

Rincones olvidados de la gastroenterología: Las células intersticiales de Cajal

Raul Yazigi G.⁽¹⁾

FORGOTTEN CORNERS OF THE GASTROINTESTINAL TRACT: INTERSTITIAL CELLS OF CAJAL

Many smooth muscle cells exhibit both electrical and mechanical activity. This is not a property of the cell itself but is the result of the activity of a group of specialized cells that are interlaced with the smooth muscle cells, that have come to be known as interstitial cells of Cajal. These cells were described in the XIX century by the spanish scientist Santiago Ramón y Cajal. In the digestive tract this network is located near the myenteric plexus and generates pacemaker activity whose action potentials are passively transmitted towards the neighboring muscle layers where they generate rhythmic changes in their membrane potential. The working hypothesis today is that the autonomic nerves do not contact the muscle cells directly to liberate neurotransmitters and thus modify their contractile activity. Instead, the standing hypothesis is that, at least in the digestive tract, the nerve endings do not contact the smooth muscle cells. Instead they communicate with the cells of Cajal through synapses, and these, in turn, are the ones that contact the neighboring smooth muscle cells. Therefore, the interstitial cells of Cajal act as receptors (and modulators?) of both excitatory and inhibitory stimuli. The study of their disorders is shedding light on different motor abnormalities of the digestive tract. Not only that, cells of Cajal are the origin of the cell lineage that ends in the generation of the gastrointestinal stromal tumors (GIST). This information is crucial in designing new strategic approaches beyond surgery, as we gain insight into the molecular and genetic causes of this transformation.

Key words: *interstitial cells of Cajal; digestive tract motility; gastrointestinal stromal tumors (GIST).*

Introducción

Un número importante de células musculares lisas exhiben actividad eléctrica espontánea así como actividad mecánica. Inicialmente se pensaba que esto correspondía a propiedades intrínsecas de las células, pero la interpretación actual es que existen grupos especializados de células entrelazadas con las células del músculo liso, conocidas como *células intersticiales de Cajal (CIC)*.

En el tracto digestivo esta red esta localizada cerca del plexo mientérico y genera actividad de marcapasos, donde los potenciales de acción se conducen pasivamente hacia las capas musculares vecinas, generando cambios rítmicos del potencial de membrana.

Es sabido que la actividad mecánica de las células musculares lisas puede ser modificada por los nervios autonómicos que llegan a ellas. Lo que parecía ser un contacto directo en que se liberaban transmisores que actuaban sobre

⁽¹⁾ Clínica Alemana de Santiago.

las células, ha dado paso al concepto que, en al menos varios lugares específicos de tubo digestivo, las terminaciones nerviosas no hacen contacto directo con las células musculares sino que constituyen sinapsis con las CIC, y éstas a su vez, se comunican con las células musculares vecinas. Por lo tanto, las CIC son las receptoras de los estímulos neurales excitatorios e inhibitorios.

Origen de las células intersticiales de Cajal

Las células intersticiales de Cajal son células semejantes a los fibroblastos que se originan de células mesenquimales. A diferencia de las células musculares lisas, que desarrollan elementos contráctiles que las caracterizan, las CIC desarrollan gran cantidad de mitocondrias, retículo endoplásmico y canales en las membranas. Muchas expresan un receptor de la tirosinquinasa, denominado *Kit*, lo que permite reconocerlas por anticuerpos específicos.

Generan ondas eléctricas lentas y están intercaladas entre las neuronas intramurales y las células musculares lisas, que finalmente son las efectoras. Así, se genera un sistema de marcapasos a nivel del tubo digestivo.

Actividad de las CIC

Muchos segmentos del tubo digestivo, al ser estudiados en tiras de tejido aisladas, exhiben actividad contráctil rítmica aunque no reciban estímulos eléctricos u hormonales. Cuando se registran simultáneamente los potenciales de acción con la contracción mecánica, cada contracción es gatillada por una onda de depolarización. Por su baja frecuencia y larga duración, estas ondas se han denominado *ondas lentas*.

La idea original era que las ondas lentas eran generadas por las células musculares lisas, pero su estudio ha demostrado que cultivos de células aisladas son incapaces de generar actividad eléctrica espontánea. En cambio, cultivos de CIC sí lo hacen.

