

Filamentos citoplasmáticos y secreción celular en células X trofoblásticas de la placa basal de la placenta humana a término

Drs. Olivar Castejón, Renato Belouche, Virginia Morett de Castejón

Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud. Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua (CIADANA), Hospitales "Ángel Larralde", Valencia y "Carabaño Tosta", Maracay.

RESUMEN

Para determinar la participación del citoesqueleto en algún mecanismo de secreción en células X de placenta humana, fue hecho un estudio ultraestructural. Muestras de la placa basal fueron procesadas mediante microscopía electrónica de transmisión. Las observaciones revelaron amplias regiones citoplasmáticas que contenían paquetes de filamentos aparentemente distribuidos de manera irregular. Dos clases diferentes de filamentos fueron vistos: a. filamentos intermedios y b. filamentos similares a la actina, ambos de aproximadamente 100Å y 40-60Å en diámetro, respectivamente. Filamentos intermedios fueron vistos asociados con mitocondrias. Mitocondrias y cortos fragmentos de retículo endoplásmico rugoso estuvieron separados por paquetes de filamentos intermedios. No se encontraron gránulos secretorios electrón densos limitados por membranas, ni conectados a los filamentos, en cantidad apreciable. Regiones de Golgi no originan granulos. Los resultados sugieren que los filamentos cumplen un papel citoesquelético en los procesos de degeneración de la placa basal durante la etapa final del embarazo. En conclusión, no hay evidencia de secreción celular en estas células, ni participación del citoesqueleto en este mecanismo.

Palabras clave: Filamentos citoplasmáticos. Secreción. Células X. Placenta humana. Microscopio electrónico.

SUMMARY

In order to determine the involvement of cytoskeleton in any mechanism of secretion in X cell of human placenta an ultrastructural study was done. Samples of basal plate were processed for electron microscopy of transmission. The observations revealed widespread cytoplasmic regions containing bundles of filaments distributed in an irregular fashion. Two distinct classes of filaments were seen: a. intermediate filaments and b. actin-like filaments both of approximately 100 Å and 40-60 Å in diameter respectively. Intermediate filaments were associated with mitochondria. Mitochondria and short fragments of rugose reticulum endothelial were separated by bundles of intermediate filaments. Electron dense secretory granules bound by membrane were not found neither associated to filaments. Golgi regions do not contain these granules. X- degenerated cells were also found with prominent bundles. In conclusion there is not evidence of hormone secretion in these cells neither involvement of cytoskeleton in this event. The results suggest that the filaments may be involved in their cytoskeletal role in the processes of degeneration of the basal plate during late pregnancy.

Key words: Cytoplasmic filaments. Secretion. X cell. Human placenta. Electron microscopy.

INTRODUCCIÓN

Este estudio hace referencia a filamentos citoplasmáticos observados en las llamadas "células X" trofoblásticas (1), los cuales han sido clasificados como microfilamentos y filamentos intermediarios. Estos dos elementos del citoesqueleto han sido relacionados con los mecanismos de secreción hor-

monal en el lóbulo anterior de la pituitaria (2). La placenta produce una gran variedad de sustancias bioactivas de competencia endocrina: así, por ejemplo, hormonas gonadales y pituitarias, hormonas liberadoras o inhibidoras como las hipotalámicas (3) y que son similares a las del eje gonado-hipotalámico-pituitaria (4) que le dan a este órgano un carácter endocrino.

La gran mayoría de estudios realizados en el campo de la endocrinología placentaria hacen referencia a las células trofoblásticas de la vello-sidad. Muy pocos estudios se refieren a los mecanismos de secreción de estas individualizadas células trofoblásticas sepultadas por fibrinoide en la placa basal.

A las células citotrofoblásticas del componente materno placentario se les ha asignado un papel endocrino (5), por métodos de inmunocitoquímica. Previos estudios han hecho sólo mención de estas estructuras fibrosas, sin aclarar su participación en los mecanismos de secreción hormonal.

Además, estudios ultraestructurales del compo-nente maternal de la placenta han dado poca atención a la naturaleza, organización y distribución de estos filamentos y su relación con el mecanismo de secreción. Con la intención de entender el posible significado funcional de estos elementos del citoesqueleto en estas células durante la etapa final del embarazo, el presente estudio describe las características, distribución e interrelaciones con otros organelos tratando de buscar la evidencia ultraestructural de algún mecanismo de secreción celular.

