ISSN 0025-7680

EDITORIAL MEDICINA (Buenos Aires) 2011; 71: 581-584

Diapédesis ¿Entre o a través de las células endoteliales?

No hay lesión inflamatoria más común que un grano en la cara o, propiamente, una foliculitis aguda superficial. La lesión primero es roja, duele un poco, se agranda, endurece, adquiere una punta amarillenta y, si antes no la apretamos, descarga su contenido amarillento, pus, y se cura. Si estudiamos un grano con el microscopio comprobamos que el pus estaba acumulado en el extremo superior de un folículo piloso. El pus es, en su mayor parte, leucocitos polimorfonucleares. ¿Cuándo se identificaron a los leucocitos como las células del pus? ¿Los leucocitos son nativos o emigrantes? ¿Si son emigrantes, cómo llegaron? ¿Cómo se llegó a esta afirmación? ¿Cómo y por dónde atravesaron las paredes de los vasos? Intentaremos responder, en trazos gruesos, a las preguntas de este cuestionario. En suma, las relacionadas con la diapédesis: paso de los leucocitos a través de las paredes de los vasos.

La primera respuesta se basó en la observación con el microscopio de los cambios que se producen en tejidos vivos (membranas semitransparentes como la lengua y mesenterio de ranas, alas de murciélagos) cuando se induce un daño físico o químico. Los observadores vieron cambios en los vasos sanguíneos consistentes en dilatación, modificaciones del flujo, disposición de las células en la corriente y los leucocitos fuera de las paredes de los vasos. Veamos cuándo. En 1843, William Addison (1803-1881) observó, en la lengua de la rana irritada, que los "glóbulos linfáticos" se adhieren a la pared de los capilares, que se acumulan allí, que luego se encuentran fuera de ellos y especuló que "estos corpúsculos incoloros parecen formar los corpúsculos del pus". En 1846, Augustus Volney Waller (1816-1870), con una preparación similar observó que los "corpúsculos incoloros" se acumulaban en los vasos y luego se encontraban en el tejido circundante, y dedujo que los corpúsculos del pus eran los corpúsculos emigrados[1]. En 1853, Thomas Wharton Jones (1808-1891) indujo y observó cambios parecidos en la circulación y disposición de los corpúsculos, aunque no migración de leucocitos, en un mamífero, en la membrana interdigital de las alas del murciélago[2]. Friedrich Daniel von Recklinghausen (1833-1910), en 1863, identificó las células de pus como leucocitos ameboides y emigrantes[3]. Julius Cohnheim (1839-1884) con ingeniosos experimentos y sólido razonar confirmó y amplió estas observaciones en 1867[4]. Difundió Cohnheim sus hallazgos y discutió los de sus contemporáneos en su conocido libro de patología general[5]. Contradijo así a Rudolf Virchow (1821-1902), de quien era discípulo, porque Virchow sostenía, en su *Patología celular,* que los leucocitos se formaban en el sitio inflamado debido al aumento de la actividad nutritiva y reproductiva de las células[6]. Pero ¿por dónde salen? Julius Arnold (1835-1915), en 1875, marcando los límites de las células endoteliales con plata, observó e ilustró que los leucocitos parecían salir por espacios (estomas=*stomata* y estigmas=*stigmata*) entre las células endoteliales (Fig 1).

Cohnheim creía, en 1882, que tanto la permeabilidad a los líquidos como el paso de las células se debían "a un cambio químico", *"una alteración molecular"* (bastardilla en el original) de la pared vascular, un cambio en el tamaño de los poros de un filtro, cambio aún no definido por falta de conocimientos[5]. Metchnikoff, en 1891, examinó los pormenores, el estado de esta cuestión, y su punto de vista para ese entonces[7].

Las observaciones *in vivo*, ya en el siglo XX, con nuevos métodos: en colas transparentes de larvas de ranas, cámaras transparentes insertadas en las orejas de conejos, con fotografía y cinematografía, aclararon e ilustraron la diapédesis y el tiempo que les toma a los leucocitos salir de los vasos (Fig. 2). Para una insuperable revisión crítica de lo alcanzado hasta 1954 conviene leer la primera edición de Florey[1].

