

## EDITORIAL

### LEUCOCITOS: GRANULOS O LISOSOMAS?

Christian De Duve, el descubridor de los lisosomas, desarrolla el concepto sobre este organelo, diciendo que "es una diminuta bolsa, llena de un poderoso jugo digestivo" (1). Trabajando en su laboratorio de la Universidad Católica de Lovaina, De Duve se vió envuelto (1949) en una serie de circunstancias y observaciones casuales, que lo llevaron a su hallazgo. Utilizando la técnica de fraccionamiento celular por centrifugación, obtuvo diferentes tipos de organelos. El trataba de explorar estos organelos mediante métodos bioquímicos, dentro de un estudio que realizaba intentando localizar enzimas comprometidas en el metabolismo de los hidratos de carbono, en el hígado de las ratas. Quería determinar a cuáles estructuras celulares estaban asociadas esas enzimas. El trabajo habitual consistía en ver, en el homogenado de células rotas, la presencia de determinada enzima; para luego buscar en las fracciones la actividad de esa enzima. En la lista de enzimas buscadas rutinariamente, De Duve incluyó a la fosfatasa ácida, con fines de control, a pesar de que no está directamente relacionada con el metabolismo de los carbohidratos. Observó entonces que la actividad de fosfatasa ácida del homogenado era de cinco a diez veces inferior, a la actividad esperada basándose en experimentos previos (homogenización drástica con Waring Blender). Al repetir la determinación sobre las mismas fracciones (conservadas en hielo),

cinco días después, la actividad total estaba ya dentro de los límites esperados. La actividad era especialmente importante en la fracción particulada que contenía las mitocondrias. Experimentos adicionales le aclararon a De Duve que la enzima está casi totalmente confinada dentro de partículas en forma de bolsas pequeñas. Lo que se estaba midiendo era la enzima libre en la célula o la que se había salido de los organelos, como consecuencia de las manipulaciones. Como con el Waring Blender se rompían prácticamente todas las partículas, y con la centrifugación más suave que se estaba empleando, solamente se rompían alrededor del 10%, esto explica el bajo rendimiento logrado. El incremento de actividad enzimática que se obtuvo después de estar la muestra cinco días en nevera, puede explicarse por el envejecimiento de las partículas y la probable ruptura de la membrana limitante. Primeramente De Duve pensó que los organelos ricos en fosfatasa ácida eran las mitocondrias. Fue después de varios años de trabajo que logró identificar los lisosomas como grupo separado. Considerado como un grupo, las enzimas presentes en las partículas, podrían tener función digestiva (pensó De Duve) y por eso llamó lisosoma (cuerpos que lisan) a los nuevos organelos (1). Fue en 1955 cuando, trabajando con Novikoff (en Nueva York), De Duve vio las primeras microfotografías electrónicas de lisosomas parcialmente purificados, obtenidos de fracciones celulares. Dice De Duve que, "debido a la gran variación de tamaño y forma, no es posible identificar los lisosomas simplemente sobre la base de su aspecto". Y que "han sido el fisiólogo celular o el bioquímico, quienes han tenido que seguir proporcionando pistas al anatomista y al microscopista electrónico" (1).

Por otra parte, De Duve dice que, en lo tocante a los glóbulos blancos de la sangre, "Hirsch y Cohn han mostrado que los granulos son paquetes de enzimas digestivas que se ajustan a las especificaciones de los lisosomas". Cuando el leucocito fagocita una bacteria, por ejemplo, puede verse como los gránulos van desapareciendo al descargar su contenido en la vacuola digestiva que contiene la bacteria. Cuando las células pierden todos sus gránulos, quedan en su lugar vacuolas digestivas con el material en proceso de disolución. "Parece ser que las células no se recuperan después de este proceso y, eventualmente, mueren". De Robertis (2) citando también a Hirsch y Cohn (3), dice que "la microscopía electrónica y los estudios experimentales realizados en granulocitos, demostraron que los gránulos son, en realidad, paquetes de enzimas digestivas correspondientes a los lisosomas". Otro investigador científico muy ligado a la historia de los lisosomas, Novikoff, refiriéndose a los glóbulos blancos fagocíticos de los mamíferos, dice: "por efecto de las hidrolasas de lisosomas, de otras enzimas, y de sustancias antibacterianas no enzimáticas que

