



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

ESTRUCTURA Y FUNCION DE
GLUCOCALIZ CELULAR

TEMA BIBLIOGRAFICO

BLANCA ESTELA ROMERO ROJAS

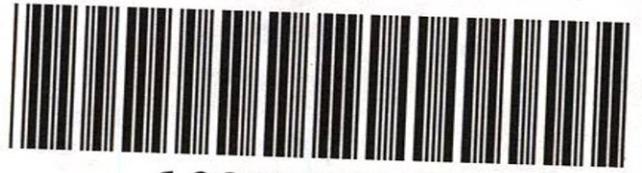
702
58

SAN LUIS POTOSI, S. L. P.

1983



T
QP702
.G58
R6
C.1



1080075665



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

**ESTRUCTURA Y FUNCION DE
GLUCOCALIZ CELULAR**

TEMA BIBLIOGRAFICO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A :

BLANCA ESTELA ROMERO ROJAS

SAN LUIS POTOSI, S. L. P.

1983

T
QP702
558
R63
L5



Dedico este trabajo

a mis padres:

MA AUXILIO R. DE ROMERO.
CIPRIANO ROMERO PROA.

*con gratitud, amor y respeto que
se merecen.*

a mis hermanos, cuñado y sobrinos:

PATY, MELA, SERGIO, PILO, JOSE LUIS, LAURA Y
MEME, EDGARDO, OMAR.

a mi esposo:

JAIME MEDINA SOLIS.

por su apoyo, ayuda y comprensión.

a mi pequeño hijo:

JAIME IVAN.

*por inspirarme el deseo de conti-
nuar superándome.*

Agradesco

a mis maestros:

Por sus conocimientos y experiencias que me brindaron.

y a todas aquellas persona que en forma directa e indirecta hayan colaborado para la realización de este trabajo.

C O N T E N I D O

	PAG.
INTRODUCCION.....	1
CAPITULO I.	
METODOS HISTOQUIMICOS USADOS PARA LA DEMOSTRACION DE LA CAPA SUPERFICIAL EN EL MICROSCOPIO ELECTRONICO.....	4
A.- PASM.....	4
B.- ACIDO FOSFOTUNGSTICO (PTA).....	5
C.- HIERRO Y TORIO COLOIDAL.....	6
D.- ROJO DE RUTENIO.....	8
E.- LANTANO.....	9
TECNICAS USADAS EN MICROSCOPIA DE LUZ.....	10
A.- TECNICAS DE PAS.....	10
B.- COLORANTES CATIONICOS.....	11
CAPITULO II.	
ASPECTOS MORFOLOGICOS DE CAPAS CELULARES.....	13
1.- CAPAS SUPERFICIALES APICALES.....	14
A.- CAPAS SUPERFICIALES DEL EPITELIO ABSORBENTE.....	14
B.- CAPAS DE CELULAS PULMONARES DE CELULAS EPITELIALES ALVEOLARES.....	20
C.- CAPAS DE CELULAS ENDOCAPILARES.....	21
2.- CAPAS CELULARES LATERALES Y BASALES.....	22
3.- CAPAS DE LA SUPERFICIE DE CELULAS LIBRES.....	23
4.- CAPAS SUPERFICIALES DE CELULAS NERVIOSAS.....	24
5.- CAPAS SUPERFICIALES DE CELULAS EMBRIONARIAS.....	26
6.- CAPAS SUPERFICIALES DE CELULAS TUMORALES.....	32
CAPITULO III.	
PROPIEDADES DE LAS CAPAS CELULARES.....	37

	PAG.
CAPITULO IV.	
LAMINAS BASALES.....	43
A.- ESTRUCTURAS FINAS Y COMPOSICION QUIMICA.....	44
B.- ORIGEN.....	47
C.- PAPEL FUNCIONAL.....	49
LAMINAS EXTERNAS.....	52
 CAPITULO V.	
CONCLUSIONES.....	53
 BIBLIOGRAFIA.....	 56

INTRODUCCION.