En definitiva, tuvimos las respuestas de cuándo, cómo y cuánto tardan; era discutida todavía la respuesta a la pregunta: ¿por dónde salen los leucocitos de los vasos sanguíneos? Los tejidos vivos semitransparentes no permitían diferenciar detalles y los cortes histológicos convencionales vistos con el microscopio óptico carecen de la definición necesaria para resolver el problema de por dónde salen. Para las respuestas tuvimos que esperar al microscopio electrónico. Con esta técnica, Marchesi y Florey, en 1960, demostraron que salían entre las células endoteliales, como sostenía Arnold, interpretación muy razonable[8]. Pero en los órganos linfáticos hubo una sorpresa: los linfocitos parecían salir de los vasos a través de las células endoteliales; interpretación contra-intuitiva, cuestionada, y luego aceptada como excepcional[9-11].

Nada es para siempre. Arrecian los trabajos que sostienen que hay dos vías de salida para los leucocitos: paracelular, entre las células endoteliales, y transcelular, a través de las células endoteliales. Entre los primeros en retar la opinión aceptada de que la única vía es la paracelular está un trabajo que demuestra con microscopia electrónica convencional, cortes seriados, reconstrucción tridimensional y estadística que, en un proceso inflamatorio provocado en la piel de la rata con un péptido quimiotáctico, los polinucleares neutrófilos emigran de las vénulas por la vía transcelular y que, después de cruzar el endotelio, a menudo atraviesan los pericitos a través de ellos, también por la ruta transcelular. La ruta transcelular, de excepcional, en algunos sitios pasa a ser la usual, incluso a través de los pericitos[12] (Fig. 3).

Se agregan nuevos métodos y técnicas. El endotelio se transforma en un sujeto activo en la diapédesis, y el cultivo de células endoteliales en monocapas sobre filtros microporosos permite el análisis del paso de los leucocitos a través de ellas en tiempos fijados, y se remedan las condiciones de flujo cuando las células endoteliales se cultivan y cubren las paredes de tubos capilares y se prefunden con leucocitos. Si a esto sumamos la video-microscopia y la microscopia confocal, que pueden analizar el fenómeno en tiempo real, tenemos un nuevo panorama para entenderlo. Con estos métodos se trató, *in vitro* e *in vivo*, de contestar las preguntas pendientes de respuestas. Un trabajo, no muy viejo, da una idea de la aplicación de estos métodos[13].

Una puesta al día del 2001 concluye diciendo que los leucocitos utilizan ambas vías, paracelular y transcelular; las evidencias favorecen la vía para celular *in vivo* y la transcelular *in vitro*[14]. Otra, del 2004, llega a idéntica y salomónica decisión: “En base a la actual evidencia experimental, proponemos considerar ambas vías igualmente posibles para el viaje del leucocito de la superficie apical del endotelio a su lado basal”[15]. Pero ¿cuántos viajan por una vía y cuántos por la otra?

Abrumados y asustados por la literatura llegamos al presente y, en una elección, a la vez arbitraria y racional, consideramos aquí sólo tres revisiones, una del 2009, otra del 2010 y otra del 2011, todas con excelentes ilustraciones y numerosas referencias bibliográficas. La primera da por aceptada la vía transcelular, tanto *in vivo* como *in vitro*, vía de significación en médula ósea, estructuras linfáticas, en la inflamación, las barreras hematoencefálica y hematorretinal, y propone un modelo en el cual son capitales las prolongaciones de los polinucleares (*invadosoma-like protrusions*) que tantean e identifican el sitio por donde pasar a través de las células endoteliales. Destaca que así como los leucocitos salen pueden entrar[16].

La segunda considera incuestionables las dos vías de paso y diseca los mecanismos subcelulares y moleculares involucrados. Por otra parte, señala lo poco que se conoce del paso de los leucocitos más allá del endotelio en las vénulas, a través de las membranas basales, fabricadas por células endoteliales y pericitos, y a través de los pericitos, terreno a explorar en el futuro[17]. La tercera revisión, aunque más extensa, tiene notas al margen que facilitan la difícil lectura. Afirma también la existencia de las dos vías, que la mayoría de la diapédesis o transmigración es paracelular, aunque en otras situaciones *in vivo* e *in vitro* es transcelular. Por otra parte, muchas de las moléculas y mecanismos de regulación en ambas vías son compartidos. Se detiene en la descripción de un compartimiento de reciclaje del borde lateral

