

**MIOFIBROBLASTOS EN EL ESPACIO PERIVASCULAR
DEL CEREBRO DE LA RATA TRAS LESION EXPERIMENTAL**

**MIOFIBROBLASTS IN THE PERIVASCULAR SPACE OF THE RAT'S
BRAIN AFTER EXPERIMENTAL WOUND.**

A.L. CARBONELL, J. BOYA y J. CALVO

Departamento de Histología. Facultad de Medicina
Universidad Complutense. Madrid.

RESUMEN

Se describen células identificables como miofibroblastos debido a la presencia de abundantes microfilamentos de 60-70 Å en su citoplasma, desarrollo del retículo endoplásmico rugoso, y envueltas por lámina basal, situadas en el espacio perivascular de Virchow-Robin del parénquima nervioso próximo a una lesión traumática experimental. No se ha observado relación directa con el parénquima nervioso ni con las células de la pared vascular.

Palabra Clave:

Miofibroblastos. Espacio perivascular. Lesión cerebral.

SUMMARY

Cells identified as myofibroblasts are described in the Virchow-Robin spaces of the nervous tissue close to an experimental traumatic wound. These cells, surrounded by a basal lamina, showed abundant microfilaments (60-70 Å in diameter) and well-developed rough endoplasmic reticulum in their cytoplasm. A direct connection was never observed between these cells and the nervous parenchyma nor vessel wall.

Key Words:

Myofibroblast. Perivascular space. Cerebral stab wound.

INTRODUCCION

El concepto de miofibroblasto se desarrolló inicialmente en los primeros años de la década de los setenta, describiéndose tal tipo celular en tejidos de granulación (27).

Existen dos características morfo-funcionales básicas de estas células: propiedades contráctiles con similar respuesta farmacológica que el músculo liso (27), y presencia intracitoplásmica de microfilamentos identificables como de actina por técnicas de inmunofluorescencia (10).

Se han descrito células de esta naturaleza en algunos órganos normales, como en la teca externa de los folículos ováricos (30), en el estroma de las vellosidades duodenales (17), en el bazo fetal humano (7), en la membrana amniótica humana (39), en la placenta humana (6), en el ligamento periodóntico (12), en los septos interalveolares de distintas especies, incluido el hombre (21), en la cápsula testicular (15), y también rodeando a los túbulos seminíferos (29). Asimismo, *in vitro*, en cultivos de hígado de rata se han aislado miofibroblastos (26).

Sin embargo, ha sido en procesos patológicos donde se han descrito miofibroblastos con más frecuencia. Fundamentalmente se trata de procesos de naturaleza inflamatoria con formación de tejidos de granulación (9, 11, 33). De este modo, se han detectado tanto en patología humana (1, 3) como en patología experimental (28).

Además, existen numerosos procesos de tipo tumoral o pseudotumoral en los que están presentes estas células (8, 13, 22). También se han visto miofibroblastos en neoplasias inequívocamente malignas (2, 23, 31). Algunos autores implican asimismo al miofibroblasto en la respuesta del huésped a ciertas neoplasias, como componente fundamental de la reacción estromal (24, 34, 36).

Los miofibroblastos no han sido descritos en el sistema nervioso central. En el presente estudio aportamos una descripción ultraestructural de la presencia de estas células en los espacios perivasculares de Virchow-Robin, tras lesión experimental.

MATERIAL Y METODOS

Hemos efectuado el estudio en cerebros de treinta y cinco ratas albinas Wistar adultas, a las que previamente se les practicó una punción cerebral bilateral aséptica, a tres milímetros por detrás de la sutura fronto-parietal, con una aguja candente.

