cuando aparece se -- produce un brusco aumento de la capacidad de los tonofi

lamentos.

Para Jarrett, la queratohialina es el único componente de la queratina propiamente dicha. Posee una estructura particulada, de forma irregular y de una longitud promedia de unos 2 mm. y en su composición entra una considerable cantidad de prolina y cistina, y en cambio sólo una escasa cantidad de histidina. El hecho de que contenga prolina va en contra de una estructura helicoidal en alfa-hélices y un indicador de unas cadenas polipéptidas dispuestas al azar, pero su contenido en cistina iría en favor de un papel muy importante en este sentido.

El papel de los desmosomas en la queratinización no es bien conocido. Es posible que no solo constituyan zonas de cohesión entre las células, sino que sirvan de puntos de apoyo para la orientación de los tonofilamentos.

También el cemento intercelular mucopolisacárido de la epidermis se descompone durante la queratinización. Una alteración enzimática del proceso de desintegración o una anomalía de su constitución puede originar trastornos de la queratogénesis morfológica.

Finalmente no se sabe bien todavía el papel que desempeñan los queratinosomas de Selby y Odland (cuerpos de Odland). Recientes estudios sugieren la posibilidad de que actúen como lisosomas producidos por los queratinocitos. Su número es variable en un mismo individuo si se observan a diferentes intervalos y desaparecen en el espacio intercelular formando estructuras laminares. Ya hemos indicado que son particularmente numerosos en procesos en que existe un -turnover- rápido de queratinización (ictiosis epidermolítica, enfermedad de Darier...). Los llamados "componentes polimorfos que se hallan en la psoriasis serían acaso cuerpos de Odland, que a causa de la rapidez con que se produce la queratinización no han podido ser eliminados. Estos corpúsculos iniciarían acaso la queratinización, probablemente proporcionando materiales que se ven inyectados en el espacio intercelular, o se condensa sobre la membrana celular.

En la capa córnea se produce una brusca desaparición de los organelos celulares del núcleo de la queratohialina. En el proceso de cornificación de la célula queda eliminada la mayor parte del citoplasma, quedando el centro celular más claro por eliminación del núcleo y desaparición parcial del citoplasma. Ello dá lugar al

aspecto en " cesta de mimbre" caracteristico de las zonas queratinizadas.

Por lo tanto, cada célula se queratiniza independientemente; su crecimiento, reproducción y diferenciación son siempre lineales en cualquier parte de la epidermis.

Biofisica de la Queratina.- Desde el punto de vista biofisico, la queratina está compuesta por dos clases de moléculas, una proteína fibrilar lineal y cristalina ó fibro-proteína y otra amorfa que envuelve como una matriz a la primera. La proteína amorfa se deriva de los gránulos de queratohialina entre mezclados con sustancias nucleares, tiene una constitución globular y es abundante. Ello explica que la queratina de la piel sea una queratina blanda.

Los tonofilamentos, que como hemos dicho miden unos 20 Å., y consisten probablemente en dos-tres cadenas protéicas enrrolladas; un determinado número de ellas agrupado constituye la periferia del tonofilamento. El centro tendría estructura similar, pero no se conoce bien la morfología biofísica del conjunto. Según Swanbeck sería muy parecida a la de un cable en su tota

lidad. Wilkinson, en cambio, cree que la configuración-helicoidal está presente sólo en parte de la molecula--la otra mostraría una orientación lineal y a está seguiría otra hélica.

Las cadenas de aminoácidos, que forman la fibroproteína, quedarían de esta forma estabilizadas al arrollarse en espiral, esquema mecánico adoptado por otras-fibras que necesitan efectuar resistencia. Por ejemplo, la queratina blanda estaría formada según algunos, por-7 a 9 hélices (Pauling y Core, Swanbeck), estrechamente apretadas formando alfa-cables, y cada hélice estaría - formada por siete diferentes tipos de cadenas de poli--péptidos, en alguna de las cuales han podido ser comprobadas determinadas secuencias de aminoácidos. Se han - propuesto o sugerido varios tipos de "subundades" de -- prequeratina pura con pesos moleculares oscilantes en-tre los 50.000 y 640.000, esta última por una longitud-de partícula de 15mm. y un diametro calculado de 3,7mm Sin embargo, todas estas suposiciones necesitan ulteriores confirmaciones.

Queratinización Bioquímica.- Desde el punto de - vista bioquímico, la fibroproteína es una esclero-pro--teína con sólo un 5% de azufre y un 20% de nitrógeno (N)

La queratina blanda propia del estrato córneo posee hasta un 20% de proteína soluble en agua, un 10% de material dializable y un 5% de membranas celulares, y tiene menos azufre que la de pelo.

Es resistente a los álcalis diluidos y ácidos enérgicos. Insolubles en agua y otros solventes orgánicos, su disolución en álcalis sólo se consigue por desnaturalización. Es resistente a la autólisis. La del pelo es todavía más insoluble; menos atacable, no se reduce por el permanganato potásico y tiene poca grasa.

Los aminoácidos y polipéptidos de la piel son los que contribuyen en mayor escala a la queratinización. La queratina contiene una gran cantidad de tirosina y, lo que es más importante, aminoácidos sulforados (cistina y cieteína) y tanta más cistina cuanto más nos elevamos en la epidermis.

La queratina del pelo y uñas (queratina dura) contiene más cistina que la de la piel.