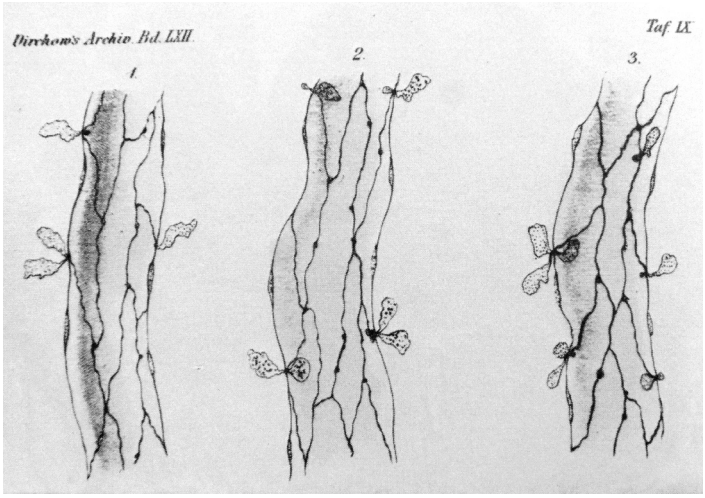


Fig. 1.– 1) Lengua inflamada de rana. Capilar en el cual los leucocitos polimorfonucleares atraviesan la pared entre las células endoteliales cuyos bordes están marcados con plata; 2) Preparación semejante, mesenterio de rana; 3) Idem, vejiga de rana. Tomada de Arnold J. *Virchows Archiv path Anat* 1875; 62: 487.

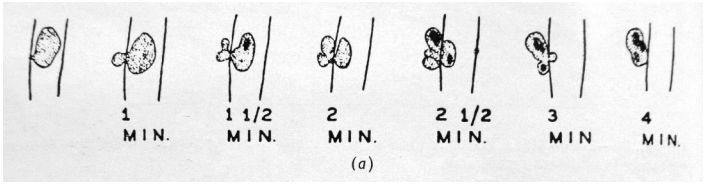


Fig. 2.– Progresión de los leucocitos a través de las paredes capilares en la cola transparente de renacuajos. Camera lucida. Tomado de Clark ER, Clark EL, Rex RO. *Amer J Anat* 1936; 59: 123.

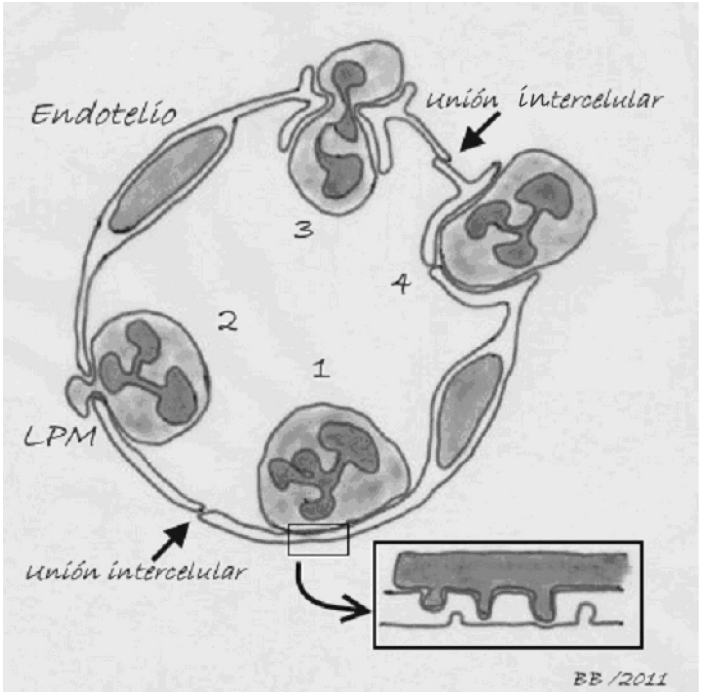


Fig. 3.– Diapédesis transcelular. 1) Leucocitos (LPN) marginados insertan filopodios (podosomas) y atraviesan el citoplasma de células endoteliales. 2) El citoplasma de la célula endotelial engulle la porción luminal del leucocito. 3) El citoplasma de la célula endotelial se reconstituye cuando el leucocito migra. Esquema, con modificaciones, tomado de referencia 14.

(L*ateral* B*order* R*ecycling* C*ompartment*), un retículo de túbulos y vesículas interconectadas ubicado en el borde celular de la periferia de la célula endotelial, imprescindible para la diapédesis, retículo que se dirige al sitio donde ésta ocurre, envuelve a los leucocitos emigrantes y, finalmente, recicla las moléculas que intervinieron en el proceso. Termina con cuatro preguntas, temas para el futuro: 1) ¿Por qué tantas moléculas de las células endoteliales están implicadas en el proceso de transmigración endotelial? ¿Funcionan individualmente o como parte de complejos con múltiples componentes? 2) ¿La actinamiosina, dónde ejerce la contracción-tensión *in vivo*, si las células endoteliales en las vénulas postcapilares no tienen fibras de estrés? 3) ¿Cómo se dirigen al blanco, el sitio donde ocurre la diapédesis, los componentes del compartimiento de reciclaje del borde lateral (LBRC) que envuelven los leucocitos, alteran y aflojan las uniones intercelulares y reciclan las moléculas que intervinieron en el proceso? 4) ¿Cómo coordinan todas las moléculas y mecanismos que participan en la migración transendotelial para asegurar una eficiente travesía de los leucocitos con mínima pérdida del contenido vascular soluble?[18]