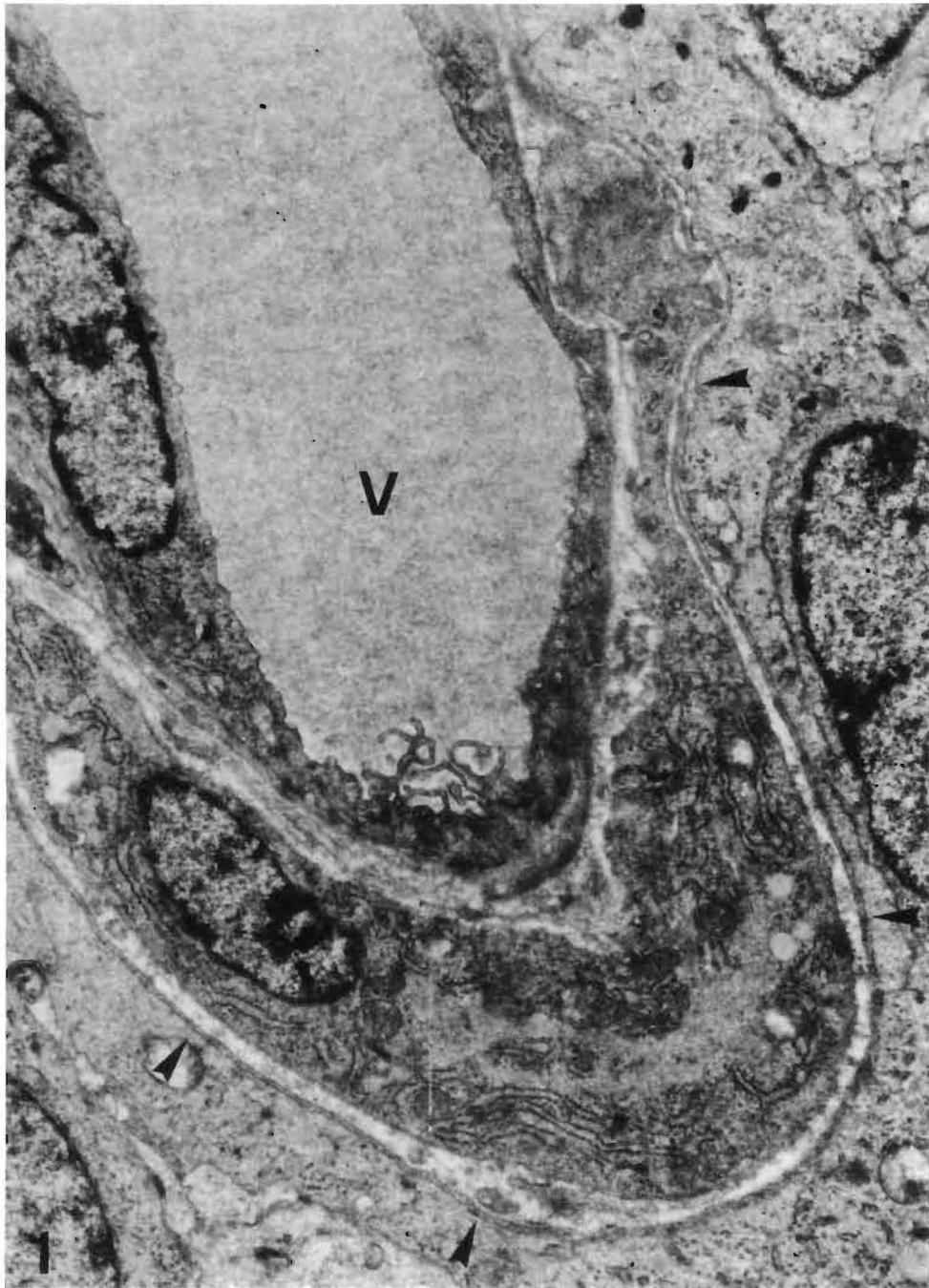
Los animales fueron sacrificados a diversos periodos de tiempo de evolución de la lesión (desde 24 horas hasta 12 meses), con objeto de estudiar cronológica y secuencialmente los procesos reparativos.

La mayoría de los cerebros se fijaron mediante perfusión, siendo fijados algunos de ellos por inmersión, con glutaraldehído al 3% tamponado con buffer fosfato. De la pared del trayecto de la punción se seleccionaron muestras que ulteriormente se postfijaron en tetróxido de osmio al 1% tamponado con buffer fosfato y se embebieron en Vestopal o Epon. Las secciones se efectuaron con un ultramicrotomo LKB y se tiñeron con acetato de uranilo y citrato de plomo. Para realizar las observaciones se ha utilizado un microscopio electrónico Philips modelo EM 201.