Las CIC al microscopio de luz se confunden con neuronas, células gliales, células musculares lisas, macrófagos y fibroblastos.

De esta forma estas células, descritas hace más de un siglo por el científico español San-

tiago Ramón y Cajal, pasaron a ser candidatas para generar la actividad de marcapaso. Primero fue sobre la base de estudios histológicos finos, que demostraban su ubicación espacial, en relación a las capas musculares del tubo digestivo y las varicosidades de las neuronas entéricas (y de otros órganos con fibras musculares lisas). Más adelante, se han hecho estudios de animales mutantes que carecen de estas células o trozos de tejidos en que han sido removidas o destruidas con citotóxicos específicos. Asimismo, cultivos celulares de CIC han sido estimulados o inhibidos por diferentes agentes farmacológicos o neurotransmisores, y se ha medido con microelectrodos en células individuales los potenciales de acción generados. Todos estos trabajos han definido su papel hasta llegar al concepto actual, que les asigna un rol clave en la comunicación entre el sistema nervioso entérico, el autonómico y las células musculares lisas de la pared^{1,2}.

Una información que hace aún más apasionante este tema, es que este tejido exhibe una plasticidad que le permite sobrevivir a diferentes noxas. Así, al colocar un clip metálico para generar una obstrucción en el intestino de animales de experimentación, se produce la hipertrofia de las capas musculares proximales, sin comprometer la estructura de las CIC. Sin embargo, hacia distal de la obstrucción, las redes de CIC se alteran con la consiguiente pérdida de las ondas eléctricas lentas y con desaparición de la respuesta a la estimulación de los nervios entéricos. Sin embargo, las CIC no mueren, sólo cambian su fenotipo a células de tipo muscular liso y/o una célula intermedia que exhibe características tanto de CIC como de fibroblasto. Todo esto está evidenciado por técnicas de inmunohistoquímica. Al liberar la oclusión experimental, estas células intermedias disminuyen en número, aparece la inmunogenicidad propia de las CIC y, finalmente se vuelve a la histología normal, con restablecimiento parcial de las ondas lentas y de la respuesta a nervios entéricos³.

Tipos de Células Intersticiales de Cajal

Ramón y Cajal observó unas células especiales en el extremo de las terminaciones del sistema nervioso autónomo en glándulas sali-

vales, en las glándulas de Lieberkühn y en las capas musculares del tubo digestivo. Sus prolongaciones se entrelazaban entre los nervios terminales y las células efectoras. El científico español pensó que eran parte del sistema nervioso, lo que se ha descartado en investigaciones posteriores. No obstante este hecho, juegan un importante papel en la neurotransmisión. Las CIC también exhiben cierta actividad contráctil tanto de los cuerpos celulares como de sus prolongaciones. Esto puede reflejar la liberación de Ca^{++} desde depósitos intracelulares.

Existen dos tipos principales de CIC, que difieren fundamentalmente en su función. En la mayor parte de tubo digestivo una red de CIC existe en la región mientérica, entre la capa muscular longitudinal y la circular, y se denominan *CICmy*. Estas funcionan como células marcapasos gastroentéricas y gatillan las ondas lentas. Las *CICmy* son células multipolares que están intercaladas entre las neuronas intramurales y las células musculares lisas, formando un retículo, como se expresa en la Figura 1. También se puede encontrar la denominación de CICAp (plexo mientérico de Auerbach)⁵.

Existe un segundo grupo de células intersticiales dispersas en el espesor de las capas musculares y se denominan CIC intramusculares o *CICim*. En el intestino delgado las *CICim* principales están concentradas en la cara interna de la capa circular y serían las

encargadas de propagar la onda de activación. Tienen contactos que discurren en paralelo con las células musculares lisas, constituyendo un contacto directo. Además, a través de los vasos sanguíneos que las irrigan tienen receptores para neurotransmisores y hormonas circulantes como la CCK, lo que sugiere un importante rol en la transmisión neuromuscular y hormono-muscular⁶.

