



Vol. 3, N° 3. Año 1999

LA CITOARQUITECTURA DE LA PLACA BASAL DE LA PLACENTA HUMANA

Castejón, Olivar (1)

RESUMEN

Microscopía de luz y de Barrido se aplicaron para el estudio de la disposición citoarquitectónica, distribución y características de las capas que constituyen la placa basal de la placenta humana a término. Muestras fueron tomadas en la sala de parto, fijadas por inmersión en 2.5% de solución de Glutaraldehído y procesadas para secciones de tejidos incluidos en araldita mediante microscopía de luz y electrónica de barrido. La placa basal comprende: Sincitiotrofoblasto, capa de tejido conjuntivo, capa de células-X, fibrinoide de Nitabuch y decidua. Estas se ubicaron desde el espacio intervelloso hasta el límite de separación. Células deciduales y trofoblásticas se identificaron tomando como base sus razgos de superficie comparando con la ultraestructura obtenida de trabajos previos y la ubicación topográfica celular cercana a la interficie de separación. No hay un límite claro de separación entre las capas. El sincitio demostró una superficie lisa sin nódulos sinciciales ni microvellosidades. Se notaron escasos fibroblastos y subfibrillas de tejido conjuntivo demostrando ramificación, arcos y círculos. Aparecen cavidades en el grosor de la placa basal. Células -X presentaron vejigas bien diferenciadas y microvellosidades dilatadas en su superficie, disponiéndose en grupos de dos a cuatro. Una matriz intercelular gránulo-filamentosa compleja cubre a dichas células. Esta substancia se interpone entre células deciduales y trofoblásticas. Estos hallazgos proporcionaron una nueva visión tridimensional de la arquitectura convencionalmente descrita de la placa basal de la placenta humana.

Palabras claves: Microscopía Electrónica de Barrido-Placa basal-placenta humana.

ABSTRACT

THE CYTOARCHITECTURE OF THE BASAL PLATE OF THE HUMAN PLACENTA

Light and Scanning Electron Microscopy were applied to study the cytoarchitectonic arrangement, distribution and features of the layers composing the basal plate of the human placenta at term.

Samples were taken at delivery room, fixed by immersion in 2.5% glutaraldehyde solution and processed for light microscopical procedures of plastic embedded tissue sections and scanning electron microscopy technique. The basal plate is constituted by five layers: Syncytiotrophoblast, connective tissue layer, X-cell layer, Nitabuch's fibrinoid and decidua. These were located from the intervillous space to the placental separation border. Many trophoblastic and decidual cells were identified taking as reference their location and features of their surface near to the interface of the placental separation. There is not a clear limit zone between layers. Syncytium showed the smooth surface aspect without syncytial knots neither superficial microvilli. Scanty fibroblasts and subfibrils of the connective tissue showing branching, arches and circles were noted: Cavities appeared across the width of the basal plate. X-cells exhibited well differentiated blebs and some stumpy microvilli in their surface. They are arranged forming groups of 2-4 X-Cells. A complex granular-fibrillar intercellular matrix is covering the X-cells types found in the x-cells layer. This matrix is interposed between decidual and trophoblast cells. These findings provided a new three-dimensional view for the conventional discription of tissue architecture description of the basal plate.

Key Words: Scanning electron microscopy-basal plate-human placenta.

(1) Laboratorio de Microscopía Electrónica, CIADANA, Fac. Cs de la Salud. Nucleo Aragua. Maracay. Apdo .4944. Universidad de Carabobo. Financiado por Fundacite Aragua-Maracay; CDCHT-UC; Valencia.

Correspondencia: Prof.OC Castejón.Laboratorio de Microscopia
Electrónica,CIADANA,Fac.Cs de La Salud.Núcleo Aragua.Maracay Apdo
4944.Universidad de Carabobo.Telf. 043-710627;Fax:710647.

INTRODUCCION

La placa basal placentaria ha sido definida como el área de fusión entre el corión y la decidua basal (1).Esta zona es una mezcla de decidua superficial, incluyendo el segmento terminal de la vasculatura maternal, con fibrinoide y los restos de citotrofoblastos invasivos adheridos a la superficie maternal.