RESULTADOS

En fases tempranas (cinco días de evolución de la lesión), hemos visualizado alguna célula en el interior de los espacios de Virchow-Robin (Fig. 1), caracterizada por la presencia de llamativos haces de microfilamentos (fig. 2) de unos 60-70 Å de grosor, dispuestos paralelamente al eje mayor de la célula y en situación central, con un desarrollado retículo endoplásmico rugoso periférico constituido por cisternas largas y bastante rectilíneas (Fig. 3). En el citoplasma cabe mencionar además únicamente algunas mitocondrias y una pequeña cantidad de polirribosomas libres, así como ocasionales gotitas lipídicas. El núcleo es ovalado, con moderada electrodensidad nucleoplásmica y cromatina periférica.

Destaca la presencia de un material similar a una lámina basal que tapiza la superficie externa de la célula (fig.3).



Los espacios de Virchow-Robin aparecen aumentados de volumen, y siempre se hallan limitados por una lámina basal fácilmente identificable, no existiendo contacto del miofibroblasto con el parénquima nervioso ni con los elementos celulares de la pared vascular.

DISCUSION

Las células que describimos no pueden considerarse como miocitos lisos de la pared vascular debido por una parte a su abundante retículo endoplásmico rugoso, y por otra a su situación, separadas completamente de la pared del vaso y localizadas íntegramente en el interior del espacio de Virchow-Robin. Tampoco se pueden considerar como meningocitos, atendiendo a sus peculiares caracteres citológicos.

Creemos, que las características morfológicas de las células que hemos descrito son suficientes para admitir que son miofibroblastos. No obstante, existen algunos datos morfológicos propios del miofibroblasto (9,33) que no hemos visualizado; tal es el caso de las escotaduras nucleares. En este sentido pensamos que estas escotaduras van a estar en relación con el grado de contracción de cada célula individual, por lo que no debe extrañarnos su ausencia, dadas las características de nuestro material. Además, existen estudios en los que tampoco se han visto tales escotaduras, incluso en modelos experimentales con amplia participación del tejido conectivo (38).

Si bien existen algunos autores que admiten la posibilidad de que los miofibroblastos puedan derivar de otras células distintas del miocito liso o fibroblasto (5), parece claro que el miofibroblasto proviene de una transformación del miocito liso o fibroblasto ante determinados estímulos loca-

les. En este sentido, para algunos autores derivarían del miocito liso (37). Sin embargo, mucha mayor confirmación posee el origen de los miofibroblastos a partir de los propios fibroblastos (4, 32, 35).

En otro orden de cosas, tampoco parece científicamente aceptable una independencia absoluta entre el miocito liso y el fibroblasto sobre bases morfológicas. A este respecto, es sabido que la presencia de algunos filamentos es una característica de fibroblastos normales (12), pueden verse también en cultivos de fibroblastos (14), incluso con posibilidad de contracción (20), y es algo particularmente común en células embrionarias y fetales (16). Asimismo, las uniones intercelulares se han descrito en ocasiones entre fibroblastos normales (12), y son frecuentes en cultivo de tejidos (18), y tejidos embrionarios, fetales y del neonato (19). Por otra parte, se ha visto que el músculo liso podría producir colágeno y elastina (25).

Teniendo en cuenta estas consideraciones cabría la posibilidad de admitir al miofibroblasto como un fibroblasto modificado para ejercer una determinada función en un momento dado (¿contracción?). Los miofibroblastos que aparecen en tejidos normales podrían también considerarse como fibroblastos modificados para efectuar, en este caso, ciertas funciones —ahora fisiológicas— bien permanentes o transitorias.

En nuestro trabajo nunca hemos observado miofibroblastos en la meninge neoformada, ni tampoco en los espacios de Virchow-Robin en etapas más tardías. El origen de estas células, en nuestro caso, ha de ser atribuido a alguno de los elementos de la pared vascular que se ha transformado reactivamente adquiriendo especializaciones morfológicas propias del miofibroblasto.