Los aminoácidos básicos más importantes se hallan en proporción definida .histidina (1), lisina (4), arginin (12).

Los aminoácidos ácidos, en forma de asparagina,- y glutamina. La queratina del pelo es mucho más rica en tirosina que la de la piel y es la que ha sido mejor estudiada por razón de su valor económico (lana). Se han hallado en ella 18 aminoácidos situados en largas cadenas de polipéptidos; y hay el doble de cadenas laterales derivadas del ácido aspártico y glutámico que cadenas laterales derivadas de la arquinina, histidina y lisina.

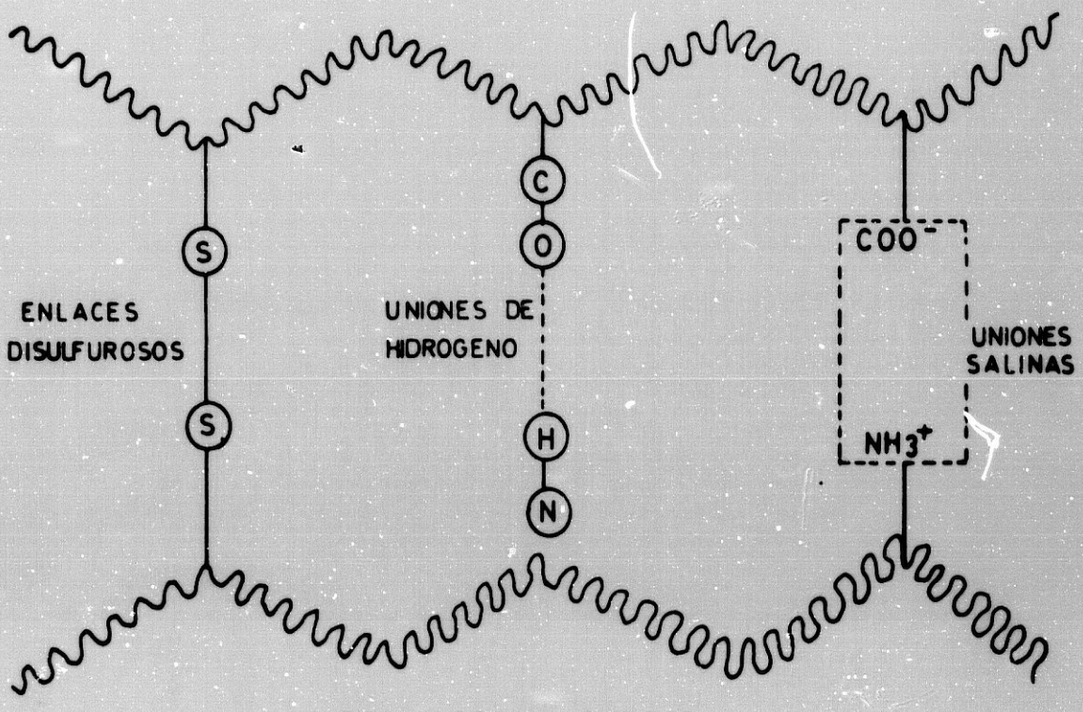
Por lo tanto, desde el punto de vista bioquímico no puede hablarse de una sola queratina. En el mismo pelo existen distintas queratinas que pueden diferenciarse incluso con coloraciones histoquímicas (córtex, médula, cutícula externa, etc.). Pero a pesar de ello la - queratina blanda y la dura no son esencialmente distintas, púes sólo tienen diferencias cuantitativas en su - contenido en proteínas fibrosas y globulares.

Para la biosíntesis de queratina las células epidérmicas adquieren materiales procedentes de la dermis a través del endotelio de los vasos y merced a las fosfatasas alcalinas de las paredes de los mismos. El material recogido consiste en glucosa, que la célula polimerizará y utilizará como fuente de energia, a través -

de la fosforilización y glucosa-6-fosfato. Para el ca-- tabolismo de la glucosa la célula puede utilizar dos - vías principales, la secuencia glicolítica (Embden-Me-- yerhof) con oxidación subsiguiente a ácido tricarboxíli co (Krebs) o bien la vía de la hexona-monofosfato (War- burg). En aminoácidos y fosfátidos procedentes de los - ácidos nucleicos, con los que y por actuación de los ri bosomas se forman moldes gracias a la información trans mitida por el DRNA del núcleo.

Al organizar progresivamente los aminoácidos en- polipéptidos que después se hacen insolubles por esta-- blecimiento de enlaces covalentes entre sus moléculas,- los ribosomas van formando la queratina. En lípidos, -- que pueden entrar también en el ciclo tricarboxílico -- vía acetil-coenzima A y tienen posiblemente un importan te papel como sustrato endógeno para la respiración cé lular, sobre todo por lo que se refiere a ácidos grasos y por tanto influyen decisivamente en la formación de-- queratina.

Como hemos indicado, en la red de Malpighio el-- azufre de la queratina se halla en forma de cisteína y en la capa córnea en forma de cistina. No se conoce --- exactamente de dónde provienen estas proteínas sulfura



CADENA DE AMINOACIDOS

UNIONES CRUZADAS DE LA MOLECULA DE QUERATINA

das, púes ni los tonofilamentos ni los gránulos de queratohialina contienen mucho azufre; acaso se deriven de los aminoácidos de las ribonucleoproteínas y desoxiribo nucleoproteínas, púes se hallan depolimerasas de estos ácidos a nivel de la granulosa.Lo cierto es que los filamentos precursores van solidificándose gracias al enriquecimiento progresivo de azufre que les confiere cada vez más enlaces disulfurosos por la acción de enzimas hidrolíticas, muy abundantes en las partes altas de la epidermis, especialmente en la granulosa. Los grupos SH-SH van transformandose en uniones S-S, y la cisteína en cistina. Inicialmente la alfa-queratina es una mezcla de microfibrillas con contenido relativamente pobre en cistina, pero que está embebida en una atmósfera algo más rica en esta sustancia que más adelante será predominante.