Estudios de Microscopía de Luz (ML) (2) han descrito las características básicas del componente celular de esta región. Hasta la fecha no se han visualizado imágenes correspondiente a una sistemática descripción de las capas de la placa basal a término con las técnicas de microscopía electrónica de barrido (MEB).Estas han sido muy poco usadas para examinar la disposición de las diferentes capas de la placa basal como fueron reportadas por Kaufmann y Stark (2) mediante investigaciones de ML en secciones de tejido incluidas en plástico. Reportes anteriores han abarcado la arquitectura del cotiledón y la aislada identificación de los tipos celulares en la zona de penetración feto-maternal (3) Así, un trabajo reciente (4) de la vellosidad de anclaje y su relación con el fibrinoide de la placa basal describe observaciones tridimensionales aunque no fueron mostradas microfotografías. Estudios de ML y Microscopía Electrónica de Transmisión (MET) han mostrado resultados en un solo plano, dando una imagen parcial, bidimensional, que no corresponde a la totalidad del tejido o estructura observada. En otras palabras, las estructuras que no se encuentran en la superficie de corte no pueden ser mostradas y se requiere de numerosos cortes seriados para finalmente obtener una imagen tridimensional reconstruida a base de esfuerzo, paciencia y consumo de tiempo. La MEB (5) con mayor profundidad de campo y capacidad para los detalles de superficie nos brinda en base a imágenes tridimensionales una visión más completa o integrada de lo observado que contribuye a resolver la problemática de la identificación .

La placa basal de la placenta humana madura se compone de las siguientes capas: Cobertura de sincitiotrofoblasto, capa de tejido conjuntivo superficial, capa de células-X,

capa de fibrinoide de Nitabuch y decidua (2). Este reporte describe las capas con la MEB ampliando un estudio suplementario hecho con ML.

MATERIALES Y METODOS

Muestras:

Diez placentas humanas fueron seleccionadas de embarazos clínicamente normales a término, coleccionadas al final de éstos inmediatamente después de 38,39 o 40 semanas, de partos espontáneos. Especímenes se disecaron de la región central parabasal según Bacon y Col (6).

Microscopía de Luz:

Secciones de tejidos fueron fijados fijados por inmersión en 2% de glutaraldehído en 0.1M de solución de buffer fosfato, a pH 7.4 por 4-16h a 4° C; post-fijados en solución de tetraóxido de osmio al 1% similarmente bufferado, deshidratado a través de concentraciones crecientes de alcohol e incluidos en Araldita. Secciones de 1-1.5um fueron obtenidas con un Porter Blum MT-2 (Ivan Sorvall Inc, Norwalk, Connecticut, EEUU) equipado con cuchilla de diamante, teñidas con azul de Toluidina y observadas con un microscopio de luz con equipo para microfotografía MC63A (Carl Zeiss, Oberkochen, West Germany)

Microscopia electronica de Barrido:

Especímenes fueron fijados toda la noche por inmersión en 2% de glutaraldehído en 0.1M buffer fosfato a pH 7.4. Después de ser lavados en solución salina buferada, los tejidos fueron deshidratados a través de una serie creciente de etanol, desecados por el método de punto crítico con CO₂, usando un desecador de punto crítico Hitachi HCP-2 (Nissei Sangyo Co, Ltd, Tokyo, Japón), montados en porta especímenes de Aluminio y cubiertos con una mezcla de Platino-Paladio bajo un cobertor Iónico IB3 (Eiko, Co; Ltd, Tokyo, J apón).

Los cortes fueron observados y fotografiados usando un microscopio electrónico de barrido Hitachi S2300 (Nissei Sangyo Co, Ltd, Tokyo ,Japón) operando a 10-20kV. Las

observaciones fueron hechas entre el espacio intervelloso y el borde de separación placentaria. Micrografías de luz similares a las reportados por Kaufmann y Stark (2) fueron correlacionadas con las de MEB según el criterio de clasificación descrito por ellos de los tipos celulares observados en secciones de ML de tejidos incluidos en Epón. Se usaron rangos de amplificación de la imagen desde 300x hasta 5K.

