

Identificación celular en la placa basal de placenta humana

Drs. *Oliver C Castejón S, Renato Belouche C, Virginia Morett de Castejón*

Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital "Ángel Larralde", Instituto Venezolano del Seguro Social, Valencia. Laboratorio del Hospital "Carabaño Tosta", Instituto Venezolano del Seguro Social, Maracay, Estado Aragua.

RESUMEN

Objetivo: exponer la superficie de células trofoblásticas y deciduales para su identificación en la placa basal de placenta humana a término.

Método: Se trataron especímenes con las técnicas convencionales de microscopía electrónica de barrido. Las muestras, una vez desecadas en el desecador a punto crítico, fueron micromanipuladas y evaluadas hasta la obtención de superficie que fueron comparadas con imágenes de microscopía electrónica de transmisión de estudios previamente realizados.

Ambiente: Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Maracay, Estado Aragua.

Resultados: Las membranas trofoblásticas exhiben microvellosidades irregulares, pliegues, elevaciones y depresiones o forman pequeñas burbujas o vejigas intercaladas en regiones lisas. Las de células deciduales presentaron prolongaciones pedunculadas en forma de mazo.

Conclusión: Esta nueva visión tridimensional demuestra las membranas de ambos tipos celulares en su relación con la matriz extracelular. Consideraciones sobre los mecanismos fisiológicos de interacción con ella, son descritas en referencia a procesos de interés clínico durante el embarazo.

Palabras clave: Membrana plasmática. Células trofoblásticas - deciduales. ME

SUMMARY

Objective: To expose the cell surface of trophoblast and decidua cells for their identification in the basal plate of term human placenta.

Method: Specimens were processed according to conventional methods of scanning electron microscopy. Samples were dried in the critical point dryer, micromanipulated and tested until obtain images that were compared with transmission electron microscopic images from previously reported studies.

Sitting: "Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo". Maracay, Estado Aragua.

Results: Cell membrane of trophoblast cells exhibited irregular microvilli, folds, evaginations, invaginations or blebs intercalated on smooth zones. The decidua cells showed, typical peduncular protrusions.

Conclusion: This new three-dimensional view illustrates proper identification of both cell surfaces in their relationship with extracellular matrix. Aspects on physiologic mechanism of interaction in the extracellular matrix are described with reference to events of a great clinical importance during pregnancy.

Key words: Plasma membrane. Decidua cells. Trophoblast cells. MEB

INTRODUCCIÓN

Una población celular de diferentes tipos maternal o fetal componen la placa basal de la placenta humana. Anatómicamente esta región presenta una capa de decidua basal superficial cercana al espacio intervilloso formada en parte por sincitio y citotrofoblasto periférico o columnar y otra capa profunda de decidua basal que contiene citotrofoblastos intersticiales, células deciduales, células gigantes sincitiales o deciduales, células de los vasos, trofoblastos intravasculares, células de glándulas

basales y las extravasadas como leucocitos. Además células plasmáticas y macrófagos suelen verse en estas dos zonas, las cuales se limitan por la línea de separación placentaria expuesta durante el alumbramiento (1). Con la microscopía de luz, se hace difícil la identificación celular en una zona donde la necrosis, degeneración y envejecimiento celular ocurren. En esta región de unión feto-materna se requiere de otras metodologías para precisar mejor la identificación en los trabajos de investigación.

