

CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA DE LAS MEMBRANAS ÚTERO-PLACENTARIAS

Histological Characterization utero- placentaries membranes of the alpaca

Luis Olivera Marocho*

La biología de la placenta de alpaca muestra la interacción de estructuras materno-embriionario-fetales, que son responsables para mantener la estabilidad y viabilidad del nuevo ser, desde su concepción hasta el nacimiento. Es un sistema biológico que obedece a cambios hormonales y moleculares cuya expresión es visualizada en la morfodinámica de los elementos que lo componen. La placenta de alpaca debe desarrollar una alta capacidad para transportar nutrientes desde el lado materno al fetal y metabolitos desde el fetal al materno.

1.- CARACTERIZACION DEL UTERO DE ALPACAS NO PREÑADAS

El útero de alpaca es bicorne, en las no preñadas la superficie endometrial muestra leves sinuosidades, es revestido por epitelio simple cilíndrico, con núcleos situados en la región basal; las células epiteliales están adheridas lateralmente por uniones complejas, en su superficie apical son observados numerosos y cortos microvillos. En el citoplasma de todas las células, mitocondrias esféricas y alargadas y polirribosomas están distribuidos por todo el citoplasma, estando más concentrado en las regiones basal y apical de la célula. En la fase luteal la región apical es más acidófila. Las glándulas uterinas son tubulares simples, ligeramente sinuosas y están presentes en toda la espesura del endometrio; son conformadas por epitelio simple cilíndrico, siendo más altas próximas al epitelio uterino que en el resto del endometrio. La superficie de las células glandulares muestra microvillos más largos que las células epiteliales y algunas presentan cilios. Las mitocondrias son más frecuentes en la región apical de la célula. La presencia de estas glándulas en fase luteal es más frecuente y de mayor tortuosidad y ocasionalmente es observado entre los haces de músculo liso del miométrio.

El estroma endometrial próximo al epitelio es más celularizado, semejante a la capa compacta presente en el endometrio de otros mamíferos, conformado en su mayoría por fibroblastos, frecuentes macrófagos, plasmocitos y eventuales leucocitos. Esta densidad

celular se incrementa en la fase luteal y la distribución de los macrófagos ocupan una región distante del epitelio y conteniendo en su citoplasma material fagocitado PAS+. Próximo al miométrio, el estroma es menos celularizado; el citoplasma de los fibroblastos exhibe retículo endoplasmático granular y reducido número de mitocondrias. La matriz extracelular es amorfa con haces de fibrillas de colágeno (Olivera, 2003a). Una evidente red capilar está presente en el estrato compacto y particularmente próximo al epitelio. Las arterias que originan esta red capilar presentan un trayecto tortuoso (Valencia, 2007).

2.-IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA

A pesar de la universalidad del proceso, la implantación embrionaria no envuelve los mismos mecanismos, tampoco es un evento que se establezca en el mismo momento para las diferentes especies de mamíferos. Por lo que es difícil comprender en su generalidad, los avances en el esclarecimiento de este proceso. Solo es posible cuando la secuencia de eventos es explorada separadamente en cada una de las especies.

El proceso de implantación es un estado de transición en el progreso de la gestación, durante el cual, el blastocisto asume una posición fija e inicia una interrelación fisiológica con el útero. Para garantizar este proceso, en camélidos es necesaria la presencia del cuerpo lúteo (Sumar, 1988; Fernández-Baca et al, 1979). La localización del embrión es en el cuerno uterino izquierdo, siendo similar en el camello y dromedario (Skidmore et al, 1996; Elwishy, 1987). Independiente del fijador utilizado, la interface de muestras útero-embriónicas hasta los 30 días de la preñez (ddp) no resisten al proceso histológico, fácilmente se separaban. El trofoblasto está formado por una única capa de células, apreciándose frecuentes figuras de mitosis, células binucleadas y células poliplóides. Estas células son acompañadas por células mesenquimales que forman una capa única y continua. El trofoblasto y las mesenquimales dan origen al corion.

Hasta el primer mes de preñez, las características estructurales del trofoblasto muestran núcleo eucromático, en el citoplasma existe gran cantidad