RESULTADOS

Se observó a nivel de ML las capas de células mencionadas al final de la introducción de este trabajo. No hay una zona de límite claro entre ellas. Dentro de una misma muestra varían considerablemente en grosor y extensión. La cobertura sincitial, la capa de tejido conjuntivo y la capa de células -X, a veces, pueden estar ausente o incompletas. La capa de Nitabuch es una banda irregular que puede ser vista sufriendo degeneración.

Se logró observar un sector de la placa basal con la MEB (Fig.1). El sincitio demostró el aspecto liso de su superficie, sin nódulos sincitiales, ni microvellosidades (Fig.2). El tejido conjuntivo fue visto compuesto de subfibrillas demostrando múltiples ramificaciones, arcos y círculos. Se observaron escasos fibroblastos. Las fibras están irregularmente dispuestas cruzando el espacio bajo el sincitio en forma no polarizada (Fig.3). Se notaron paquetes de fibras de colágeno. En algunas regiones esta capa es muy delgada y células deciduales o trofoblásticas suelen ser vistas cerca de esta.

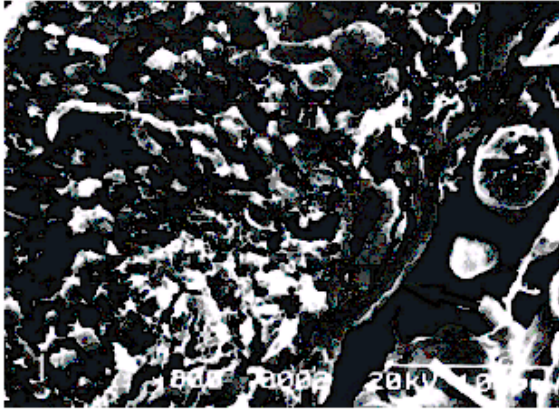


Fig. 1

Micrografía MEB de placa basal mostrando sincitio (flecha), tejido conjuntivo (CT) y distribución de células x (X). Pequeñas cavidades son vistas (flecha pequeña).

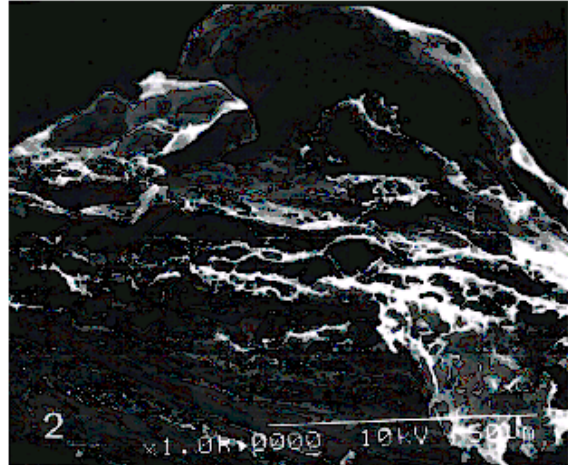


Fig. 2

Debajo del sincitio (S) la capa fibrosa del tejido conjuntivo es revelada.

La capa de células-X pudo ser identificada por su ubicación bajo la capa de tejido conjuntivo(Fig.1). Células -X aparecieron como redondas, ovales o poligonales dispuestas en grupos de dos a cuatro células (Fig.4). Pueden ser vistas libremente incluidas (Fig.5) en una matriz extracelular granulo-filamentosa compleja la cual se interpone entre células deciduales y trofoblásticas. Las células se reconocieron por la formación de microvellosidades cortas irregulares, como vejigas infladas o de forma de tocón sobre su superficie. Se observaron cavidades (Fig.1) en secciones transversales de especímenes que parecen corresponder a espacios claros rodeando la superficie celular de células-X también notados con la ML. Las células deciduales se identificaron por su gran tamaño y frecuentes prolongaciones de membrana plasmática de forma peduncular o de mazo. (Figs.6,7,8) Además una abundancia de restos celulares se encontraron en la matriz extracelular. Células deciduales o trofoblásticas aparecen empotradas en este componente maternal de la placa basal de la placenta humana. Células deciduales o sincitiales gigantes no fueron identificadas en este estudio.