Nuevas características estructurales y finas de membrana plasmática - han sido reveladas por mejoradas técnicas microscópicas y varias de sus interpretaciones han sido basadas en estudios bioquímicos y fisicoquímicos. Se han presentado algunos conceptos sobre la posible clasificación de lípidos y de configuraciones proteínicas de membranas biológicas. En adición a esta estructura fundamental de membrana, sino todas, la mayoría de las superficies exteriores de la membrana plasmática puede tener una capa rica en carbohidratos, esto puede ser un delgado componente de afuera directamente continuo de la membrana misma o una estructura distinta asociada con el plasmalema. En 1963 BENNETT sugirió el término GLUCOCALIZ como un término extenso incluyendo todas las estructuras que contienen polisacáridos sobre la superficie exterior de las células. El concepto general de glucocáliz incluye tales capas muy diferentes como la cutícula de invertebrados, paredes celulares de plantas y bacterias, láminas basales de células epiteliales, "cemento intercelular" sustancia entre células epiteliales y estructuras menos bien definidas como las conocidas capas invisibles que están presentes en células sanguíneas rojas, así como antígenos polisacáridos.

Muchas de las propiedades de la membrana plasmática pueden ser atribuidas al glucocáliz o ser influenciadas por él. Algunas de estas propiedades de membrana incluyen la superficie de antígenos y hormonas uniendo sitios; sustancia involucrada en el reconocimiento de células; adhesión, adsorción, protección, movimiento y mantenimiento de la forma celular. La superficie celular obviamente juega un papel importante en un gran número de actividades metabólicas incluyendo actividades sintéticas, transporte y secreción.

El término glucocáliz es usado sinónimamente con el de capas extrañas o extracelulares a menudo. En el caso de las paredes celulares de plantas o capas gelatinosas de huevo, los componentes ricos en carbohidra-

tos son una capa verdaderamente extraña pues estos componentes pudieron ser experimentalmente removidos por fuera inmediatamente afectando la viabilidad de la célula. Sin embargo, en otros tipos de glucocáliz, tales como los polisacáridos componentes de la mucosa gastrointestinal es tán íntimamente asociados o posiblemente continuos con la membrana plasmática y, por lo tanto, no parecen ser extraños en el sentido usual.

La demostración visual de la capa de la superficie sobre células requiere el desarrollo de métodos los cuales primero establecen el material de la capa y segundo lo hacen visible. Estudiando métodos para la fina estructura y citoquímica de estas capas se ha implicado fijación química y tinción con coloridos tintes o con metales pesados de densidad -- electrónica usados en microscopía de luz y microscopía electrónica respectivamente.

La amiba fue encontrada cubierta por una gruesa capa de material positivo al PAS visto con el microscopio electrónico como una capa de fino y abundante filamento positivo al torio coloidal; la capa de la superficie fue encontrada unida a partículas coloidales y proteínas como --- plantadas inicialmente en el proceso de pinocitosis y fagocitosis hasta que nuevos métodos histoquímicos especializados fueron utilizados para la ultraestructura de carbohidratos.

Investigaciones sobre la capa de la superficie celular han atraído incrementando el número de investigaciones y excelentes revisiones han sido publicadas. Entre las más recientes está la extensiva revisión de la histoquímica y estructura de glucoproteínas en la superficie de las células animales por RAMBOURG (1971), y la excelente revisión de la estructura de las capas de la superficie de las células, MARTINEZ PALOMO (1970). Una notable contribución a este tema fue la estimulante discusión de BENNETT (1963), quién consolidó un número de observaciones morfológicas, continuando atención a la probable importancia de estas capas y presentando provocadoras hipótesis.

*La finalidad de este trabajo es la de resumir los conocimientos de la -
capa de la superficie celular, su reciente estructura, así como su fun-
ción.*

CAPITULO 1.

METODOS HISTOQUIMICOS USADOS PARA LA DEMOSTRACION DE LA CAPA SUPERFICIAL EN EL MICROSCOPIO ELECTRONICO.

Las técnicas histológicas estándar para microscopía electrónica revelan solamente capas superficiales en ciertos tipos de células animales, por ejemplo: la capa de pelusa en el epitelio intestinal y las láminas basales son visualizadas en tejidos tratados con fijación y procedimientos de tinción usuales. Estos métodos, sin embargo, revelan un sitio de material distinto en la superficie lateral de las células epiteliales así como en la periferia de las células del mesénquima motil. La fina estructura de la mayor parte de la superficie ha sido estudiada con la ayuda de métodos histoquímicos que ensanchan la densidad electrónica.

La mayor parte de estas técnicas de tinción representan procedimientos histoquímicos bien conocidos, usados por microscopistas superficiales para detectar polisacáridos.