Existen también subtipos CICdmp (deep muscular plexus = capa muscular profunda) ubicadas en la capa muscular circular; CICsmp (submuscular plexus = plexo submuscular) ubicadas en el borde de la submucosa; CICcm (circular muscle = músculo circular), localizadas en el espesor de la gruesa capa circular y finalmente las CIClm (longitudinal muscle = músculo longitudinal), ubicadas en el espesor de la capa del mismo nombre. En la Figura 2 se presenta un esquema de la configuración anatómica de la pared del tubo digestivo, detallando la presencia de las diferentes subclases de CIC a lo largo del tracto gastrointestinal.

¿Cómo se estudian las CIC?

Existen muchos métodos para la identificación de las CIC, entre ellos podemos citar la tinción con azul de metileno, tinción con ácido ósmico/Zn-yodo (ZIO) y métodos inmunohistoquímicos con anticuerpos contra las proteínas kit. Lo más importante son las características estructurales en la microscopía electrónica.

Las CIC en las diferentes especies mantie-

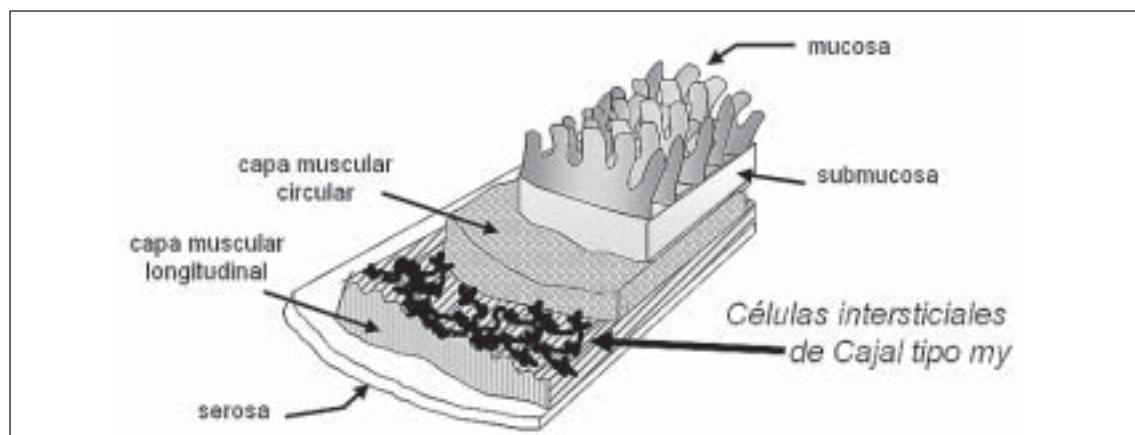


Figura 1. Esquema de la ubicación de las células intersticiales de Cajal (*CICmy*) en la pared del tubo digestivo.

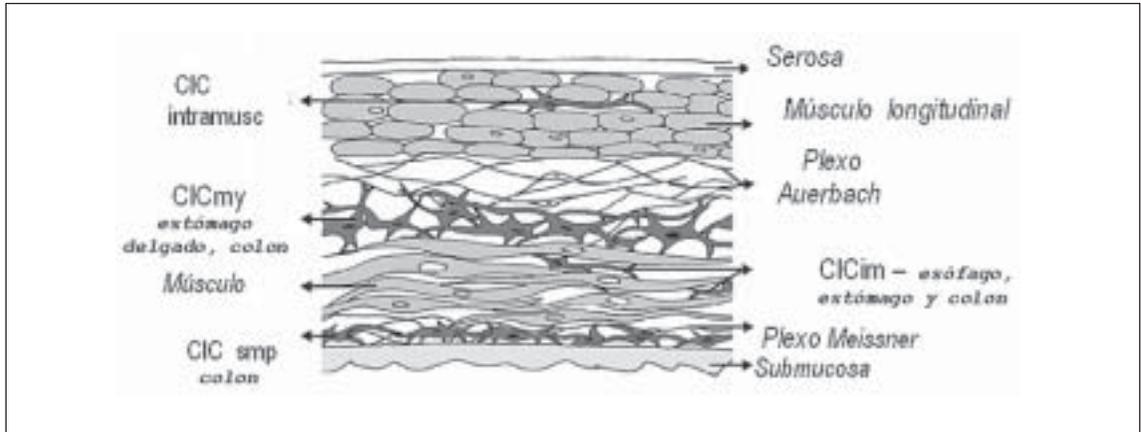


Figura 2. Configuración esquemática de la pared del tubo digestivo y localización de los diferentes tipos de células intersticiales de Cajal.

nen ciertas características comunes, como son las mitocondrias y cisternas endoplásmicas abundantes, el tipo de filamentos intermedios citoplasmáticos, cuerpos densos citoplasmáticos, caveolas de superficie (son pequeñas invaginaciones de la membrana de 50 a 100 nm de diámetro), y lo más importante, contactos tipo sinápticos con haces de fibras nerviosas y contactos tipo gap junctions con las células musculares lisas⁵.