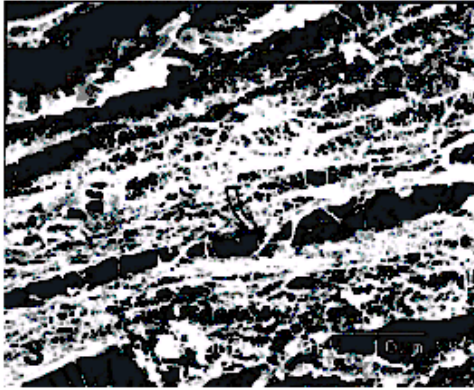


Fig. 3

Subfibrillas de coágenu (fecha) son vista cruzando el espacio en diferentes direcciones.

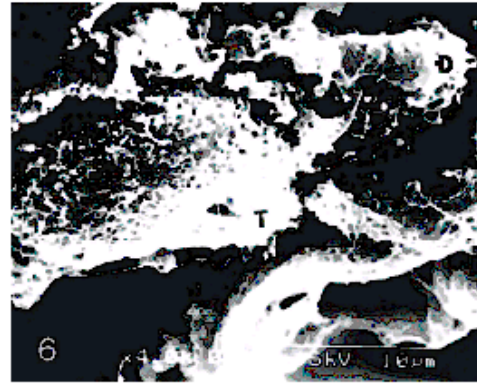


Fig. 6

Región de Nitabuch en la cual se observa una mezcla de célula decidual (D) con célula trofoblastica (T)

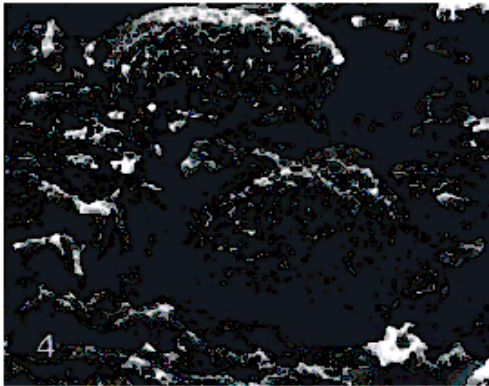


Fig. 4

Dos células - x parecen estar cubiertas por un material probablemente de fibrinoide.

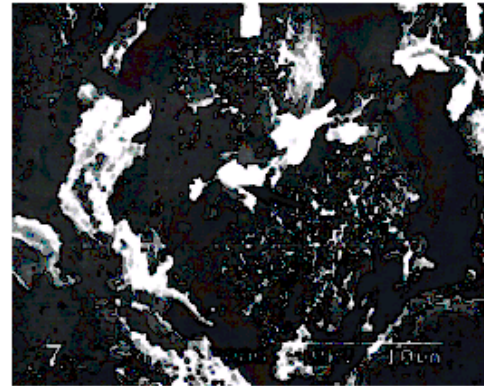


Fig. 7

Región de células deciduales sepultadas por fibrinoide y asociadas a restos celulares (flecha).

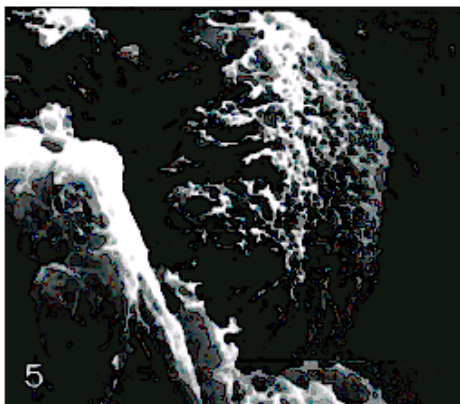


Fig. 5

Detalles de la superficie de célula - x como vista en la zona de Nitabuch

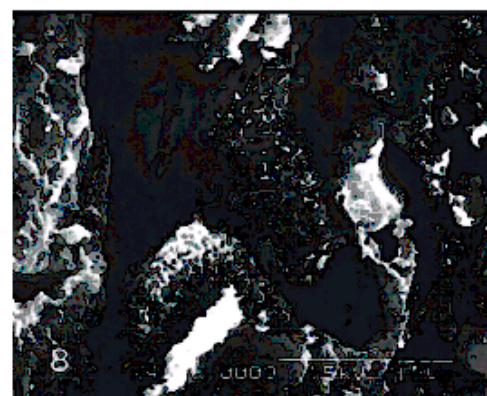


Fig. 8

La superficie de dos células deciduales es vista después de quitarle el fibrinoide mediante micromanipulación.