La transformación de los grupos SH-SH en S-S permite la consolidación característica de la queratina. - Al aumentar el contenido en azufre va aumentando su fuerza mecánica.

La transformación de cisteína en cistina es especialmente visible en los puntos en que se producen queratinas duras. El pelo y las uñas se queratinizan --

más que la capa córnea tienen una estructura más sólida y su mayor estabilidad fuerza y resistencia se debe a - su mayor contenido en enlaces disulfurosos. La capa córnea, con menos enlaces disulfurosos, tiene una unión -- más laxa de sus células que se desprenden por descama-- ción. Con medios histoquímicos se ha comprobado que la- cistina de la capa córnea se distribuye preferentemente en la periféria del citoplasma de las células, pero la- del pelo y la de las células paraqueratósicas no muestran esta distribución periférica.

Es muy posible que gran parte del proceso de queratinización de la célula y el de eliminación de restos culturales se verifique en la capa granulosa. En esta - capa se organizan muchos de los fenómenos paralelos de- la consolidación de la proteina fibrilar y la diferen-- ciación o formación de los compuestos solubles a partir de las proteinas globulosas y restos célulares y aminoá -cidos libres, es decir, las sustancias no fibrosas.

La capa granulosa normal contiene numerosas en-- zimas (fosfatasas ácidas y alcalínas, glucosa-6-fosfatasa, adenosín-trifosfatasa, cisteína disulfurasa, 5-nu-- cleotidasa, oxidasas, lipasas, B-glucuronidasas y esterasas no específicas) y además iones metálicos (Ca y Mg)-

que actuán como mordientes, así como fosfolípidos, grupos sulfhidricos, lípidos, etc...que colaborarían al proceso de cornificación.

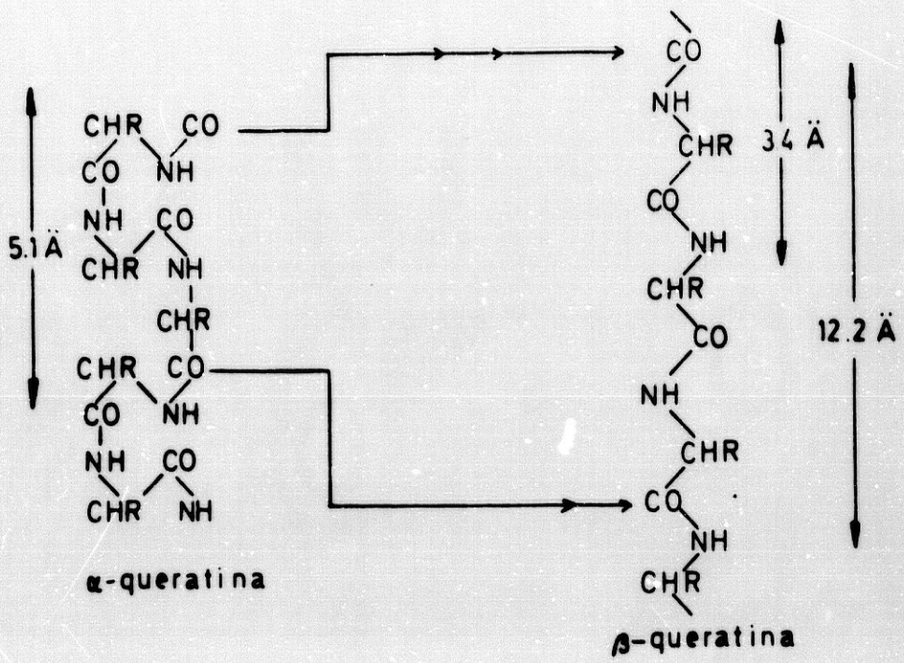
La estabilidad de las cadenas de las macromolécu las de la queratina queda asegurada: por los grupos thioles disulfurosos(S-S) que acabamos de describir como resultantes de la oxidación de residuos de cisteína y transformación en cistina; por uniones salina COO y NH_3 de las cadenas péptidas que constituyen enlaces más debiles; por uniones polares de hidrógeno NH-CO, con importante función estabilizante, y finalmente por fuerzas de Van der Wals que contribuyen también a reforzar la cohesión.

Estructura de la queratina ver página adjunta.

Las largas cadenas de polipéptidos de la queratina al organizarse pueden adoptar dos estructuras diferentes:

a) La de la alfa-queratina, componente de la capa córnea, en la que la molécula está plegada.

b) La Beta-queratina, que sólo se halla en las plu



Estructura de la queratina segun ASTBURY

En la queratina α, las cadenas de aminoacido están plegadas en la β. estiradas

mas de las aves y escamas de reptiles. La estructura de la queratina es reversible, púes por la acción de determinados agentes; la molécula puede estirarse.