MATERIALES Y MÉTODOS

Placentas a término fueron obtenidas inme-diatamente después de los partos de embarazos clínicamente normales. Pequeñas piezas de tejidos fueron disecadas asépticamente de la placa basal y del septum placentario, usualmente midieron aproximadamente 0,3 por 0,3 cm de diámetro y fueron fijados por inmersión en 2% de glutaraldehido en 0,1 M de buffer fosfato (pH 7,2-7,4), durante dos horas a temperatura ambiente, lavados en buffer similar y deshidratados en la serie de alcoholes y de óxido de propileno. Posteriormente, los tejidos fueron incluidos en Epon 812 (Shell Chemical Corp. Swaren, New Jersey, EE.UU.). Secciones de una μm de grosor fueron obtenidas para microscopía de

luz y teñidas con azul de toluidina para orientación topográfica. Secciones ultrafinas fueron obtenidas con un ultramicrotomo Porter Blum MT2 (Ivan Sorvall Inc., Norwalk, Connecticut, EE.UU.), equipado con cuchilla de diamante y fueron coleccionadas en rejillas de cobre. Estas secciones fueron teñidas con acetato de uranilo y citrato de plomo y luego examinadas con el microscopio electrónico H-500 (Nissei Sangyo Co. Ltd, Tokyo, Japón).

RESULTADOS

Las células X encontradas bajo la capa del sincitiotrofoblasto y tejido conjuntivo superficial de la placa basal de la placenta humana madura, presentaron una abundancia de material filamentososo (Figuras 1,2). Se obtuvo buena preservación y tinción de filamentos citoplasmáticos. Áreas de paquetes de filamentos demostraron un grosor varia-ble en secciones delgadas.



Figura 1. Visión típica de regiones de dos células trofoblásticas X. Numerosos agregados de filamentos (flecha) están presentes en el citoplasma. Se observa un gránulo electrón denso (flecha pequeña). Barra: 1 μm .

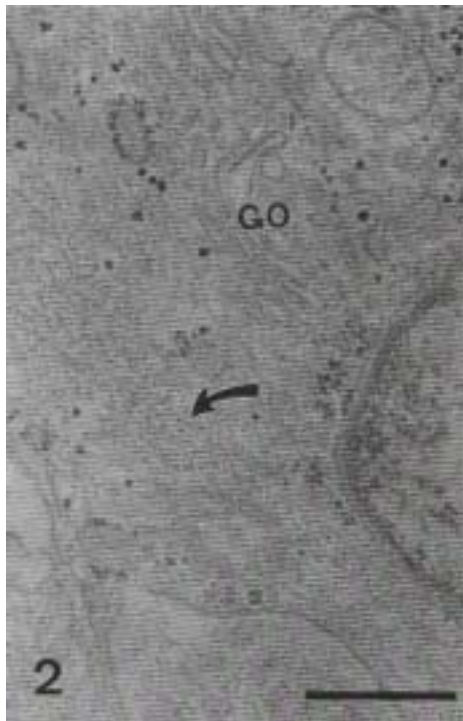


Figura 2. Área de célula X. Paquetes de filamentos intermedarios cortados transversalmente (flecha) están rodeando al Complejo de Golgi, que se observa carente de gránulos secretorios. Barra: 0,5 μ m.

En la mayoría de las secciones longitudinales, los filamentos son de uniforme densidad de electrones, con un diámetro de 40 a 100A y de longitud variable. En algunos casos los filamentos formaron una red de elementos aparentemente ramificados dentro de la matriz citoplasmática. De esta manera, dos diferentes clases de filamentos fueron vistos: a. filamentos semejantes a los de actina de 40-60A de diámetro aproximadamente, asociados a la membrana celular de la microvellosidad (Figura 3) y, b. filamentos intermedarios de 100A de diámetro dispersos en la matriz hialoplásmica. Hay regiones extensas que contienen un material microfilamentoso bajo la superficie de la membrana celular (Figura 3). Secciones longitudinales e irregulares de prolongaciones citoplasmáticas demostraron numerosos filamentos de 40-60A de diámetro. Filamentos de 100A fueron vistos asociados con cuerpos internados que semejan desmosomas intracitoplasmáticos. Usualmente muchos paquetes de filamentos cruzaron la matriz

hialoplásmica en diferentes direcciones y formaron una red compleja. En general, regiones citoplasmáticas amplias contienen aparentemente paquetes de filamentos de 100A distribuidos en forma irregular (Figura 4). A veces, suelen verse filamentos individuales tortuosos orientados al azar.