Numerosos estudios con microscopía electrónica de transmisión (MET), han mostrado resultados en un solo plano, en cortes ultrafinos de 250-300 Å con detalles de la ultraestructura celular, dando una imagen parcial que no corresponde a la totalidad de la célula (2). En otras palabras, las estructuras que no pasan por la superficie de corte no pueden ser mostradas y se requiere de numerosos cortes seriados para finalmente tener una imagen tridimensional reconstruida a base de esfuerzo, paciencia y consumo de tiempo. La microscopía electrónica de barrido (3), con mayor profundidad de campo y capacidad para los detalles a nivel de superficies nos brinda la posibilidad en base a imágenes de membranas celulares de añadir una visión tridimensional que contribuye con la problemática de identificación. Nuestro propósito en este estudio es la de exponer la superficie de células trofoblásticas y deciduales sepultadas por una matriz de fibrinoide en la placa basal a término con las técnicas de microscopía electrónica de barrido. Algunas consideraciones sobre mecanismos de interacción en la zona serán dadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Fragmentos de tejido tomados de la placa basal de placenta humana fueron fijados durante toda la noche por inmersión en glutaraldehído al 2% en Buffer fosfato 0,1 M, pH 7,4. Después de lavarse en solución salina buferada, el tejido placentario fue deshidratado a través de una serie creciente de alcohol, desecado por el método de punto crítico con CO₂ líquido usando un desecador para punto crítico Hitachi HCP-2 (Nissei, Sanyo CO; LTD, Tokio, Japón). Una vez desecados los especímenes fueron microdisecados bajo lupa estereoscópica binocular y micromanipulados hasta lograr cortes que evaluados con la microscopía electrónica de barrido exhibieran las superficies de las células empotradas en la matriz de fibrinoide. Posteriormente estos cortes fueron montados en porta especímenes de aluminio y cubiertos con una mezcla de platino-paladio en un cobertor iónico IB3 (Eiko, CO;LTD, Tokio, Japón). Especímenes fueron observados y fotografiados usando un microscopio electrónico de barrido S2300 (Nissei Sanyo CO; LTD; Tokio, Japón) operando entre 10-20 KV. Observaciones fueron hechas entre el espacio intervelloso y la superficie de separación placentaria. Las imágenes se correlacionaron con las obtenidas de la misma zona con el microscopio electrónico de transmisión en trabajos previamente

realizados (2,4).

RESULTADOS

Como ha sido reportado en un trabajo preliminar (3) las células trofoblásticas observadas se localizan por debajo del tejido conjuntivo superficial en la capa de células X. Aparecen como poligonales en forma ovales o redondas, dispuestas como las hojas de una cebolla formando grupos de tres a cuatro (Figura 1). También suelen verse aisladas incluidas libremente dentro de una matriz intercelular compleja

FIGURA 1
REDUCIR A 8 X 5 cm

Figura 1. Parte de la superficie de tres células trofoblásticas empotradas en la matriz extracelular se observa en el centro de micrografía.

FIGURA 2
REDUCIR A 6 X 7 cm

Figura 2. Paquetes de fibras colágenas (flecha) se observan cerca a la superficie que presenta pliegues. Una trama de fibra se nota (*). Barra: 5 µm.

IDENTIFICACIÓN CELULAR EN PLACENTA

gránulo-filamentosa (Figuras 2,3,4). La superficie de la membrana celular se presenta como microvellosidades irregulares, pliegues, elevaciones o depresiones, a veces con forma de pequeñas vejigas o burbujas intercalados en pequeñas regiones lisas. Esta superficie puede estar rellena por la matriz intercelular impidiendo en algunos casos la identificación. Estas células son de tamaño variable de 20 a 50 μ . En algunos casos se logró observar el contenido intracelular (Figura 4).

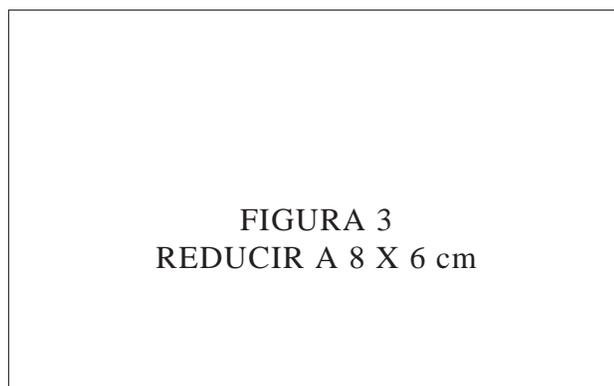


Figura 3. Restos celulares (flecha) sobre la superficie que presenta zonas lisas y extensiones de la membrana que varían de forma.