La complejidad de la acción que realizan las CIC sólo es posible por su compleja relación espacial con las células vecinas. Esta ubicación se representa gráficamente en la Figura 3.

La relación física, expresada en la figura, y el apoyo de los trabajos experimentales en animales, unida a las observaciones en humanos, es lo que ha llevado a considerar las CIC como células con un importante papel integrador entre las células efectoras (musculares lisas) y el sistema nervios entérico, así como tal vez el sistema nervioso autónomo.

Las *CICim* están situadas entre los terminales de las células nerviosas entéricas y las fibras musculares, al menos en el fondo gástrico y en las regiones de los esfínteres. Su proximidad a las varicosidades de las neuronas es muy grande (< 25 nm), lo que unido a las gap junctions con las células musculares forma un complejo neuromuscular. Este complejo celular tendría como mediador importante de neurotransmisión al óxido nítrico-NO. En el intesti-

no delgado parece ser que las células CIC más profundas (*CICmy*) también tendrían neurotransmisión nitridérgica^{2,7}.

Las CIC y las enfermedades crónicas en el hombre

Hemos dicho ya que las células de Cajal son necesarias para la motilidad. Su papel de marcapasos ha sido establecido en numerosos trabajos experimentales. Hay cepas de ratas que genéticamente carecen de CIC y en ellas no se genera la onda eléctrica lenta y tienen poca o nula motilidad gastrointestinal⁸.

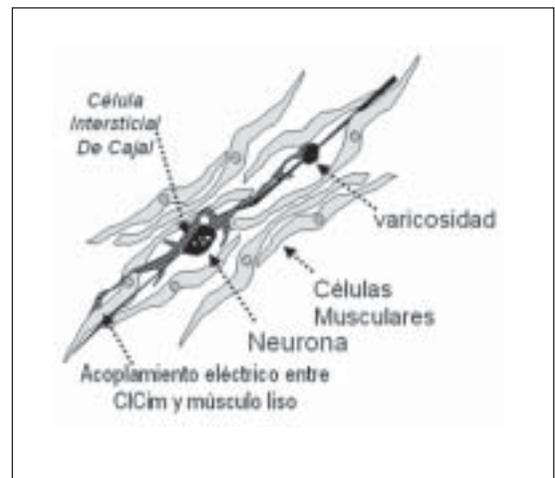


Figura 3. Relación de las células intersticiales de Cajal con las células vecinas.

Sabemos también que las CIC son la fuente de actividad rítmica del tubo digestivo. Incluso los cultivos de CIC pueden generar una onda eléctrica lenta. En humanos su disminución o desaparición genera trastornos motores del estómago e intestinos.

Entre las patologías humanas asociadas al defecto de las CIC están la gastroparesia diabética, la pseudo obstrucción intestinal, la ausencia congénita de sistema nervioso entérico y el compromiso intestinal de la enfermedad de Chagas^{5,9,10}.

Otras patologías humanas en las que podrían estar disminuidas las CIC son la enfermedad de Hirschprung, la gastroparesia idiopática, la hipoganglioneosis adquirida y la enfermedad de Chagas^{10,11}.

No es tan claro su rol en la motilidad colónica, ya que las especies que han servido de modelo experimental tienen problemas sólo en el intestino delgado, pero a nivel colónico las CIC están intactas, y, por ende, no presentan trastorno motor del colon.

Los estudios en el hombre han dado algunas luces al respecto. Las CIC parecen estar uniformemente distribuidas en el colon sano y su presencia no disminuye con los años. En la constipación por tránsito lento (slow transit constipation) existe reducción de las CIC difusamente a lo largo de todo el colon. No está claro aún si es una causa o consecuencia o si es congénita o adquirida.