A. ACIDO PERIODICO-METENAMINA DE PLATA (PASM).

El PASM inicia la pronta formación de grupos aldehídos por oxidación de 1, 2 glicol y grupos alcohol alfa-amino con el ácido periódico. En una segunda fase, grupos aldehídos liberados reducen la plata metenaminada a plata metálica. Una importante desventaja de este método son los grandes fragmentos de plata reducida, lo cual restringe el uso de esta técnica por su relativa baja magnificación.

Cuando se aplica a tejidos fijándolos con tetróxido de osmio, la membrana celular reacciona fuertemente como resultado de la reducción de la plata por el osmio hasta el límite de la saturación de los ácidos grasos y fosfolípidos de la membrana. Si el osmio es eliminado por oxida

ción previa de las secciones con peróxido de hidrógeno o con ácido periódico, la afinidad de la plata persiste solamente en glucógeno, mucinas y en la membrana celular, esta afinidad es prevenida por bloqueo de los grupos aldehídos con metilación.

Bajo estas condiciones, la técnica de PASM ha sido usada por algunos investigadores para estudiar la lámina basal de los glomérulos del riñón, así como la lámina basal de varias conexiones epidérmicas.

La técnica de PASM particularmente usada para el estudio de las láminas basales, cuando la correlación con secciones gruesas, en microscopía de luz, es deseada. De otra manera los gránulos de plata, la inestabilidad de las soluciones, y el requerimiento de cristalería químicamente limpia hacen el procedimiento más incómodo y menos satisfactorio (MARTINEZ PALOMO, 1970).

B. ACIDO FOSFOTUNGSTICO (H₃PO₃).

El ácido fosfotúngstico ha sido usado como un colorante no específico para incrementar la densidad electrónica en la mayor parte de las estructuras celulares; cuando el tinte es aplicado en una sección glomerular de riñón en células epiteliales, la membrana celular parece ser más gruesa (110 Å) que la membrana plasmática de la mayoría de las células (75-80 Å), similar reacción es vista en la superficie de microvellos de células del túbulo contorneado. El incremento del grosor de las células epiteliales es el resultado de la particular afinidad del ácido fosfotúngstico por algún componente fuera de la superficie celular.

Estudios sobre la especificidad de la reacción del tinte han demostrado que en secciones oxidadas se encuentra una reacción positiva al ácido fosfotúngstico únicamente en la membrana plasmática y en algunas estructuras membranosas así como en fibrillas de colágena.

Aplicando soluciones de ácido fosfotúngstico en tejidos no fijados y -- tratados por el método de deshidratación inerte la cual implica la sustitución de glicol por agua, supuestamente mejorando la preservación de estructuras de carbohidratos, se encontró que tiñe la superficie de algunos tipos de células epiteliales así como material extra e intracelular positivo para el PASM. Basándose en esto, se consideró que la reacción de tinción es específicamente para polisacáridos; teóricamente la reacción consiste en la formación de múltiples enlaces de hidrógeno entre el ácido fosfotúngstico y cadenas de polisacáridos, dependiendo estrictamente de un pH bajo.

La tinción de células fijadas en glutaraldehído y cubiertas de metacrilato de glicol (GMA) con ácido fosfotúngstico en un pH bajo, es un simple procedimiento para teñir capas extracelulares, basándose en las -- reacciones bloqueadoras de los grupos hidroxil; este bloqueo reduce la intensidad de la reacción. Las pruebas de precipitación con varios sustratos orgánicos dan una reacción positiva con alcoholes, glucoproteí--nas y glucógeno, esta última sustancia es extraída durante el procedi--miento preparativo. La incubación prolongada de secciones y el uso de soluciones con pH arriba de 2.0 tiende a incrementar el contraste y reducir la especificidad. La reacción es intensamente positiva en la superficie libre de células de tumor mamario de rata y menos intensa en - fibroblastos, encontrándose principalmente glucoproteínas.

C. HIERRO Y TORIO COLOIDAL.

La técnica de HALE'S del hierro coloidal comunmente usada para la detección de mucopolisacáridos, ha sido de gran importancia a los estudios - ultraestructurales de materiales de la superficie celular. La reacción toma ventaja de la afinidad de los grupos ácidos en tejidos por el hie--rro, los cuales pueden ser entonces coloreados por la interacción del azul de prusia con ferrocianuro de potasio. La tinción se lleva a cabo

después de la fijación y antes de la deshidratación del espécimen.