DISCUSION

La técnica de MEB aquí mostrada ha permitido una exploración sistemática y examen detallado de la citoarquitectura de la placa basal dando un mejor entendimiento de su organización. Las observaciones de MEB descritas extienden hallazgos previos hechos con la ML (2) y MEB (5). La apariencia microscópica electrónica de barrido que se correlacionó con las imágenes de ML exhibió la arquitectura tisular típica de la superficie profunda del límite de separación placentaria. Esta información adicional tridimensional, sobre la disposición de capas, a baja resolución, no había sido lograda hasta la fecha.

La capa de trofoblasto sincitial no interactúa con la sangre maternal en la transferencia de nutrientes y soporta el flujo sanguíneo mecánico en el espacio intervelloso. Esta capa soporta las presiones sanguíneas y no se rompe por la red fibrosa de tejido conjuntivo ubicada por debajo de ella. En la placa coriónica de la placenta humana, en el lado opuesto a la zona aquí estudiada, un complejo de microfibrillas de colágeno tipo IV y microfibrillas oxitalánicas conectan el mesodermo amniónico y se orientan perpendicularmente hacia la zona de anclaje por debajo del epitelio amniótico (7) lo que contribuye al mantenimiento de las tensiones en esta área. Si un sistema similar funciona en la placa basal queda a ser aclarado y posteriores estudios son requeridos.

La capa de tejido conjuntivo superficial puede ser confundida con tejido conjuntivo estromal de la vellosidad de anclaje (8) que erosionó la placa basal durante el embarazo temprano. Es originada del estroma endometrial y contiene pocos fibroblastos. Las fibras de colágeno que se disponen en diferentes direcciones indican un tejido desarrollado para soportar fuertes presiones sanguíneas del espacio intervelloso (9). Además la disposición ayuda a proporcionar un sitio de anclaje seguro para la vellosidad ancorante como recientemente ha sido reportado (4).

La capa de células-X representa una estructura vestigial formada de la envoltura citotrofoblástica, en la invasión del trofoblasto, durante el embarazo temprano. Células aisladas o en grupos ya vistos e identificados (5) en esta zona proceden de citotrofoblastos invasores que se adhieren a la superficie maternal de la placenta. Una extensa nomenclatura (10,11) ha sido asignada a estas células rodeadas por fibrinoide. Así, se conocen como trofoblasto extravelloso, citotrofoblasto extravelloso, trofoblasto no velloso, trofoblasto intermedio, trofoblasto especializado y trofoblasto intersticial. (11). Abundan en caso de insuficiencia uteroplacentaria crónica y casi no se observan en placentas de madres quienes

paren inmediatamente después del inicio de la hipertensión. Lo que sugiere la secreción de agentes que suprimen el parto (11). Por otro lado, producen una proteína básica principal tóxica (11) que explicaría el retardo del crecimiento fetal (12). La interacción de las membranas celulares aquí observadas con la matriz extracelular de fibrinoide regulan procesos de crecimiento placentario, endocrinos, invasión y alumbramiento (5). Mediante estudios ultraestructurales y de inmunocitoquímica(13) se reportó recientemente la agregación de pequeñas células trofoblásticas mononucleares para dar origen a las así llamadas células gigantes del piso placentario.

En la capa decidual, las extensiones pedunculares de las células contienen enzimas que por exocitosis caen en la matriz extracelular y la degradan facilitando los cambios degenerativos en la línea de separación placentaria. Estas zonas de la placenta están sometidas durante el embarazo a procesos continuos de remodelación, necrosis y proliferación celular simultáneos. Nuestras imágenes, con las previamente reportadas (5) contribuyen a identificar las células en la compleja área de unión fetomaternal siendo de interés en los estudios de inmunocitoquímica o ultraestructurales (14) que se realizan en ella.