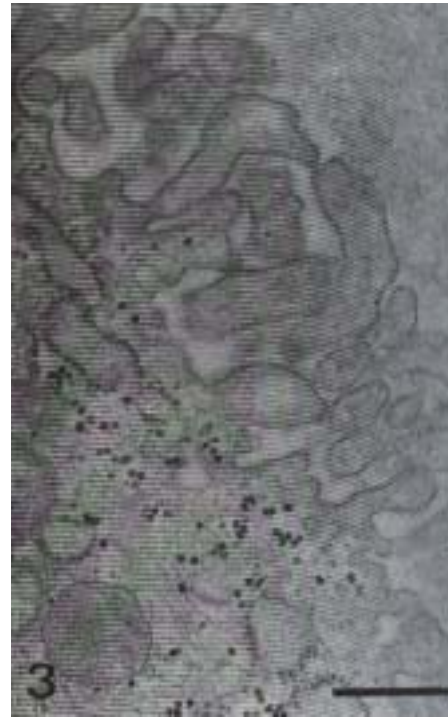


Figura 3. Microfilamentos de actina estrechamente empaquetados se observan en el centro de las microvellosidades de la membrana celular y en el área ectoplásmica. La superficie carece de gránulos secretorios para la exportación. Barra: 0,5 μ m.

Paquetes de filamentos de 100A en secciones longitudinal y transversal fueron observados cerca de la región de Golgi (Figura 2). Cortos fragmentos de retículo endoplásmico rugoso (RER) (Figura 4) fueron separados por paquetes de filamentos de 100A. En algunos casos, paquetes de filamentos dispuestos en forma concéntrica limitaron áreas que contienen cortos fragmentos de RER, mitocondrias y región de Golgi.

A menudo, filamentos pueden estar asociados con las membranas mitocondriales externas (Figura 4). Ocasionalmente, gránulos densos en electrones (Figura 1), cubiertos por membranas de varios tamaños, pudieron ser vistos a través del citoplasma y fue encontrada poca evidencia de contacto directo entre filamentos de 40-60A y tales gránulos. Así, no se observaron en cantidad apreciable, gránulos secretorios densos en electrones limitados por membrana como derivados de la zona de Golgi. Con frecuencia, numerosos filamentos rodearon la envoltura nuclear y parecen estar en contacto con ella.

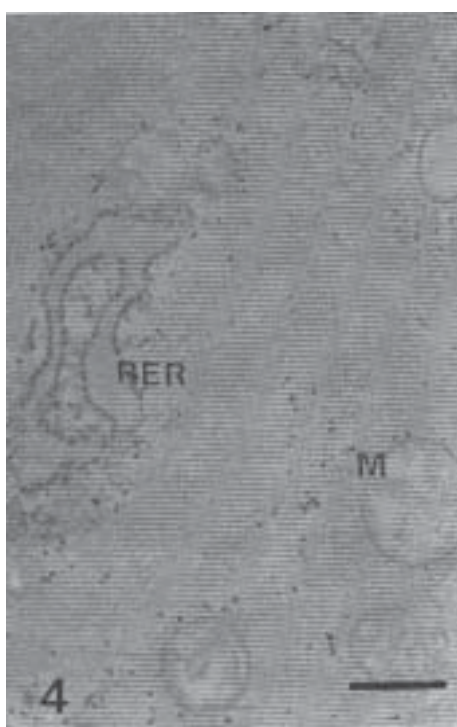


Figura 4. Parte del RER está rodeado por manojos circulares curvos de filamentos de 100A, que parece estar secuestrado por una barrera estructural formada por estos filamentos, que se asocian con mitocondrias y RER. Barra: 0,5 µm.

Filamentos curvos fueron orientados hacia profundas invaginaciones de la membrana nuclear. Fueron también vistos en etapas de degeneración celular, demostrándose prominentes paquetes de filamentos que parecen ramificarse y unirse de nuevo (Figura 5). Un aumento en el número de agregados de filamentos se notó en las células con avanzada etapa de degeneración.

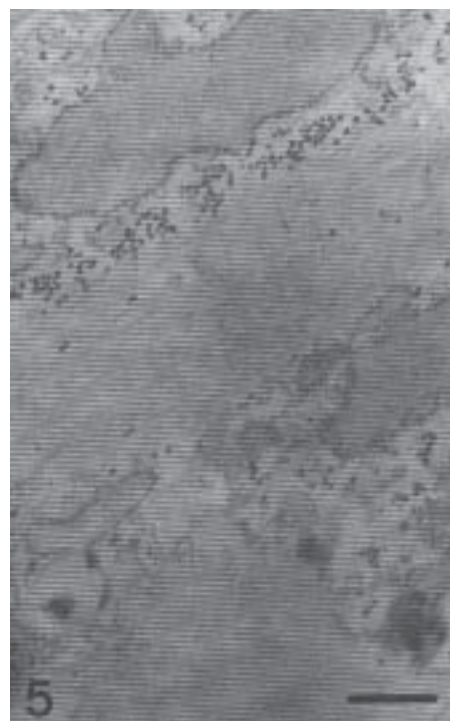


Figura 5. Paquetes de filamentos intermedios se notan al lado de cisternas dilatadas de RER con un contenido intracisternal granulofilamentoso. Pueden ser vistas áreas del citoplasma que indican cambios degenerativos severos. Barra: 0,5 µm.