La especificidad de la reacción entre el hierro coloidal y la sialomucina de la superficie celular tumoral en ascitis fue proporcionada por la anulación de la tinción con el tratamiento de neuraminidasa. La conversión del ferrocianuro férrico ha sido usada en tinciones de la capa superficial de células epiteliales alveolares pulmonares.

La omisión del azul de prusia puede mejorar la conversión de la resolución de la reacción, donde el hierro coloidal es visualizado con el microscopio electrónico usando alta magnificación, de esta manera el hierro coloidal ha sido usado para demostrar una reacción en la periferia de la superficie de fibroblastos cultivados así como material mucopolisacárido en fibrillas de colágena. Para mejorar la penetración de tinción se han aplicado tres variantes de la técnica del hierro coloidal para engrosar secciones de la mucosa del colon de ratón, seguido por el usual procedimiento de microscopía electrónica. La reacción fue más intensa cuando se usó una solución dializada de clorhidrato anhidro férrico, glicerina e hidróxido de amonio, en donde la superficie libre de células epiteliales fueron teñidas; mientras las láminas basales, capilares y epiteliales no demostraron afinidad. La especificidad de la reacción fue señalada indirectamente debido a que se teñieron esos sitios conocidos que contienen ya sea sulfato o ácido siálico incluyendo mucinas.

Cuando el hierro coloidal a un pH 1.7 es aplicado en membranas aisladas de hígado, la hojilla externa aparece uniformemente salpicada con densos gránulos electrónicos de 30-200 Å de diámetro, la reacción es casi completamente anulada por el tratamiento con neuraminidasa, la reacción de tinción es un resultado de la interacción del complejo del hidróxido ferroso positivamente cargado y grupos hidroxil de ácido siálico negativamente cargados.

El torio coloidal se ha introducido como un tinte selectivo para el ácido mucopolisacárido, el cual procede igual que el hierro coloidal, produciendo depósitos de alta densidad. La hialuronidasa y la metilación anulan

la tinción del torio coloidal. El contraste obtenido por el método es - alto comparando los resultados con la técnica del hierro coloidal, sin embargo una desventaja importante es la poca penetración observada en preparaciones de microscopía electrónica.

D. ROJO DE RUTENIO.

Mucho tiempo se usó el rojo de rutenio por los botánicos como una tinción semiespecífica para la pectina en paredes de células vegetales. En compa^ñía de tetróxido de osmio, el rojo de rutenio combina con la capa exte⁻⁻⁻rior de la superficie de células epiteliales intestinales para formar un material de densidad electrónica fácilmente visto bajo microscopio elec⁻⁻⁻trónico.

El rojo de rutenio aplicado a secciones con GMA ha fracasado para revelar la capa de la superficie en tejidos epiteliales, los cuales cuando el rojo de rutenio es usado solo con el tetróxido de osmio es fácilmente detec⁻⁻⁻table.

El rojo de rutenio es un pequeño catión polivalente (P.M., 858) el cual - da una textura de densidad electrónica menor de 20 Å de diámetro. En general parece actuar como polianiones y la reacción es amplificada por una reducción catalítica de tetróxido de osmio para productos insolubles. El rojo de rutenio precipita el sulfato de condroitina, heparina y solucio⁻⁻⁻nes de pectina, aunque otros polianiones no mucopolisacáridos tales como el ácido poliacrílico, el ácido poliglutámico son también precipitados.

La especificidad del rojo de rutenio está indicada por el ácido mucopolisacárido encontrada en la tinción vital de poste de gránulos en células - que es bloqueada por compuestos de amonio cuaternario. El cloruro de cetilpiridina une los mucopolisacáridos como los demostrados por la tinción con tiacianato férrico, reacción conocida por ser específica para sales

complejas de mucopolisacáridos-amonio cuaternario. Se ha encontrado que la capa de la superficie celular positiva al rojo de rutenio de sarcoma - de ROUS de células infectadas son fácilmente removidas con hialuronidasa, lo cual nos da evidencia sobre la especificidad del rojo de rutenio para ácidos mucopolisacáridos.

E. LANTANO.

Las sales de lantano fueron originalmente introducidas como un marcador - de densidad electrónica para la tinción de la sustancia intercelular en - el sistema nervioso de vertebrados e invertebrados.

El hidróxido de lantano fue usado para detectar la formación hexagonal de subunidades en la superficie de las membranas plasmáticas en uniones in--tercelulares especializadas de corazón e hígado, el lantano parece formar un precipitado coloidal fino que infiltra el espacio intercelular con pequeños enlaces aunque algunos con componentes extracelulares.