Las pequeñas cavidades observadas en la zona de células-X puede explicarse como células que han sido removidas durante los procedimientos de desecado de punto crítico o espacios dejados por células que han muerto en los procesos degenerativos. La literatura reporta espacios pseudoquísticos en esta zona de estudio(11). Estos hallazgos pudieran explicar que un incremento del tamaño y número de ellos debilitaría el piso placentario facilitando los mecanismos de separación placentaria durante el parto. De interés sería el estudio de las fuerzas adhesivas entre las células de esta región como ha sido reportado para el proceso de implantación embrionaria (15)

Numerosos estudios confirman un papel nutritivo, endocrino, inmunosupresor, soporte mecánico o carácter invasor a esta población celular que comprende una mezcla de células fetales y maternas.

En conclusión, los hallazgos expresan una nueva visión tridimensional de la descripción convencional de la citoarquitectura del borde de separación placentaria.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por proyecto institucional para microscopía electrónica de Barrido del CDCHT-UC y CLL11-ESMEOI de Fundacite-Aragua.

REFERENCIAS

1. PIJNENBORG, R; ROBERTSON, W. B; BROSENS, I. Trophoblast invasion and formation of the basal plate in the human placenta. *Biblthca .Anat* .1982;22:69-73.
2. KAUFMANN, P; STARK, J. Die Basalplatte der reifen menschelichen placenta. I. Se-midunnchnitt-Histologie. *Z. Anat .Entwickl. Gesch.*1971; 135:1-19.
3. SHEPPARD, BL; BONNAR, J. Ultrastructure of the maternal placenta in human pregnancy. *Biblthca . Anat* .1982;22:69-73.
4. DEMIR, A; AKKONYUNLU, G. The fine and three-dimensional observations on the basal plate surface and anchoring villi in mature human placenta. *Scanning* 1998;20:253-254.
5. CASTEJÓN, OC; BELOUCHE, RC; MORETT DE CASTEJÓN, VC. Identificación celular en la placa basal de placenta humana. *Rev. Obstet . Ginecol. Venez.* 1998; 58: 77-81.
6. BACON, BJ; GILBERT, RD; LONGO, LD. Regional anatomy of the term human placenta. *Placenta.* 1986; 7: 233-241.
7. BACHMAIER N, GRAF R. The anchoring zone in the human placental amnion: bunches of oxytalan and collagen connect mesoderm and epithelium. *Anat. Embryol. (Berl)* 1999;200:81-90.
8. CASTEJÓN, O; BELOUCHE, CR; PEROSO A, A. Estudio ultraestructural del tejido conjuntivo de la placa basal de la placenta humana con la vellosidad de anclaje. *Rev .Obstet Ginecol .Venez.*1997;57:1-6.
9. CASTEJON, OLIVAR La Ultraestructura del fibroblasto de la placa basal de la placenta humana. *Rev. Obstet. Ginecol. Venez.* 1997;57:91-95.
10. BENIRSCHKE, K; KAUFMANN, P. (1995). **Pathology of the human placenta.** Springer-Verlag, New York, 182-245.

11. ALTSHULER, G. Pathology of the placenta. En: Barness-Gilbert, E. (1997). **Potter's Pathology of the fetus and infant**. Mosby-Year Book, St Louis, 242,244.
12. ERMOCILLA, R; ALTSHULER, G. The origin of "x-cells" of the human placenta and their possible relationship to intrauterine growth retardation: An enigma.. Am. J. Gynecol. 1973; 117: 1137-1140.
13. AL-LAMKI RS; SKEPPER JN; BURTON GJ. Are human placental bed giant cells merely aggregates of small mononuclear trophoblast cells? An ultrastructural and immunocyto-chemical study. Hum. Reprod. 1999;14:496-504
14. CASTEJÓN, OLIVAR Cambios ultraestructurales por envejecimiento en células-X trofoblásticas de placenta humana. Rev. Obstet. Ginecol. Venez. 1994;54:25-29.
15. THIE M; ROSPEL R; DETTMANN W; BENOIT M; LUDWIG M; GAUB HE; DENKER HW. Interactions between trophoblast and uterine epithelium: monitoring of adhesives forces. Human. Reprod.1998;13:3211-3219.