Las células deciduales (Figura 5) fueron identificadas por frecuentes prolongaciones de la membrana plasmática similares a protrusiones pedunculares o en forma de mazo. Se localizan en la capa profunda de la decidua basal entremezcladas con bandas de fibrinoide de Nitabuch y células trofoblásticas. Suelen ser de forma variable, redondas u ovaladas (Figura 6), de variable tamaño entre 8 a 100 μ .

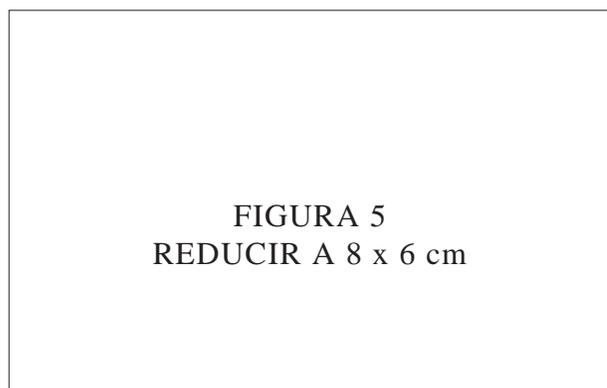


Figura 5. Típicas prolongaciones en forma de mazo o bacilos se observan en células deciduales. Barra: 5 μ m.

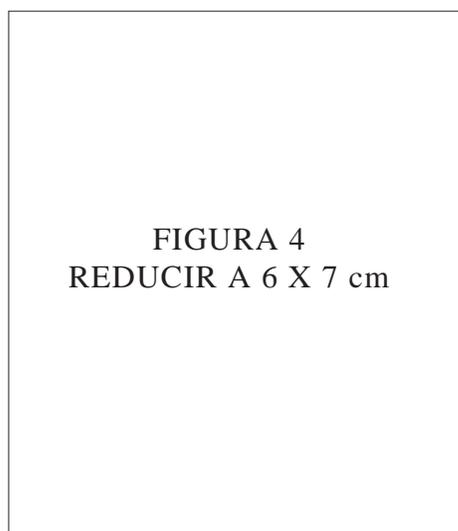


Figura 4. Regiones de dos células trofoblásticas. La superior demuestra parte de su contenido citoplasmático. Barra: 5 μ m.

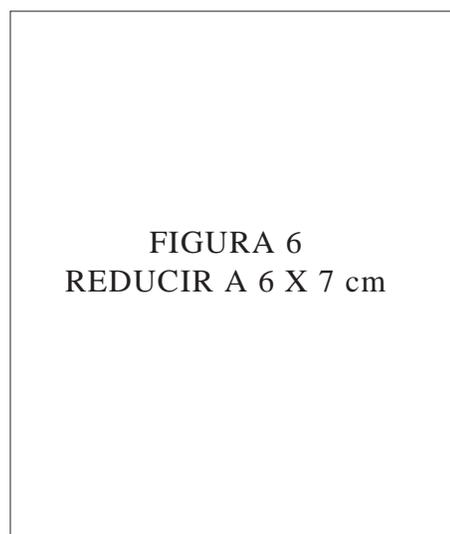


Figura 6. Región de Nitabuch en la cual se observa una célula trofoblástica (T) y una decidual (D). Barra: 5 μ m.

Las típicas prolongaciones de la membrana celular con forma de palo de golf, identifican las células del resto de la población semejando bacilos sobre su superficie. Algunas fibras colágenas se observan en la periferia de la membrana en la matriz extracelular (Figura 6). Las células en toda su extensión sin matriz extracelular que interfiera, pueden ser vistas en contacto con otras (Figura 7).

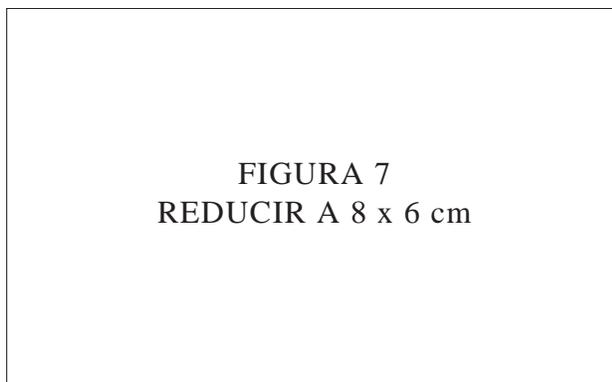


Figura 7. Dos células deciduales. La flecha indica el sitio de contacto.