El hecho de que la molécula de queratina está replegada puede demostrarse facilmente. Un cabello humedecido puede alargarse cerca de una vez y media su longitud normal. Por medíos físicos puede estabilizar este estiramiento o adaptarlo en diversas formas.

Los agentes queratóliticos como los álcalis fuertes disuelven la queratina. Las cremas con disulfuro de bario disuelven el pelo y por ello se usan como depiladoras.

Estos álcalis atacan las uniones entrecruzadas disulfurosas, con lo que la parrilla filamentosa de la queratina se separa y además las cadenas protéicas se hidrolizan liberando los componentes aminoácidos.

Otros productos distintos de la queratina.- El estrato córneo es más que queratina, es la tumba de sustancias eliminadas durante la continuada muerte de las células epidérmicas, degradadas y excretadas pasivamente. Son subproductos de la queratinización, pero no ma-

teriales inútiles. Hay proteínas hidrosolubles, aminoá-cidos, azúcares, ácido úrico, urea, colesterina, minerales etc...Una vez verificada la estracción de las estructuras córneas con solventes de lípidos y agua, la capacidad de retención del agua de la capa córnea queda notablemente disminuida, probablemente por la eliminación de ciertos componentes higroscópicos. Un efecto similar se obtiene mediante determinados detergentes con los que el estrato córneo queda quebradizo incluso después de humedecido. Los subproductos sirven, púes, emulsificantes buffers, y para mantener la integridad de la superficie, porque aunque parte de su grasa proviene de las glándulas sebáceas, las células córneas contribuyen también a la cubierta lípida, formando la grasa "epidermógena".

Permeabilidad de la piel.- La queratina no sufre degradaciones porque los micro-organismos son incapaces de atacarla y se acumulan en el estrato córneo porque es indigerible. La piel difiere de las mucosas que eliminan constantemente las células más externas, en que la capa córnea forma una membrana continua que no descama sino después de un determinado periodo .

De esta forma la epidérmis actúa como una capa--

impermeable a la penetracción de sustancias externas y- no dejando pasar los fluidos interiores; incluso aislada de la dermis conserva su impermeabilidad. Por otro-- lado, la capa córnea es higroscópica púes contiene sustancias hidrosolubles que se unen facilmente al agua. - Al secarse la capa córnea se vuelve frágil pero se mantiene todavía plegable si contiene un 10% de agua.

Frente a los liquidos las células córneas se hinchan, pero el estrato mucoso queda inafectado. Esta es la razón por la que la mayor parte de las bases de cremas y pomadas denominadas penetrantes son de resultados prácticos limitados. La piel sólo es permeable para las moléculas muy pequeñas y a altas concentraciones.

Se cree que hay una barrera frente a la penetración, pero su localización es un problema todavía sujeto a discusión. Después de numerosas investigaciones mediante "pelados" repetidos de la epidérmis con papel celo, la mayor parte de autores creen que es la totalidad del estrato córneo la que forma la barrera que limita - la entrada de moléculas procedentes del exterior.

La barrera córnea, desde el punto de vista quimico, tiene una gran riqueza en lipoides, sobre todo en -

colesterina. Comienza a regenerarse a las 12 horas del-pelado y su regeneración es completa a los dos o tres-dias.

No se conoce tampoco exactamente la vía y el mecanismo de absorción a través de la epidérmis. Teoricamente algunas sustancias podrían penetrar la piel a través de los orificios pilosebáceos e incluso por los poros sudoríparos hasta la dermis. De hecho esta vía transanexial ha sido demostrada histoquímicamente y al microscopio de fluorescencia para varías sustancias, pero la mayor parte de las que penetran lo hacen por vía -- transepidérmica. Es algo diferente la forma de penetración de las sustancias polares y las no polares. Las -- primeras lo hacen a través del agua inmovilizada en la-epidérmis. Las segundas se disulven en el material lípido que forma la matriz entre los filamentos proteicos - de la epidérmis. Para algunos autores, la penetración - se realiza por vía intercelular; para otros, por camino transcelular. Existe una difusión pasiva.

La vasodilatación actúa de la misma forma en tanto que la vaso constricción obra de manera opuesta. Los agentes que actúan desnaturalizando o eliminando la capa córnea son muy activos en este sentido, y finalmente

la oclusión de la piel mediante plásticos, al hidratar- y aumentar la temperatura local, destruye la barrera -- anatómica y eleva notablemente el nivel de absorción -- percutanéa. Esto se aprovecha en terapéutica local para obtener la actuación más potente de determinados medicamentos. La permeabilidad de la piel aumenta de 4 a 5 veces.

En la actualidad se utilizan sustancias que aumentan la penetración de múltiples drogas a través de - la epidermis. El más conocido es la dimetilsulfóxido -- (DMSO) que permite el paso de medicamentos sin producir alteraciones anatómicas. Resultados parecidos pueden obtenerse con el empleo de dimetilacetamida y dimetilformamida.

Muchas dermatosis alteran notablemente la barrera epidérmica y facilitan la absorción de medicamentos. -- Por ello debemos ser cautos en el empleo de terapéuticas tópicas en grandes superficies. Por ejemplo, las - erosiones o úlceras facilitan el que una medicación tan inocua como el ácido bórico pueden llegar a producir -- síntomas tóxicos si se aplican durante mucho tiempo. -- Los tratamientos anteriores han podido alterar también las condiciones de absorción de la piel.