traen a las vacuolas otros gránulos, son destruídas casi todas las bacterias" (4). Continúa diciendo Novikoff: "cuando los glóbulos blancos fagocitan las bacterias, ciertos gránulos citoplasmáticos ricos en lisozima, se unen con las vacuolas fagocíticas como los lisosomas". Se ve aquí claramente, que esos gránulos que actúan "como los lisosomas", son verdaderamente lisosomas: contienen lisozima y su misión es lisar la bacteria. Si un cuerpo que lisa no puede ser llamado lisosoma, estamos frente a un contrasentido. Eso demuestra que el criterio bioquímico ha introducido una confusión innecesaria y perjudicial. Para nosotros, que seguimos el criterio morfológico, todo cuerpo que lisa es lisosoma y, en lo que respecta a los gránulos de los leucocitos segmentados neutrófilos (desde el punto de vista morfológico), todos los gránulos redondeados u ovalados, rodeados por membrana única y con estructura granulosa de mediana electrodensidad, son lisosomas. El hecho fortuito de que se identificara la fosfatasa ácida en los primeros lisosomas estudiados, no da ninguna base para dejar la exclusividad del término a los gránulos que contengan esa enzima. Creo que ese concepto bioquímico está superado, y pienso que cualquier organelo que tenga las características morfológicas de un lisosoma, si contiene enzimas líticas (o sustancias líticas no enzimáticas) es verdaderamente un lisosoma, aunque no contenga fosfatasa ácida. Sostengo que el concepto inicialmente establecido por De Duve ("cuerpos que lisan") es el acertado. Si bien es verdad que encontrar fosfatasa ácida en un gránulo permite su identificación como lisosoma, sin dejar ninguna duda, también es cierto que eso no determina, de ninguna manera, que no son lisosomas aquellos gránulos que no contengan la enzima.

Se nos pudiera decir que no podemos estar seguros de que medimos lisosomas cuando medimos gránulos, puesto que hemos hecho un estudio morfológico sin comprobación citoquímica. Consideramos que el hecho de haberse determinado inicialmente el contenido enzimático (fosfatasas ácidas) de un tipo de lisosomas y de exigirse en lo sucesivo ese requisito para la identificación lisosomal, ha creado una confusión completamente innecesaria. No tiene sentido hablar de gránulos azurófilos o gránulos específicos como entidades diferentes. Morfológicamente hablando, son similares, a pesar de tener variaciones de tamaño y de grado de electrodensidad; y fisiológicamente hablando, todos cumplen actividad metabólica a través de su contenido, sea o no enzimático. Para nosotros, todos son lisosomas (cuerpos que lisan). El hecho de que diferentes lisosomas tengan diferente contenido enzimático, no justifica la creación de confusiones terminológicas inconvenientes e inútiles. El criterio morfológico no tiene por qué esperar una confirmación bioquímica. Por este camino se ha llegado tan lejos, que nos encontramos con el contrasentido de que no pueden ser llamados lisosomas, gránulos que contienen lisozima y cumplen función lítica antibacteriana.

Aunque respeto, sin compartirlo, el criterio de los bioquímicos, doy las razones que tengo, siendo morfologo, para considerar que el concepto bioquímico inicial de lisosomas, se ha quedado rezagado. Los morfologos no tenemos por qué esperar la confirmación bioquímica para hablar de lisosomas, así como no hay que esperar la demostración de enzimas mitocondriales, para hablar de mitocondrias. Por lo menos en lo que respecta a los leucocitos segmentados neutrófilos, no tiene sentido llamar gránulos a unos organelos y lisosomas a otros; ni tiene sentido esperar el criterio bioquímico; ni tiene sentido basar el diagnóstico de lisosomas en la identificación de una sola enzima. El microscopista electrónico, puede hablar, con propiedad, de lisosomas. El criterio morfológico es suficiente. En los leucocitos segmentados neutrófilos, todos los gránulos son lisosomas.

**Dr. Américo Negrette**

- 1—DE DUVE C: *El lisosoma*. En: *La célula viva*. Villanueva JR, ed. pp. 114-123. Editorial Héroe, S.A. Madrid, 1969.
  - 2—DE ROBERTIS EDP, INOWINSKI WW, SAEZ FA: *Biología Celular*, pp. 390-395. Editorial El Ateneo, Buenos Aires, 1970.
  - 3—HIRSCH JG, COHN ZA: *Degranulation of polymorphonuclear leucocytes following phagocytosis of microorganisms*. *J Exp Med* 112: 1005, 1960.
  - 4—NOVIKOFF AB, HORLTZMAN E: *Estructura y dinámica celular*, pp. 117-122. Nueva Editorial Interamericana, S.A. México, 1972.
-