Cabe destacar que hay un vacío significativo en lo que respecta al uso de laxantes. Si bien no se ha demostrado que los derivados de la antraquinona produzcan daño a las neuronas del plexo entérico, no se ha estudiado su efecto sobre las CIC.

Para los clínicos, lo interesante es que algunos enfoques actuales casi dogmáticos podrían cambiar radicalmente en un futuro bastante próximo. En efecto, si las CIC son mediadoras entre las terminaciones nerviosas y las células entéricas su enfermedad puede ser interpretada clínicamente como neuropatía visceral. Esta es, por ejemplo, la interpretación actual de la gastroparesia diabética¹². En rigor, la disfunción podría ser de las CIC y no del sistema nervioso entérico. La diferencia no es sólo semántica, ya que la plasticidad y capacidad de

recuperación de las CIC aparece muy superior a las de las células nerviosas, lo que nos permitiría opciones de evolución y terapias radicalmente diferentes.

Las CIC y la patología aguda

Investigadores de la universidad de McMaster en Canadá han demostrado que la infección experimental de ratas por *Trichinella spiralis* afecta la actividad eléctrica de las CIC asociadas al plexo de Auerbach (CICmy). Uno a cinco días después de la infección aparecía daño estructural, particularmente en las prolongaciones de las CIC que las conectaban entre si y con las células musculares lisas. El resultado era la pérdida de la sincronización de la actividad de marcapasos. Se alteraban las ondas lentas llegando hasta duplicarse o aparecía poca actividad eléctrica lo que conducía a la aparición de actividad eléctrica ectópica. Nótese la semejanza con lo que ocurre en el corazón. La respuesta motora del intestino delgado *in vivo* cambiaba desde períodos de ausencia de motilidad hasta la aparición de ondas contráctiles anormales, que se propagaban tanto hacia distal como hacia proximal. Sesenta días después de la infección, la actividad motora podía volver a lo normal¹³.

Otro elemento que puede tener gran trascendencia, ha sido descrito por investigadores de la misma universidad, al demostrar que la infección experimental de la mucosa, en el mismo modelo de *T. spiralis*, produce daño ultraestructural de las CIC asociadas al plexo de Auerbach (CICmy o Ap). Estas células mantienen su inmunogenicidad por lo que todos los estudios con tinciones de inmunohistoquímica *c-kit* *aparecen normales*. Sin embargo, los estudios con microscopía electrónica demostraron que especialmente las CICmy vecinas a los vasos sanguíneos tenían daño estructural. Lo más interesante es que este daño no es a las estructuras intracelulares sino que a la membrana celular y los filamentos, y por lo tanto, afectaba su contacto con las células musculares lisas y los nervios. El daño era parcelar y al estar las células en red se mantenía la generación de ondas lentas y la peristalsis. Sin embargo, las ondas lentas eran anormales y la peristalsis estaba alterada¹⁴.

Otra información reciente apunta a que, aparte del daño estructural de la célula o su muerte, también se produce una diferenciación, en que las CIC sufren una regresión y cambio en su función. Esto abre la puerta a un enfoque genómico para modificar la regulación genotípica de las CIC.

La aplicación clínica de estos estudios está aun muy lejos, pero desde ya, con mínima imaginación, podemos proyectarnos hacia el día en que se perfeccionen los métodos no invasivos y podamos acceder en pacientes a estudios a nivel ultraestructural. Por el momento se requiere una biopsia de todo el espesor de la pared y complejos métodos de microscopía electrónica y estudios de inmunohistoquímica.

Esta nueva información es otro argumento para quienes creemos que los denominados trastornos funcionales del tubo digestivo tienen más sustrato orgánico que lo que muchos están dispuestos a conceder.

Las células de Cajal y los GIST

El concepto actual es que los GIST (gastrointestinal stromal tumors) surgen de las CIC. Los GISTs, previamente clasificados como tumores del músculo liso, constituyen la mayor parte de los tumores mesenquimales del tubo digestivo, salvo en el esófago donde los miomas clásicos son más comunes que los GISTs. Se solían llamar leiomiomas, leiomioma celular, leiomioblastomas o leiomiomasarcomas digestivos. Particularmente estos últimos hoy son categóricamente clasificados como GISTs.