El conocimiento de las posibles variaciones de-- la absorción percutanéa en diferentes estados o condi-- ciones fisiológicas es muy importante para el estudio - del eczema de contacto, para la interpretación de los - "patch-test", los efectos buenos e indeseables de los - medicamentos empleados en forma tópica, así desde el - punto de vísta cosmético y toxicológico.

El mayor espesor de la capa córnea no indica necesariamente mayor impermeabilidad; por ejemplo, la epidérmis, de las plantas es menos impermeable que la de - la pared abdominal, pero es evidente que esta capa es - la que proporciona la mayor parte del poder de protección. Un ejemplo demostrativo es la fácil penetracción de la anestesia en las mucosas, por simple contacto externo. Asimismo, por lo menos teóricamente algunas sustancias podrian penetrar en la piel a través de los orificios de los folículos pilosebáceos, e incluso por los poros sudoríparos hasta la dermis. Si bien hasta hace - poco tiempo se admitia esta posibilidad y algunos trabajos experimentales parecían demostrarlo, en la actualidad se cree que estas vías de absorción son dudosas. No ha podido ser demostrada que la piel de las palmas, a - pesar de las numerosas glándulas sudoríparas que en -- ella abocan.

Hay una serie de factores que pueden favorecer la absorción a través de la piel de determinadas sustancias. La eliminación; mediante solventes, de los lípidos de la película grasa que la recubre facilita la transpiración/ y al propio tiempo la penetración de líquidos. Los agentes que actúan desnaturalizando ó eliminando la capa córnea son muy activos en este sentido. Ello tiene gran importancia en el establecimiento de los eczemas de contacto profesionales.

2-3-1-2 Formación y Funciones de la Melanina.- -- Otra función protectora de la piel consiste en la regulación de la penetración de la luz a través de la piel. Esta función depende de la actividad de los -melanocitos-, células especializadas que forman una red horizontal situada en la unión dermoepidermica. La adaptabilidad a esta función se demuestra de una manera significativa, si se considera que la pigmentación de las diferentes razas humanas tiene una distribución geografica acorde con la intensidad de radiación solar. No obstante hay excepciones.

Los melanocitos forman gránulos de pigmento denominado melanina que se halla en unos organelos llamados/ melanosomas, que se van formando en el citoplasma de

aquéllos.Por tanto, los melanocitos pueden ser considerados como unas glándulas exocrinas unicelulares que -- constantemente están segregando estos organelos, alta--- mente especializados, y los inyectan a las células epiteliales vecinas. Los melanosomas contienen el pigmento melanina estrechamente unido a la matriz proteica que - constituye la estructura del melanoma formando -melanoproteina-.

La melanina cumple su función protectora eliminando la penetración de una gran parte de la luz que incide sobre la superficie de la piel.La luz queda absorbida por aquella sustancia que actúa como filtro. La penetración a través de la epidérmis depende también de - la longitud de onda del rayo incidente. Los rayos in-- frarrojos y la luz visible, es decir, los situados por- encima de los 400nm., penetran más profundamente que -- los ultravioletas, de longitud de onda más cortos. El - eritema actínico o enrojecimiento de la piel producido- por la acción del sol se produce por radiaciones situadas entre los 254 y 320 nm.

El bronceado de la piel se produce en gran par--- te por la acción de las mismas longitudes de onda que - el eritema solar 280 a 320nm y otros situados entre los

300 y 650 nm.Y se caracterizan fundamentalmente por la formación de nuevos melanosomas conjuntamente con un aumento de producción de los queratinocitos.

Si falta la pigmentación, como sucede con los albinos, la piel sólo tolera exposiciones minimas a la luz solar y con facilidad se producen quemaduras, senilización actínica de la piel y cánceres. Las neoplasias cutáneas son raras en el negro, y la distribución geográfica del cáncer de la piel está estrechamente relacionada con la de la melanina. No obstante, los acúmulos de melanina en la piel no tienen sólo ventajas, y a veces pueden tener sus inconvenientes. Por ejemplo, los negros están más predispuestos al raquitismo que el blanco, en igualdad de condiciones, y por otra parte las pieles pigmentadas retienen la carga calórica más que las blancas.

Distribución de los melanocitos.- El número de melanocitos de toda la piel es aproximadamente de unos dos billones, que en total pesan poco más de un gramo.- Estas células están distribuidas simetricamente, pero su densidad por unidad de superficie no es la misma en las diferentes regiones. Las zonas más pigmentadas son las de mayor densidad, aunque puede suceder que la pig-

mentación más acusada sea debida sólo a que funcionen-- más energicamente. Con la edad se reducen notablemente- los melanocitos DOPA-positivos de la epidérmis.

En realidad existe una gran variabilidad en su - distribución y tamaño. Se hallan concentrados alrededor de los folículos pilosos y es en estos puntos donde se- inicia el proceso de repoblación pigmentaria en casos - en que se logra la curación de afecciones que cursan -- con depigmentación. Hay también mayor número en la cara y genitales por milimetro cuadrado que en otros puntos- del cuerpo, oscilando según las regiones entre los 400a 2.784,5, según Starico y Pinkus, con un promedio de --- 1560/mm^2...Por otro lado, además de la epidermis pueden- hallarse melanocitos en los folículos pilosos, en la -- dermis, en el ojo, en torno a los vasos en los nervios- periféricos, en la cadena simpática, en el cerebro y meninges y en el revestimiento de la cavidad celómica, -- además de otros tejidos.