DISCUSIÓN

La región profunda de la capa basal está afectada por procesos degenerativos, necrosis y de envejecimiento (2) que dificultan la identificación celular la cual ha requerido de una visión tridimensional con la microscopía electrónica de barrido para obtener una imagen más real similar a la existente *in vivo*. Las imágenes aquí mostradas se corresponden con las de microscopía electrónica de transmisión (2,4), lo que permitió la correcta identificación. Ambas técnicas contribuyen a identificar, esclarecer o mejorar el entendimiento sobre el papel que cumple la superficie de los dos tipos de células, genéticamente diferentes, en la zona materno-fetal de la placenta; lo que sería de interés para las investigaciones en esta área. Aún así, se requiere para reconocer cualquier elemento en esta zona tan compleja de otras metodologías como marcaje enzimático, localización inmuno-histoquímica de moléculas antigénicas con anticuerpos mono o policlonales en un esfuerzo de “disección inmunológica” como ha sido propuesto por Panigel (1).

Lo realmente nuevo en este trabajo son las

imágenes tridimensionales de los dos tipos celulares, sepultadas en la placa basal, lo que hasta la fecha no se había evidenciado con las técnicas de microscopía electrónica de barrido.

La membrana plasmática de las células trofoblásticas observadas en la vellosidad coriónica normal ha sido implicada como sitio de expresión de: 1. Factores (5) que regulan el crecimiento fetal y placentario. 2. Una barrera (6) para la transmisión materno-fetal de inmunidad pasiva, receptores (7) de Fc de IgG e interferon (8). 3. Receptores (9) de hCG/LH, hormona liberadora de corticotropina (10), de estrógenos y progesterona (11). 4. Receptores de transferrina y Ca.

Dado que las células trofoblásticas aquí descritas tienen similar dotación genética a la de la vellosidad coriónica, es posible, que compartan o tengan disminuidos estos rasgos, por haber tomado el material a término o estar incluidas en una matriz de fibrinoide. La interacción con esta matriz intercelular, puede estimular la multiplicación de estas células como ha sido reportado (12) en caso de reparación por daño. Esta matriz se compone de colágeno, fibrina, laminina, fibronectina y tenascina (13). Glicoproteínas transmembranales denominadas integrinas son receptoras de las proteínas como colágeno, fibronectina y laminina que se expresaron en estas células y regularon la migración e invasión en las etapas tempranas de la implantación (14). Además ayudan a formar la matriz extracelular recibiendo señales moleculares transducidas desde ella. Mientras el trofoblasto invade la decidua, se ancla a la fibronectina que le sirve de plataforma para su migración; siendo detenida por tenascina que interfiere cuando cesa el movimiento. La matriz puede ser degradada mediante metaloproteinasas que actúan desde la membrana plasmática o son secretadas en esta invasión facilitando este evento (14). La alteración de este mecanismo fisiológico tiene una enorme repercusión clínica; si no hubiesen ocurrido estos eventos que fueron regulados por las membranas aquí demostradas habría retardo del crecimiento intrauterino o aborto.

La membrana plasmática de células deciduales también participó en estos eventos limitando la acción de las metaloproteinasas trofoblásticas (15). El material que rodea a las células deciduales puede contener fibronectina, producto de la respuesta decidual ante la invasión, como un mecanismo regulador, recientemente evidenciado por Korhonen y Virtanen (16). Las integrinas asociadas a las membranas de estas células, prepararon el endo-

metrio para la implantación y son la clave para el conocimiento de la fertilidad humana (17). Se ha sugerido que la interacción de integrina con laminina y colágeno IV, aumenta la invasión y que la unión de integrina con fibronectina la limita (18). Por otro lado, las extensiones pedunculares de las células deciduales contienen enzimas que por exocitosis caen en la matriz extracelular y la degradan (4). Esto facilitaría los cambios degenerativos en la línea de separación placentaria preparando el alumbramiento. Así, mecanismos fisiológicos que regulan la implantación y el alumbramiento, se expresan en la membrana plasmática de estos dos tipos de células en su interacción con la matriz extracelular de notable implicación clínica.