Aparecen tardíamente (sexta a octava década de vida), no tienen distinción de sexo y van desde tumores indolentes, pequeños, de comportamiento en extremo benigno a sarcomas, con recurrencias y metástasis a distancia.

Los GISTs ocurren no sólo en el tubo digestivo sino que también en el mesenterio y epiplón. Son más comunes en el estómago (60-

70%), luego en el intestino delgado (20 a 30%). El colon y el esófago dan cuenta del resto¹⁵.

La mayor parte de los GIST (hasta el 80%) surgen por una mutación en un gen denominado **c-kit**. Este gen codifica un receptor de membrana para un factor de crecimiento llamado **scf** (stem cell factor). El receptor c-kit/CD117 está expresado en las CIC y en muchas otras células, particularmente médula ósea, mastocitos, melanocitos, pero ninguna otra a nivel del tubo digestivo.

La molécula de c-kit tiene una porción intracelular y una extracelular, además de una porción en la pared misma de la célula (transcelular). Las mutaciones ocurren en el DNA que codifica la porción intracelular (exon 11*) que actúa como una tirosinquinasa para activar otras enzimas. La mutación consiste en que la c-kit se hace independiente de la activación por scf, lo que lleva a una gran división celular y a inestabilidad genómica. Probablemente, como en otros tumores, se requieren mutaciones adicionales, pero la secuencia inicial de esta cadena de acontecimientos se inicia así.

Esta mutación tendría mayor trascendencia en los GISTs de comportamiento maligno. Es por esto que es el blanco principal de las investigaciones con fines de desarrollar una estrategia terapéutica. Si bien el tratamiento de elección es la exéresis del tumor hay bastantes casos de tipo sarcomatoso con metástasis. Es en estos casos que se buscan alternativas.

Comentamos que las quinzas de proteínas se desregulan o sobreexpresan en tumores malignos secundariamente a mutaciones genéticas. Ellas se pueden atacar con inhibidores selectivos. Así, se utiliza el mesilato de imatinib (STI571, Glivec o Gleevec®), que es un potente inhibidor de tirosinquinzas, desarrollado como antileucémico, que es útil en los casos de GISTs de comportamiento maligno con metástasis, hasta aquí con respuestas en el corto plazo de 60 a 70%.

*exon = la región de un gen que contiene el código para producir la proteína del gen. Cada exon codifica una porción específica de la proteína total. En algunas especies, entre ellas los humanos, los exones de un gen están separados por largas regiones de DNA llamados intrones (o DNA basura) que no parecen tener una función específica.

Conclusión

El enorme acopio de información en los últimos años sobre la regulación de la motilidad del tubo digestivo, donde ha destacado el importante papel del sistema nervioso entérico, se hace más complejo de estudiar en la medida que se perfila el rol de las células intersticiales de Cajal. Estas actuarían como intermediarias entre los sistemas de regulación (tanto neural como hormonal) y la célula efectora final que es la célula muscular lisa de la pared. Su nivel de acción parece ser predominantemente sobre la actividad motora. Su estrecha relación física tanto con las células musculares como con el sistema nervioso entérico, así como tal vez el sistema nervioso autónomo, las ubica en una posición estratégica para cumplir esta función.

Se abre así un nuevo centro de atención que permite no sólo explicar trastornos de la motilidad sino que además, comprender tumores del tubo digestivo cuyo origen y comportamiento biológico hasta ahora no eran claros.

Resumen

Las células musculares lisas del tubo digestivo tienen tanto actividad eléctrica como mecánica. La contracción coordinada es regulada por un ritmo de marcapasos. La actividad eléctrica de marcapasos no es una propiedad intrínseca de la célula muscular, sino que es generada por un grupo especializado de otras células, dispuestas en una red entrelazada con los miocitos que se han denominado células intersticiales de Cajal, en honor del científico español Santiago Ramón y Cajal, quien las describió en el siglo XIX. En el tubo digestivo esta red está ubicada cerca del plexo mientérico y genera potenciales de marcapasos cuyos potenciales se transmiten pasivamente hacia las capas musculares vecinas donde generan cambios rítmicos en su potencial de membrana. El concepto actual es que los nervios autonómicos no contactan directamente con los miocitos para liberar sus neurotransmisores y así regular la función motora del tubo digestivo. En cambio, se contactan con las células de Cajal a través de sinapsis y éstas, a su vez, contactan con los miocitos vecinos. Por lo tanto, las células de