No se conoce ninguna enfermedad caracterizada -- por la ausencia de melanocitos. En los albinos lo que - sucede es que estás células no funcionan desde el nacimiento.

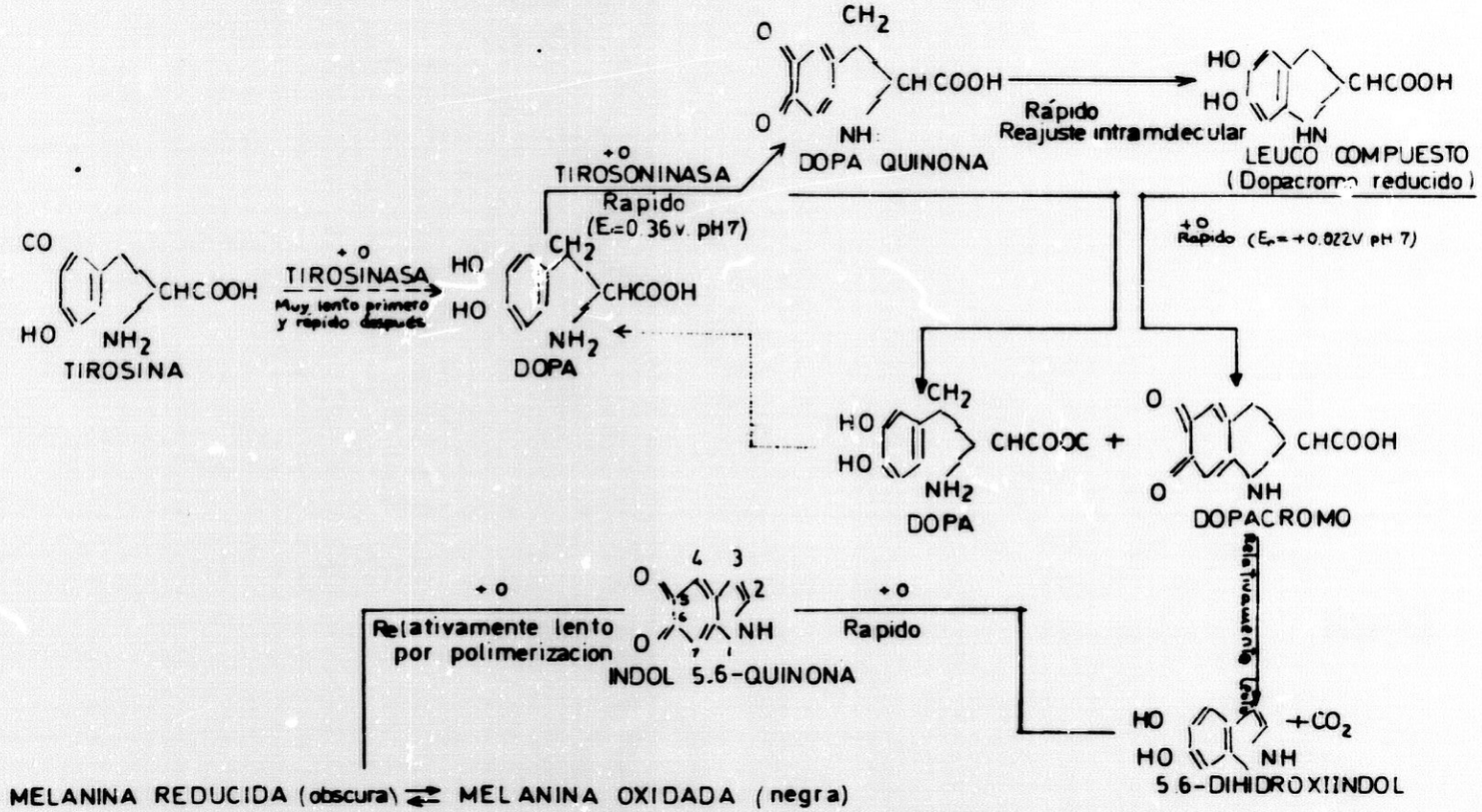
ETAPAS EN EL DESARROLLO DE LOS GRANULOS DE MELANINA

NOMENCLATURA	MORFOLOGIA	COMPOSICION BIOQUIMICA		
RIBOSOMA	100 ÷ 150 Å	RNA + PROTEINA	LOCALIZACION DE LA BICSINTESIS DE POLIPEPTIDOS	I BIOSINTESIS DE PROTEINAS
VESICULA DE GOLGI	0.05 μ	FOSFOLIPIDO PROTEINA	CONDENSACIÓN (?)	
VESICULA INTERMEDIARIA	0.5 μ	FOSFOLIPIDO + PROTEINA	ESTADIO DE LA "PRO-TIROSINASA" ORDENACIÓN EN FORMA ESTRUCTURADA	II DESARROLLO DE LAS ORGANELAS
PREMELANOSOMA	0.7 × 0.3 μ*	"PRO TIROSINASA"	ESTADIO FINAL DE LA "PRO-TIROSINASA" ORDENACION Y PRODUCTO FINAL EN EL MELANOCITO ALBINE.	
MELANOSOMA	0.7 × 0.3 μ*	TIROSINASA MELANINA	PUNTO ESPECIFICO DE LA FORMACION DE LA MELANINA	III BIOSINTESIS DE MELANINA
GRANULO DE MELANINA	0.7 0.3 μ*	MELANINA + ACTIVIDAD TIROSINASA NO COMPARABLE	PRODUCTO FINAL DEL MELANOCITA	