* Universidad Nacional del Altiplano - puno
loliver54@yahoo.com

de mitocondrias con crestas paralelas, cisternas del retículo endoplasmático granular y del aparato de Golgi además polirribosomas y ribosomas libre, filamentos intermediarios y acúmulos ocasionales de filamentos finos están distribuidas por toda la célula. Llama la atención en el citoplasma, la presencia de grandes cuerpos vesiculosos revestidos por membrana, de formas variadas y diferentes grados de electrodensidad. El epitelio uterino se presenta con diferentes aspectos, en lugares donde no existe contacto con el trofoblasto son cilíndricas altas, mientras en áreas de contacto, las células epiteliales son tanto altas cuanto bajas. Su ultraestructura muestra organelas compatibles con células de intensa actividad, además se observa discretos depósitos de glucógeno; en la región apical esta presente numerosos y pequeños gránulos revestidos por membrana, conteniendo material de acentuada electrodensidad; la superficie apical de estas células es irregular presentando cortas proyecciones. Las glándulas muestran un pleomorfismo nuclear, depósito de glucógeno y vesículas electrodensas de reacción positiva para PAS+ y fosfatasa ácida. El estrato compacto del estroma endometrial aumenta en densidad celular, favorecido por la mayor red capilar y presencia de vénulas dilatadas. La interface trofoblasto-epitelio uterino muestra una completa yuxtaposición de superficies de ambos organismos, en la cual las proyecciones de la superficie materna se encajan en depresiones de la superficie embrionaria. Entre ambas superficies exhibe presencia de material PAS+ y diferentes respuestas a lectinas (Jones et al, 2002), de homogénea electrodensidad; en la superficie de contacto, se observa una gradual interdigitación de membranas, donde cortos microvillos del epitelio uterino se complementan con las del trofoblasto, además es posible observar la formación de vesículas en el citoplasma apical de las células trofoblásticas y sugiere un pasaje de material del medio extracelular para el interior de estas células. Estas graduales modificaciones en la interface materno-embionaria son características de las fases de aproximación, contacto y adhesión del proceso de implantación embrionaria (Olivera et al, 2003a).

Entre los 30 a 45 ddp, numerosos gránulos secretorios son observados en el epitelio uterino, mientras que células gigantes multinucleadas aparecen entre las células trofoblásticas mostrando intensa actividad a la fosfatasa alcalina y gránulos PAS+. Por el día 45 entre el trofoblasto y el conectivo extraembrionario es evidente una vascularización que es indicativo para la formación de la placenta. Los capilares fetales y materno indentan el epitelio y el trofoblasto, reduciendo en espesura a ambos tipos celulares y formando áreas especializadas de intercambio biomolecular a lo largo de la superficie de contacto.

3.-PLACENTACION

Desde los 60 a los 347 ddp la superficie de la placenta en contacto con el feto se muestra lisa, siendo lo contrario en la superficie del trofoblasto relacionado al organismo materno, observándose proyecciones esféricas o convexas, que según el avance de la preñez se ramifican y se proyectan al lado materno, alcanzando regiones profundas del endometrio. En la región central de estas proyecciones se aprecia tejido mesenquimal e indentando a las células trofoblásticas existe una red de capilar. Las células gigantes trofoblásticas ocupan mayormente la porción apical de las proyecciones que aumentan en número hasta el final de la preñez. Estas células muestran un elevado contenido de DNA evidenciado por la reacción de Feulgen y el número de regiones organizadores nucleolares (Ag NORs) varían de 15 a 100, mientras que en las células trofoblásticas mononucleares presentan uno o dos AgNORs; no existe citocinesis por lo que estas células gigantes evidencian una endoreduplicación o mitosis incompleta lo que caracteriza a una poliploidización mitótica (Klisch et al 2006).

La superficie uterina muestra depresiones esféricas en diferentes grados de desarrollo donde las proyecciones del trofoblasto hacen correspondencia. El epitelio uterino se presenta sobre la forma de un epitelio simple plano mostrando actividad de síntesis celular y próximo a la interface materno-fetal exhibe una conjunción de material electrodensito conformado por haces de microfilamentos; en la región apical de estas células hubo una disminución de vesículas, lo cual es indicativo de una rápida transferencia de biomoléculas al lado fetal. La delgada espesura del citoplasma uterino y del trofoblasto y las finas paredes de la célula endotelial forman la barrera placentaria. Se observa tanto en el trofoblasto y epitelio uterino procesos de lisis celular y mitosis.

La interface materno-fetal de reacción positiva a la fosfatasa alcalina es evidenciada por la interdigitación de microvellosidades de ambos tejidos, materno y fetal, siendo de mayores dimensiones las del trofoblasto por lo que la interdigitación es incompleta. Con el progreso de la preñez, la superficie de contacto aumenta por la presencia de sinuosidades y ramificaciones de las proyecciones del trofoblasto y endometrio, ello probablemente facilite el pasaje de nutrientes.

El pasaje de sustancias es evidenciada en las paredes de los capilares materno y fetal, este intercambio molecular parece ser favorecido por la reducida distancia entre ambos capilares debido a la indentación de los capilares fetales en la capa trofoblástica y la disminución en la espesura del epitelio uterino y evidente aumento de la red vascular capilar subepitelial.