Cajal son las responsables de recibir (¿y modular?) los estímulos, tanto excitatorios como inhibitorios. El estudio de sus alteraciones está mejorando nuestros conocimientos de diferentes trastornos motores del tubo digestivo. Pero además, las células de Cajal son el origen de las líneas celulares que dan lugar a los tumores estromales del tubo digestivo (GIST o gastrointestinal stromal tumors). Esta información no sólo nos da una mejor comprensión de la fisiología sino que además, permite diseñar terapias para estos tumores, en la medida que se conocen las bases moleculares y genéticas de esta transformación.

Palabras claves: células intersticiales de Cajal; motilidad digestiva; tumores estromales (GIST).

Bibliografía

- 1.- Ward S. Interstitial cells of Cajal in enteric neurotransmission. *Gut* 2000; 47 (Suppl 4): iv 40-3.
- 2.- Daniel E. Physiology and pathophysiology of the interstitial cell of Cajal: from bench to bedside III. Interaction of interstitial cells of Cajal with neuromediators: an interim assessment. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G 1329-32.
- 3.- Chang I, Glasgow N, Takayama I, et al. Loss of interstitial cells of Cajal and development of electrical dysfunction in murine small bowel obstruction. *J Physiol* 2001; 536: 555-68.
- 4.- Rumessen J. Identification of interstitial cells of Cajal. Significance for morphological studies of human gut. *American Gastroenterological Association Digestive Disease Week 1997*. www.physio.unr.edu/icc/review/Review.html (Conección 1-9-2005).
- 5.- Long Q, Fang D, Shi H, Luo Y. Gastro-electric dysrhythm and lack of gastric interstitial cells of Cajal. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1227-30.
- 6.- Takayama I, Horiguchi K, Daigo Y, et al. The interstitial cells of Cajal and a gastroenteric pacemaker system. *Arch Histol Cytol* 2002; 65: 1-26.
- 7.- Burns A, Lomax A, Torihashi S, Sanders K, Ward S. Interstitial cells of Cajal mediate inhibitory neurotransmission in the stomach. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 12008-13.
- 8.- Lyford G, He C, Soffer E, et al. Pan-colonic decrease in interstitial cells of Cajal in patients with slow transit constipation. *Gut* 2002; 51:496-501.
- 9.- He C, Soffer E, Ferris C, et al. Loss of interstitial cells of Cajal and inhibitory innervation in insulin-dependent diabetes. *Gastroenterology* 2001; 121: 427-34.
- 10.- Hagger R, Finlayson C, Kahn F, et al. A deficiency of interstitial cells of Cajal in chagasic megacolon. *J Auton Nerv Syst* 2000; 80: 108-11.

- 11.- Zárate N, Mearín F, Wang X, et al. Severe idiopathic gastroparesis due to neuronal and interstitial cells of Cajal degeneration: pathological findings and management. *Gut* 2003; 52: 966-70.
- 12.- Sanders K, Ördög, T, Ward S. Physiology and pathophysiology of the interstitial cells of Cajal: From bench to bedside. IV. Genetic and animal models of GI motility disorders caused by loss of interstitial cells of Cajal. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: G 747-56.
- 13.- Der T, Bercik P, Donnelly G, et al. Interstitial cells of Cajal and inflammation-induced motor dysfunction in the mouse small intestine. *Gastroenterology* 2000; 119: 1590-9.
- 14.- Wang X, Berezin I, Mikkelsen H, et al. Pathology of interstitial cells of Cajal in relation to inflammation revealed by ultrastructure but not immunohistochemistry. *Am J Pathol* 2002; 160: 1529-40.
- 15.- Blay J, Ray-Coquard I. Gastrointestinal stromal tumors (GIST): a recently described entity with a specific treatment targeted on molecular causes. *Eurocancer, Jónn Libbey Eurotext, Paris, 2001, pp. 171-2.*

Correspondencia a:
Dr. Raúl Yazigi G.
Apoquindo 3990 Of 1104
E-mail: raulyazigi@hotmail.com