*VALORES TIPICOS PARA LOS GRANULOS DE MELANINA OSCURA HUMANA.
SEGUN SEIJI Y COLS (1963). TOMADA DE ABDEL MONEM EL MOFTY,

Si bien el color de la piel está condicionado--- por la melanina, el de las razas más pigmentadas no tiene más melanocitos que el de los blancos. En las primeras son más voluminosas y más dendríticos, pero el mismo número existe en la piel de un negro que en la de un sueco, y hay menos melanocitos en la piel del muslo deaquél que en la cara de éste último. El dolor racial depende posiblemente de la cantidad de melanina excretada por unidad de tiempo y de su distribución en la capa basal de células malpigianas, aunque también puede ser debida a un retraso en su eliminación. El peso total de - la menalina de un negro adulto no sobrepasa el gramo. - No hay diferencias cuantitativas entre los melanocitos- de ambos sexos. En las efélides o pecas tampoco hay mayor cantidad de células pigmentarias; sólo una función- más energica en estas zonas circunscritas.

No todos los pigmentos pardos o negros que se -- pueden encontrar en el organismo humanos son melanina-- o no toda la melanina tiene las mismas características. El sistema nervioso central (locus ceruleus, substancia nigra...) y en las suprarrenales se hallan pigmentos diferentes de la melanina. Dentro de la melanina se puede distinguir la eumelanina que tiene un color negro o pardusco y es el que se halla en la piel humana, la feome-


TIROSINA
TIROSINASA
Muy lento primero y rápido después
DOPA
TIROSONINASA
Rapido
(E₀=0.36 v. pH7)
DOPA QUINONA
Rápido
Reajuste intramolecular
LEUCO COMPUESTO
(Dopacromo reducido)
Rapido (E₀=+0.022V pH 7)
DOPA
DOPACROMO
Relativamente lento
INDOL 5.6-QUINONA
Relativamente lento
Relativamente lento por polimerizacion
Rapido
5.6-DIHIDROXIINDOL
MELANINA REDUCIDA (obscura) ⇌ MELANINA OXIDADA (negra)

(phaeomelanina) pigmento amarillo o rojo del pelo de algunos mamíferos y la neuromelanina existente en el sistema nervioso central.

Estadio 1º (de la protirosinasa).- En el mismo,- los ribosomas sintetizan polipéptidos transfiriendolos- de los ribosomas, y a través del reticulo endoplasmático, el área de Golgi de la célula. Se forman pequeños - gránulos constituídos por partículas de ribonucleoproteinas que van condensándose en estructuras ordenadas secundarias y terciarias de la molécula proteica de la enzima, constituyendose lo que ha denominado protirosinasa. Unos cuantos grupos de molécula de protirosinasa -- quedan unidos y envuektos en una cubierta de lipoproteína, formándose lo que se ha denominado vesícula.

Estadio 2º (del premelanosoma).- En este segundo estadio las moléculas de protirosinasa se ordenan de -- una forma estructural, según el genotipo del melanocito condensándose en el área de Golgi de la célula, aumentando su cubierta de fosfolípidos. Dentro de esta cubierta membranosa las moléculas se alinean en un patrón ordenado, y la disposición, forma en incluso tamaño son diferentes, según las especies animales y según las regiones. Se forma un orgánulo oval con numerosos filamen

tos membranosos conenlaces cruzados o sin ellos, con -- una periodicidad característica.

Estadio 3º.- En un tercer estadio se inicia la - activación de la protirosinasa , que se transforma en - tirosina activa, comenzando aquí la biosíntesis de la - melanina y acumulándose este pigmento dentro del premelanosoma que se convierte en melanosoma. Durante las -- primeras fases es posible todavía observar la estructura laminar de los premelanosomas, pero a medida que la- sintesis avanza, la melanina depositada llega a ocultar la parcialmente.

Estadio 4º.- El producto final es el gránulo con melanizaciòn completa y sin actividad tirosinasa demostrable, el gránulo de melanina, orgánulo oval completamente opaco al microscopio electrónico. No hay estructura interna discernible en las preparaciones de rutina.-

Biosíntesis del gránulo de melanina.- Los melanocitos se comportan como glándulas secretoras unicelulares y su estructura es la de una célula secretora exo-- crina. La unidad pigmentógena del melanocito es el melanosoma, orgánulo subcelular parcialmente pigmentado, -- con estructura interna bien definida y un fermento espe

cial que contiene cobre (tirosinasa). Según recientes - investigaciones, contiene también cinc.

El melanosoma no se divide por sí mismo una vez- formado; sufre una serie de transformaciones que le llevan a formar las particulas densas sin estructura interna visible ni actividad tirosinasa demostrable, fuertemente pigmentadas y unidas a una proteína (melanoproteína) que se denominan gránulos de melanina. Estos gránulos son inyectados a las células epiteliales vecinas.

Los gránulos de melanina se originan por progresiva maduración de los melanosomas y estos, a su vez,-- se originan de los ribosomas protoplasmáticos, gracias- a una serie compleja de transformaciones. Los ribosomas partículas densas de RNA adheridas al retículo endoplasmático, constituyen, púes, la sede de la biosíntesis de estas proteínas.

En la formación del gránulo de melanina se pueden reconecer los siguientes estadios cuyo estudio ha - sido posible gracias a la ultracentrifugación de densidades gradientes, examen al microscopio electrónico y- estudios histoquímicos de enzimas.