BIBLIOGRAFIA

- 1.— BAUR, P.S. Jr. (1982): Myofibroblasts: their attachments and consequences in human burn wounds, granulation tissues, and scars. *Burn Care Rehabil.*, 3:214-219.
- 2.— BLEWITT, R.W., APARICIO, S.G.R. and BIRD, C.C. (1983): Epithelioid sarcoma: a tumour of myofibroblasts. *Histopathology*, 7:573-584.
- 3.— BONDI, A., MANCINI, A.M. and BALDINI, N. (1983): Occurrence of different types of contractile cells in some lung fibrosis. *Appl. Pathol.*, 1:66-75.
- 4.— CAMPBELL, G.R. and RYAN, G.B. (1983): Origin of myofibroblasts in the avascular capsule around free-floating intraperitoneal blood clots. *Pathology*, 15: 253-264.
- 5.— FEIGL, W., SUSANI, M., ULRICH, V., MATEJKA, M., LOSERT, U. and SINZINGER, H. (1985): Organization of experimental thrombosis by blood cells. Evidence of the transformation of mononuclear cells into myofibroblasts and endothelial cells. *Virchows*

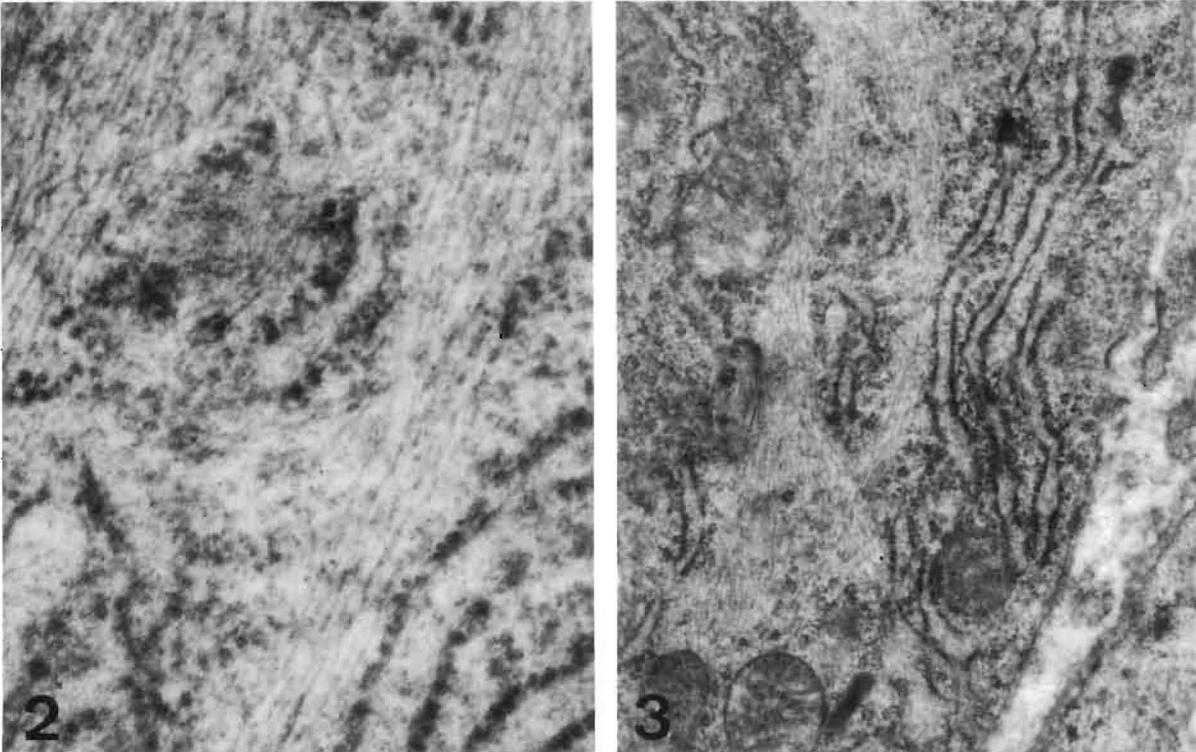


Figura 1.— Parénquima nervioso próximo a una lesión cerebral de 5 días. Espacio perivascular de Virchow-Robin delimitado por las láminas basales (flechas), y casi completamente ocupado por un miofibroblasto. V:vaso. X10.200.