REFERENCIAS

1. Panigel M. Anatomy and morphology. The human placenta. *Clin Obstet Gynaecol* 1986;13:421-445.
2. Castejón OC. Cambios ultraestructurales por envejecimiento en células x- trofoblástica de placenta humana. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1994;54:25-29.
3. Castejón OC. The cytoarchitecture of the basal plate of the human placenta at term. *Mem 1er Cong Ecuat Micr Electr* 1994;27-29.
4. Castejón OC. An electron microscopic study of decidual cells of the human placenta at term. *Rev Micr Elect Biol Cel* 1984;8:49-69.
5. Hill DJ, Clemmons DR, Riley SC, Bassett N, Challis JR. Immunohistochemical localization of insulin growth factors (IGFs) and IGF bindings proteins-1,-2 and-3 in human placenta and fetal membranes. *Placenta* 1993;14:1-12.
6. Bright NA, Ockleford CD. Cytotrophoblast cells: a barrier to maternofetal transmission of pasive immunity. *J Histochem Cytochem* 1995;43:933-944.
7. Saji F, Koyama M, Matsuzaki N. Current topic: human placental Fc receptors. *Placenta* 1994;15:453-466.
8. Paulesu L, Romagnoli R, Cintonino M, Ricci MG, Garotta G. First trimester human trophoblast expresses both interferon-gamma and interferon-gamma-receptor. *J Reprod Immunol* 1994;27:37-48.
9. Shi QJ, Ley ZM, Rao CV, Lin J. Novel rol of human chorionic gonadotropin in differentiation of human cytotrophoblast. *Endocrinology* 1993;132:1387-1395.
10. Clifton VI, Owens PC, Robinson PJ, Smith R. Identification and characterization of a corticotrophin-releasing hormone receptor in human placenta. *Eur J Endocrinol* 1995;133:591-597.
11. Patricio B. Estrogen and progesterone receptors in the human placenta. *Rev Fr Gynecol Obstet* 1984;89:145-147.
12. Nelson DM, Crouch EC, Curran EM, Farmer DR. Trophoblast interaction with fibrin matrix. Epithelialization of perivillous fibrin deposits as a mechanism for villous repair in the human placenta. *Am J Pathol* 1990;136:855-665.
13. Frank HG, Malekzadeh F, Kertschanska S, Cresclimannon C, Castelluci M, Lang Y, et al. Immunohistochemistry of two different types of placental fibrinoid. *Act Anat Bassel* 1994;150:55-68.
14. Burrows TD, King A, Loke YW. Trophoblast migration during human placental implantation. *Hum Reprod Update* 1996;2:307-321.
15. Strickland S, Richards WG. Invasion of trophoblasts. *Cell* 1992;71:355-357.
16. Korhonen M, Virtanen Y. The distribution of laminins and fibronectins is modulated during extravillous trophoblastic cell differentiation and decidual cell response to invasion in the human placenta. *J Histochem cytochem* 1997;45:569-581.
17. Shiokawa S, Yoshimura Y, Nagamatsu S, Sawa H, Hanashi, H, Koyama N et al. Function of $\beta 1$ integrins on human decidual cells during implantation. *Biol Reprod* 1996;54:745-752.
18. Damsky CH, Librach C, Lim KH, Fitzgerald ML, McMaster MT, Janatpour M, et al. Integrin switching regulates normal trophoblast invasion. *Development* 1994;120:3657-3666.

Agradecimientos

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Carabobo (CODECIHT) y FUNDACITE Aragua, por el financiamiento institucional de equipos de MEB; Fac. de Ciencias de la Salud por el Fondo Fijo Institucional y a la Sra. Keyla Aguilar por mecanografiar el manuscrito.