DISCUSIÓN

Los filamentos reportados aquí parecen corresponder, sobre la base de sus dimensiones, a microfilamentos semejantes a los de actina y a filamentos intermediarios formados de citoqueratina (6), que participan en la formación del citoesqueleto.

En muchas células de secreción hormonal, generalmente se acepta que el citoesqueleto juega un papel principal en el transporte de gránulos secretorios desde el complejo de Golgi hasta la membrana celular. Los filamentos intermediarios actuarían como transmisores de señales desde la periferia celular hacia el núcleo, o conforman una trama que sostiene o protege los organelos de la matriz hialoplásmica e integran mecánicamente los espacios intracelulares. Los microfilamentos actuarían en el paso final de la exocitosis, se asocian a los

gránulos que, conteniendo la hormona, están cerca de la superficie celular y se fusionan con ella (2). Esta interacción de gránulo secretorio y elementos del citoesqueleto, es clave en los mecanismos de secreción de la hormona hacia la circulación sanguínea. No es realmente abundante la relación entre gránulos secretorios y filamentos citoplasmáticos en las células X, debido a que los gránulos secretorios vistos fueron ocasionalmente observados. Esta ausencia de secreción en estas células podría explicarse, posiblemente, por estar alejadas del riego sanguíneo y separadas por matriz de fibrinoide.

Las células citotrofoblásticas de la vellosidad, cercanas al espacio intervelloso, producen nítidos gránulos de hormona de liberación de corticotropina, los cuales han sido descritos con técnicas de inmunocitoquímica (7). Otra explicación pudiera ser que las muestras se obtuvieron a una hora del día en la cual las células no están produciendo las hormonas o gránulos secretorios. Con referencia a esto, no se han encontrado, en estudios referidos al aspecto neuroendocrino de la placenta, cambios circadianos significativos (3). Si bien no hay una evidencia ultraestructural de secreción en estas células, estas estructuras filamentosas podrían servir de sostén mecánico a las enzimas que inician el proceso de degeneración en la placa basal de la placenta en el embarazo a término. Estas células estarían genéticamente programadas para una muerte celular (1) y, al morir en grupos, dejarían pequeñas cavidades o pseudoquistes que al incrementar su número se facilitarían el desprendimiento placentario.

REFERENCIAS

1. Castejón OC. Cambios ultraestructurales por envejecimiento en células X trofoblásticas de placenta humana. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1994;54:25-29.
2. Ravindra R, Grosvenor CE. Involvement of cytoskeleton in polypeptide hormone secretion from the anterior pituitary lobe: a review. *Mol Cell Endocrinol* 1990;71:165-176.

3. Petraglia F, Cenazzani AD, Aguzzoli L, Gallinelli A, de-Vita D, Caruso A, Genazzani AR. Pulsatile fluctuations of plasma gonadotropin releasing hormone and corticotropin-releasing factor levels in healthy pregnant women. *Acta Obstet Ginecol Scand* 1994;73:284-289.
4. Zhang CL, Cheng LR, Wang H, Zhuang LZ, Huang WO. Neuropeptides and neurotransmitters in human placental villi. *Neuroendocrinol* 1991;53:77-83.
5. Buhler AS, Balabanova S. Detection of calcitonin and parathyroid hormone in the human placenta. *Zentralbl Gynakol* 1991;113:821-827.
6. Mirecka J, Harrarz M. Localization of intermediate filaments proteins in various structures of the human placenta as revealed by immunoperoxidase technique. *Gegenbaurs Morphol Jahrb* 1990;136:695-708.
7. Warren WB, Silverman AJ. Celular localization of corticotrophin releasing hormone in the human placenta fetal membranes and decidua. *Placenta* 1995;16:147-156.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Sr. Raúl Colina y Milagros Díaz, técnicos del laboratorio de microscopía electrónica del Instituto de Investigaciones Odontológicas de la Universidad Central de Venezuela, Caracas. A la secretaria Keyla Aguilar por mecanografiar el manuscrito. Este trabajo fue financiado en parte con subvención del Consejo de Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Carabobo (CODECIHT-UC).

Dirección de la correspondencia:
Laboratorio de Microscopía Electrónica. CIADANA. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo. Núcleo Aragua, Maracay, Venezuela. Apartado 4944.