Figura 2.— Citoplasma de miofibroblasto con abundantes microfilamentos. (Detalle fig. 1). X78.800.

Figura 3.— Porción de citoplasma de miofibroblasto en el que se observa desarrollo de cisternas de retículo endoplásmico rugoso, mitocondrias y microfilamentos. Nótese la presencia de lámina basal. X20.600.

- Arch. Pathol. Anat., 406:133-148.
- 6.— FELLER, A.C., SCHNEIDER, H., SCHMIDT, D. and PARWA-RESCH, C. (1985): Myofibroblast as a major cellular constituent of villous stroma in human placenta. *Placenta*, 6:405-416.
 - 7.— FUKUDA, T. (1981): Perifollicular, perisinusal and trabecular myofibroblasts in the human fetal spleen. *Virchows Arch. Pathol. Anat.*, 393:1-8.
 - 8.— GABBIANI, G. and MAJNO, G. (1972): Dupuytren's contracture: fibroblast contraction?. *Am. J. Pathol.*, 66:131-146.
 - 9.— GABBIANI, G., HIRSCHL, B.J., RYAN, G.B., STATKOV, P.R. and MAJNO, G. (1972): Granulation tissue as a contractile organ: a study of structure and function. *J. Exp. Med.*, 135:719-734.
 - 10.— GABBIANI, G., RYAN, G.B., LAMELIN, J.P., VASALLI, P., MAJNO, G., BOUVIER, C.A., CRUCHAUD, A. and LUSCHER, E.F. (1973): Human smooth muscle autoantibody. Its identification as antiactin antibody and a study of its binding to "nonmuscular" cells. *Am. J. Pathol.*, 72:473-488.
 - 11.— GABBIANI, G., CHAPONNIER, C. and HUTTNER, I. (1978): Cytoplasmic filaments and gap junctions in epithelial cells and myofibroblasts during wound healing. *J. Cell Biol.*, 76: 561-568.
 - 12.— GARANT, P.R. (1976): Collagen resorption by fibroblasts. A theory of fibroblastic maintenance of the periodontal ligament. *J. Periodontol.*, 47:380-390.
 - 13.— GOELLNER, J.R. and SOULE, E.H. (1980): Desmoid tumors. An ultrastructural study of eight cases. *Hum. Pathol.*, 11:43-50.
 - 14.— GOLDBERG, B. and GREEN, H. (1964): An analysis of collagen secretion by established fibroblast lines. *J. Cell Biol.*, 22:227-258.
 - 15.— GORGAS, K. and BOCK, P. (1974): Myofibroblasts in the rat testicular capsule. *Cell Tissue Res.*, 154:533-541.
 - 16.— GREENLEE, T.K. and ROSS, R. (1967): The development of the rat flexor digitorum tendon, a fine structure study. *J. Ultrastr. Res.*, 18:354-376.
 - 17.— GULDNER, F.H.; WOLFF, J.R. and GRAFKEYSERLINGK, D. (1972): Fibroblast as a part of the contractile system in duodenal villi of the rat. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 135:349-353.
 - 18.— HILL, M.W. (1978): The ultrastructure of rat palatal mucosa maintained in organ culture. *J. Anat.*, 127:475-490.
 - 19.— ITO, S. and LOEWENSTEIN, W.R. (1969): Ionic communication between early embryonic cells. *Develop. Biol.*, 19: 228-243.
 - 20.— JAMES, D.W. and TAYLOR, J.F. (1969): The stress developed by sheets of chick fibroblasts in vitro. *Exp. Cell Res.*, 54:107-110.
 - 21.— KAPANCI, I.; ASSIMACOPOULOS, A.; IRLE, C.; ZWAHLEN, A. and GABBIANI, G. (1974): Contractile interstitial cells in pulmonary alveolar septa: a possible regulator of ventilation/perfusion ratio?. *J. Cell. Biol.*, 60:375-392.