En todos los periodos analizados, fueron encontrados en la interface materno-fetal y a intervalos regulares, pequeñas áreas de acumulo de material amorfo, de superficie convexa que por analogía a las estructuras semejantes encontradas en la placenta de suínos (Leiser and Dantzer, 1994; Dantzer, 1984) fueron denominados de aréolas. En placentas de 347 las aréolas mostraron mayor desarrollo. Estas regiones corresponden a la abertura de las glándulas uterinas, donde el corion no esta en contacto con la superficie endometrial, permitiendo un acumulo de material eletrodensito, homogéneo, PAS+, fosfatasa ácida + proveniente de las glándulas uterinas. El corion en estos locales mostraron cortas proyecciones digitiformes en contacto directo con la secreción glandular; los capilares situados en el tejido mesenquimal son Fe+. Las células trofoblásticas muestran hipertrofia, cuyo citoplasma apical esta repleto de gránulos de diversos tamaños y PAS+. La misma reacción fue observada en la secreción presente en la luz de la areola. La ultra-estructura de estas células mostró presencia de numerosos y largo microvillios, figuras de endocitosis y/o exocitosis, acumulación de gránulos de electro densidad variada y presencia de material de características lipídicas ocupan grandes proporciones en el citoplasma. La inmunolocalización y western blotting para la hormona lactogeno placentario es observado en todas las células trofoblásticas, identificando pesos moleculares entre 35 y 76 kDa para el anticuerpo policlonal IgG de conejo anti-hormona lactógeno placentario bovino. En base a la similitud del peso molecular estimado, probablemente la banda 35 kDa corresponda a la isoforma de la alpaca de la hormona lactógena placentaria y la segunda puede estar relacionada a las proteínas específicas de la preñez encontradas en varias especies (Olivera et al, 2003b).

Para todas las edades, las estructuras que garantizan la adhesión de ambos organismos corresponden a la bien elaborada interdigitación de microvellosidades y presencia de material electrodenso situado entre ambas superficies, que actúa como medio adhesivo y próximo al parto estas estructuras pierden contacto físico y entre ellas muestran presencia de material filamentoso electrodenso.

La presencia de células comprometidas con procesos de muerte celular por apoptosis fue evaluada por la técnica del TUNEL. La reacción se delimito en el núcleo de las células trofoblásticas de muestras provenientes de placentas post-parto y en algunas de placenta a término. Estas apreciaciones son coherentes con la fisiología de la placenta, un órgano extremadamente importante, pero transitorio.

Los datos mostrados en la caracterización de la placenta de alpaca sugieren que a pesar de ser

considerado una placenta difusa, epiteliocorial, esta contiene regiones especializadas funcionando como sitios histotróficos, incrementando el intercambio molecular.

REFERENCIAS

Dantzer V (1984). Scanning electron microscopy of exposed surfaces of the porcine placenta. *Acta Anat.* 118: 96-106.

Elwishy A. (1987). Reproduction in the female dromedary (*Camelus dromedaries*): A Review. *Anim Reprod Sci* 15: 273-97

Fernandez-Baca S, Hansel W, Saatman R, Sumar J, Novoa C. (1979). Differential luteolytic effects of right and left uterine horns in the alpaca. *Biol Reprod.* 20: 586-95

Jones CJ, Abd-Elnaeim M, Bevilacqua E, Oliveira LV, Leiser R. (2002). Comparison of uteroplacental glycosylation in the camel (*Camelus dromedarius*) and alpaca (*Lama pacos*). *Reproduction.* 123:115-26.

Klisch K, Bevilacqua E, Olivera LV. (2005). Mitotic polyploidization in trophoblast giant cells of the alpaca. *Cells Tissues Organs.* 181:103-8

Leiser R, Dantzer V. (1994). Initial vascularisation in the pig placenta: II. Demonstration of gland and areola-gland subunits by histology and corrosion casts. *Anat Rec.*238: 326-34.

Olivera L, Zago D, Leiser R, Jones C, Bevilacqua E. (2003). Placentation in the alpaca, *Lama pacos*. *Anat Embryol.* 207: 45-62.

Olivera LV, Zago DA, Jones CJ, Bevilacqua E (2003). Developmental changes at the materno-embryonic interface in early pregnancy of the alpaca, *Lama pacos*. *Anat Embryol.* 207: 317-31.

Skidmore JA, Wooding FB, Allen WR. (1996). Implantation and early placentation in the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Placenta.* 17: 253-62.

Sumar J. (1988) Removal of the ovaries or ablation of the corpus luteum and its effect on the maintenance of gestation in the alpaca and llama. *Acta Vet Scand Suppl.* 83: 133-41.

Valencia M. (2007) Microvascularización del útero de la alpaca. Tesis, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Puno-Perú.