Bioquímica de la Melanogénesis.- La enzima tirosinasa actúa en la formación del grano de melanina, aloxidar y polimerizar un aminoácido, precursor fenólico-cromógeno incoloro, la tirosina, uniéndolo a una proteína.

La tirosinasa pertenece a un grupo de oxidasas - que contienen cobre y catalizan la oxidación de compuestos mono-y dihidrofenólicos u ortoquinonas. En bioquímica y enzomológia se designan con el nombre de complejo-fenolasa. El cobre es esencial para esta reacción.

En realidad la tirosinasa al actuar sobre la tirosina, dá lugar a dos reaciones químicas. En primer lugar por oxidación se produce una sustancia llamada DOPA Este primer paso es lento.

La DOPA se oxida en la segunda fase mucho más rapida originándose DOPA-quinona- A partir de está hay- una secuencia dinámica de fases complejas con producción -- de quinonas intermedias. La DOPA-quinona reorganiza- su composición intramolecular de manera que el nitrógeno de su cadena lateral se une con el núcleo bencénico en la posición 6 para formar el llamado leucodopacromo-reducido. Este se oxida transformándose en DOPA-cromo y

después decarboxilado, formándose 5,6-dihidroxindol. Esta sustancia se oxida más tarde pasando a 5-6 indolquinona. Este paso esta también acelerado por la tirosina. Esta quinona se polimeriza más tarde hasta formar melanina. Según algunos autores, la polimerización de esta quinona estaría regulada por una enzima, la polimerasa - (Takahashi y Fitz-Patrick), que bajo un control genético regularía su grado de polimerización. La polimerización va conjuntamente con la unión de los gránulos de - proteína (melanoproteína) a través de los puentes disulfurosos de la proteína.

Por otra parte, es posible que además de 5-6 indol-quinona, la melanina contenga otros monómeros (dopancelanina, etc.).

Transferencia de la Melanina a las células Epiteliales.- En la "unidad melanoepitelial", las células malpigianas reciben la melanina de las dendrítas de los melanocitos, no de una forma pasiva, sino que desempeñan un papel activo en su captación. La transferencia - se efectúa por grupos de gránulos rodeados por el citoplásma de las dendritas y posiblemente las células epiteliales liberan proteasas que digieren los restos dendríticos antes de fagocitar los gránulos. Aceleran o -

frenan la transferencia según las necesidades del momento. En condiciones fisiológicas sólo estan pigmentadas las células de basal; si actúan estímulos pigmentógenos intensos, pueden quedar tatuadas las capas suprabasales.

Los gránulos de melanina sufren una progresiva desintegración a medida que son transportados hacia arriba con el movimiento de las células epidérmicas. El método de desintegración del pigmento comienza con la reducción de la melanina. El modo de reducción consiste en la adición de electrones al pigmento que lo vuelven menos negro. Estos electrones se derivan del citoplásma de las células epidérmicas. Por otra parte se rompe la agregación de los gránulos de melanina por digestión de la porción proteíca del gránulo.

La eliminación de la melanina se produce por dos caminos:

-A través de la epidérmis, por la capa córnea y por el pelo.

-En otras condiciones, por la dermis, donde es captada por los melanófagos, o bien siguiendo el camino

de los linfáticos.

La avidez de los queratinocitos por los complejos de melanosomas se demuestra, por ejemplo, en casos de tumores epiteliales, en los que las células epiteliales pueden contener granos de melanina. Los queratinocitos, por otra parte, fagocitan también gránulos de las células de Langerhans. Los melanocitos degradándolos mediante vacuolas autofágicas. También pueden efectuar transferencia de melanosomas a otras células distintas de los queratinocitos. Un signo precoz de malignidad del melanoma del bantú es el hallazgo de granos de pigmento en el interior de las células de las glándulas sudoríparas de la planta de los pies (lugar de localización de èste melanoma). En la enfermedad de Paget, del pezón y extramamarío, es frecuente el hallazgo de cantidades importantes de pigmento en el interior de las células neoplásicas, derivadas de los conductos galactóforos. También pueden hallarse melanosomas en el interior de las células endoteliales y de los pericitos de las vénulas cutáneas. Además de los melanófagos pueden encontrarse melanosomas y premelanosomas en las vacuolas fagocitarias de las células de Schwann.

Control de la formación de la melanina.- Hay múl

tiples factores que influyen en el control de la melanogénesis, activándola o inhibiéndola. Los más importantes son los siguientes:

1º Activadores de la melanogénesis

a) Factores fisiológicos .- El más importante indudablemente es la luz.Esta actuaría estimulando o destruyendo los grupos sulfhidrílicos, que normalmente -- actúan como inhibidores del sistema enzimático pigmentario.

El aumento de temperatura acelera hasta cierto - punto la actividad de la tirosinasa acortando el período de reacción. Esto explicaría las pigmentaciones locales producidas por los braseros, bolsas de agua caliente, etc.Así como la mayor pigmentación de las regiones- de piel que normalmente tienen una temperatura más elevada (axilas, ingles, etc.).

Otros factores de menor importancia son los neurológicos (el parasimpático estimularía la melanogénesis). Sin embargo, a pesar de que los melanocitos se derivan de la cresta neural, la influencia del sistema -- nervioso sobre la pigmentación no es muy evidente en el hombre, al réves de lo que sucede en algunos animales -