 - 22.— LABBAN, N.G. and LEE, K.W. (1983): Myofibroblasts in central giant cell granuloma of the jaws: an ultrastructural study. *Histopathology*, 7:907-918.
 - 23.— LAGACE, R.; SCHURCH, W. and SEEMAYER, T.A. (1980): Myofibroblast in soft tissue sarcomas. *Virchows Arch. Pathol. Anat.*, 389: 1-11.
 - 24.— LAGACE, R.; GRIMAUD, J.A.; SCHURCH, W. and SEEMAYER, T.A. (1985): Myofibroblastic stromal reaction in carcinoma of the breast: variations of collagenous matrix and structural glycoproteins. *Virchows Arch. Pathol. Anat.*, 408:49-59.
 - 25.— LAYMAN, D.L. and TITUS, J.L. (1975): Synthesis of type I collagen by human smooth muscle cells in vitro. *Lab. Invest.* 33:103-107.
 - 26.— LEO, M.A.; MAK K.M.; SAVOLAINEN, E.R. and LIEBER, C.S. (1985): Isolation and culture of myofibroblasts from rat liver. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 180:382-391.
 - 27.— MAJNO, G.; GABBIANI, G.; HIRSCHL, B.J.; RYAN, G.B. and STATKOV, P.R. (1971): Contraction of granulation tissue in vitro. Similarity to smooth muscle. *Science*, 173: 548-550.
 - 28.— McGRATH, M.H.; HUNDAHL, S.A. and GABBIANI, G. (1982): The spatial and temporal quantification of myofibroblasts. *Plastic Reconstr. Surg.*, 69:975-985.
 - 29.— NISTAL, M. and PANIACUA, R. (1984): Testicular and epididymal pathology. Georg Thieme Verlag. Stuttgart. New York.
 - 30.— O'SHEA, J.D. (1970): An ultrastructural study of smooth muscle-like cells in the theca externa of the ovarian follicles in the rat. *Anat. Rec.* 167:127-131.
 - 31.— REDDICK, R.L.; MICHELITCH, H.J.; LEVINE, A.M. and TRICHE, T.J. (1980): Osteogenic sarcoma. A study of the ultrastructure. *Cancer*, 45:64-71.
 - 32.— RYAN, G.B.; CLIFF, W.J.; GABBIANI, G.; IRLE, C.; STATKOV, P.R. and MAJNO, G. (1973): Myofibroblasts in an avascular fibrous tissue. *Lab. Invest.* 29:197-206.
 - 33.— RYAN, G.B.; CLIFF, W.J.; GABBIANI, G.; IRLE, C.; MONTANDON, D.; STATKOV, P.R. and MAJNO, G. (1974): Myofibroblasts in human granulation tissue. *Hum. Pathol.*, 5:55-67.
 - 34.— SCHURCH, W.; LAGACE, R. and SEEMAYER, T.A. (1982): Myofibroblastic stromal reaction in retracted scirrhous carcinoma of the breast. *Surg. Gynec. Obstet.*, 154: 351-358.
 - 35.— SCHURCH, W.; SEEMAYER, T.A.; LAGACE, R. and GABBIANI, G. (1984): The intermediate filament cytoskeleton of myofibroblasts: an immunofluorescence and ultrastructural study. *Virchows Arch. Pathol. Anat.*, 403:323-336.
 - 36.— SEEMAYER, T.A.; SCHURCH, W.; LAGACE, R. and TREMBLAY, G. (1979): Myofibroblasts in the stroma of invasive and metastatic carcinoma. A possible host response to neoplasia. *Am. J. Surg. Pathol.*, 3:525-533.
 - 37.— SOTTIURAI, V.S.; FRY, W.J. and STANLEY, J.C. (1978): Ultrastructure of medial smooth muscle and myofibroblasts in human arterial displasia. *Arch. Surg. (Chicago)*, 113: 1280-1288.
 - 38.— SQUIER, C.A. and KREMENAK, C.R. (1980): Myofibroblasts in healing palatal wounds of the beagle dog. *J. Anat.*, 130:585-594.
 - 39.— WANG, T. and SCHNEIDER, J. (1982): Myofibroblasten im Bindegewebe des menschlichen Amnions. *Z. Geburts. Perinatol.* 186:164-168.