En 1968 se usó el lantano para teñir el espacio extracelular de conos re--tinales fijados, se consideró que antes que actuar como un tinte actuó como un trazador físico.

El nitrato de lantano usado durante la fijación con permanganato de pota--sio, tiñe la capa superficial de aproximadamente 50 Å de grueso en célu--las embrionicas disociadas continuando con la hojilla más externa de la - membrana.

La capa positiva al lantano es susceptible a la fosfolipasa, pero resiste enzimas proteolíticas, EDTA y DNasa, y algunos agentes mucolíticos, esto indica que la superficie teñida forma una parte integral de la membrana celular.

Se ha observado que el nitrato de lantano da una reacción uniforme en la superficie apical de células ectodérmicas de embriones de hasta 24 horas de incubación cuando muy bajas concentraciones son añadidas (0.1 mg %) -- durante la fijación con tetróxido de osmio en una cámara de temperatura superior hasta dos horas, de esta manera la penetración del lantano es pobre y solamente cuando son usados los lotes pequeños la superficie de -- las células endodérmicas y mesodérmicas también demuestran una reacción positiva. No se obtuvieron evidencias de trascendencia durante la suspensión prolongada de lantano; el factor que uniformemente tiñe la superficie externa de células ectodérmicas sugiere que la tinción sea atribuible a una interacción con un material de la superficie más bien que con un aderezo no específico.

TECNICAS USADAS EN MICROSCOPIA DE LUZ.

A.- TECNICA DE PAS.

Esta técnica como ya fue descrita anteriormente, fue introducida por ---- MACMANUS (1946), LILLIE (1947) y HOTCH-KISS (1948), en histología, y es -- llevada a cabo en dos pasos:

- 1).- El ácido periódico rompe enlaces carbón-carbón en varias estructuras donde ellos están presentes como gpos. hidroxil adyacentes (CHOH- -- CHOH) o gpos. amino e hidroxil adyacentes (CHOH-NH₂), convirtiéndolos en dialdehídos (CHO-CHO).
- 2).- Estos gpos. aldehídicos son detectados por el reactivo SHIFF'S (fucsina decolorada con dióxido de sulfuro) el cual da un color púrpura donde este es combinado con el aldehído.

Cuatro tipos de sustancias pueden ser detectadas por esta técnica en células animales:

- 1).- *Proteínas.*- Contienen ácidos hidroxiamino tales como serina o treonina en el extremo de la cadena de proteína, o hidroxilisina en cualquier posición en la cadena; sin embargo LHOTKA'S y otros encontraron probable que los aminoácidos no interfieren en la reacción de PAS a no ser que la oxidación del ácido periódico sea excesivamente prolongada.
- 2).- *Glucógeno.*- Debido a la presencia de numerosos gpos. 1,2 glicol en esta estructura. El glucógeno es fuertemente positivo al PAS.
- 3).- *Lípidos.*- Tales como fosfátidos, cerebrósidos, o gangliósidos los cuales pueden sobrevivir de procedimientos histológicos.
- 4).- *Complejos proteína-carbohidrato.*- Es decir mucopolisacáridos y sobre todo glucoproteínas.

B.- COLORANTES CATIONICOS.

Los colorantes catiónicos tales como el azul de alcian o hierro coloidal positivamente cargados de moléculas las cuales consecuentemente son capaces de unir y precipitar polianiones.

La unión de colorantes catiónicos es electrostática y por consiguiente depende del pH en el medio de tinción y del valor de pK de los gpos. aniónicos presentes en los tejidos. El azul de alcian o hierro coloidal es usado a un pH inferior de 2.5 esto está unido a gpos. carboxil y sulfato de carbohidratos ácidos. El descenso del pH incrementa la especificidad de tinción la cual es restringida a residuos de sulfato por consiguiente. - A este pH bajo, sin embargo, gpos. catiónicos de proteínas pueden interferir con la reacción debido a las uniones salinas de la formación de gpos. aniónicos de polisacáridos. Para vencer esta dificultad se propuso el uso de soluciones de azul de alcian 0.05% a un pH de 5.8 conteniendo incremento de cantidades de electrolitos con el fin de disminuir la ionización de los gpos. de aminoproteínas. A baja concentración electrolítica (0.05 M de cloruro de magnesio), todos los polianiones absorben la tinción, pe-