No escapará a la atención del lector que en esta nota no se mencionen las numerosas moléculas receptoras, ligandos y mensajeros que intervienen en la animada conversación intercelular en la que se atraen células, desarman y arman uniones intercelulares y leucocitos que atraviesan células, entre ellas o a través de ellas, sin dejar señales. El que esto escribe no puede sintetizar la información relevante, está en un territorio que sólo conoce de leídas. El lector interesado, si lo desea, puede recurrir a las revisiones antes señaladas y navegar con paciencia para sortear ese mar de engorrosa redacción, lleno de siglas y acrónimos.

Juan Antonio Barcat

e-mail: jabarcat@yahoo.com.ar

1. Florey H.W. Lectures on general pathology. London: Lloyd-Luke, 1954. Chapter II. Inflammation. Microscopical observations. p 21-67. (Ver también las ediciones siguientes, 1958, 1962, 1970).
2. Wharton Jones T. Observations on the state of the blood and the blood vessels in inflammation. *Med Chir Trans* 1853; 36: 390-4. En: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2104154/?tool=pubmed; consultado el 23/1/2011.
3. Heidland A, Klassen A, Sebekova K, Bahner U. Beginning of modern concept of inflammation: the work of Friedrich Daniel von Recklinghausen and Julius Friedrich Cohnheim. *J Nephrol* 2009; 22: 71-9.
4. Jarcho S. Cohnheim on Inflammation. *Amer J Cardiol* 1972; 29: 247-9. [Selección en inglés de pasajes de: Cohnheim J.Ueber Entzündung und Eiterung.*Virchows Archiv* 1867; 40: 1-79].
5. Cohnheim J. Lectures on general pathology (1882). London: New Sydenham Society, 1889. Translated from the second German edition by Alexander B. McKee. Section I. Chapter V. Inflammation. p 240-82.
6. Virchow R. Cellular pathology (1859). London; Churchill, 1860. Translated from the second edition of the original by Franck Chance. Lecture XVII. Amyloid degeneration. Inflammation. p 307-94.
7. Metchnikoff E. Lectures on the comparative pathology of inflammation (1891). Translated from the French by F. A. Starling and E.H. Starling. New York; Dover, 1968. Lecture XII. p 180-97.
8. Marchesi VT, Florey HW. Electron micrographic observations on the emigration of leucocytes. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci* 1960; 45: 343-8.
9. Marchesi VT, Gowans JL. The migration of lymphocytes through endothelium of venules in lymph nodes: An electron microscope study. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1964; 159: 283-90.
10. Schoefl GI. The migration of lymphocytes across the vascular endothelium in lymphoid tissue. A reexamination. *J Exp Med* 1972; 136: 568-88.
11. Yamaguchi K, Schoefl GI.Blood vessels of the Peyer's patch in the mouse: III. High-endothelium venules. *Anat Rec* 1983; 206: 419-38 (Abstract)
12. Feng D, Nagy JA, Pyne K, Harold F. Dvorak HF, Dvorak AM. Neutrophils emigrate from venules by a transendothelial cell pathway in response to FMLP. *J Exp Med* 1998; 187: 903-15.
13. Mamdouh Z, Mikhailov A, Muller WA. Transcellular migration of leukocytes is mediated by the endothelial lateral border recycling compartment. *J Exp Med* 2009; 206: 2795-808.
14. Kvietys PR, Sandig M. Neutrophil Diapedesis: Paracellular or Transcellular? *News Physiol Sci* 2001; 16: 15-9.
15. Engelhardt B, Wolburg H. Mini-review: Transendothelial migration of leukocytes: through the front door or around the side of the house? *Eur J Immunol* 2004. 34: 2955-63.
16. Carman CV. Mechanisms for transcellular diapedesis: probing and pathfinding by 'invadosome-like protrusions'. *J Cell Sci* 2009: 122; 3025-35
17. Woodfin A, Voisin M-B, Nourshargh S. Recent developments and complexities in neutrophil transmigration. *Curr Opin Hematol* 2010; 17: 9-17.
18. Muller WA. Mechanisms of leukocyte transendothelial migration. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2011; 6: 323-44.