ro cuando la concentración de cloruro de magnesio es incrementada hay una disminución progresiva dependiendo de la naturaleza de los polianiones -- presentes en el tejido. La tinción de policarboxilatos y polifosfatos es anulada en 0.2 M y 0.3 M de cloruro de magnesio respectivamente, mientras los polisulfatos estarían reaccionando en el cloruro de magnesio a 1.0 M. Un tipo dado del gpo. aniónico, tanto el número de cargas negativas (peso molecular) como la distancia entre los sitios aniónicos puede variar de un polianión a otro, la reducción de la unión del tinte según la molaridad de la solución salina del azul de alcian puede ser una prueba sensitiva para la separación de varios tipos de carbohidratos ácidos. No obstante, en contraste a la técnica de PAS, los tintes catiónicos no pueden distinguir entre mucopolisacáridos y glucoproteínas debido a que gpos. aniónicos están presentes en ambas clases de compuestos.

CAPITULO II.

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DE CAPAS CELULARES.

El término membrana plasmática o pared celular son frecuentemente confusos. La membrana plasmática es delgada de más o menos 75 Å de grueso; es de composición lipoproteica y generalmente presume de poseer la familiar doble capa de lípidos caracterizando el modelo de DANIELLI. Es alta en capacidad y resistencia eléctrica para dirigir corriente; resiste el paso del agua, iones y materiales acuoso-solubles. Permite el paso del material soluble en agua y lípidos, tales como moléculas de oxígeno, dióxido de carbono. La membrana plasmática es flexible y doblable, -- puede moverse más o menos en capacidades de moción y cambios de configuración, y es, en el caso de muchas células, intercambiable con ciertas lipoproteínas de membranas dentro del citoplasma de la célula. Parece razonable aceptar la membrana plasmática como un límite o barrera entre -- fluidos intra y extracelulares. Hasta ahora la membrana plasmática puede separar dos compartimientos de fluidos de diferente concentración -- iónica y padece una sustancia de gradiente potencial eléctrico. Además se sabe que en muchas células esta membrana participa en una actividad iónica de bombeo específico. Es vigorosa, activa, cambiante, de estructura dinámica.

La capa rica en polisacáridos es extracelular estando fuera de la membrana plasmática de la célula. Es fácilmente penetrable por el agua y por los iones; tiene baja capacidad y resistencia eléctrica. Puede actuar -- como filtro, retardando el paso de las partículas, moléculas o iones arriba de cierto tamaño; puede unir ciertas sustancias. Una capa rica en polisacáridos alrededor de la membrana plasmática de una célula puede -- por virtud de filtración y unión selectiva, ejercer una influencia de -- composición del ambiente cercano a la superficie exterior de la membrana plasmática de la célula.

El término general glucocáliz que se ha asignado a la capa azucarada ex-

tracelular. signífica. cáscara dulce.

Podrían ser unos ejemplos especiales de estructura general y común de muchos tipos de células como la pared de la célula vegetal, las cutículas de los epitelios de insectos, las zonas pelúcidas del huevo, la membrana basal de células epiteliales, la sustancia intercelular del tejido conectivo, el sarcolema del músculo estriado y un tipo antígeno específico (polisacárido) de la célula roja.

Las paredes celulares de las plantas y la membrana basal de capilares pueden actuar como filtros. Las capacidades de filtración de las barreras glomerulares del mamífero han sido estudiadas por muchos fisiólogos por lo que ahora se conoce la estructura responsable de esta filtración como una capa extracelular frecuentemente llamada membrana basal, tipo especial de glucocálix y motivo por el cual dedicaremos un capítulo a dicha membrana. Una análoga filtración y estructura similar a la membrana basal también conocida es aquella que rodea la cutícula endotelial de capilares en la mayoría de los vertebrados.

1.- CAPAS APICALES SUPERFICIALES.

A.- CAPAS SUPERFICIALES DEL EPITELIO ABSORBENTE.

Tan pronto como se improvisó una técnica en el microscopio electrónico en estudios de secciones delgadas evidentemente fue vista una capa celular libre en la parte absorbente del epitelio; el microvello del epitelio en la vejiga de hiel está cubierto por una delgada capa de material filamentos, el cual fue llamado "microvellosidades antenulares". El término puede ser inapropiado puesto que similares filamentos variantes cubren células que carecen de microvellos. Una capa celular fue descrita en el borde ciliar de células epiteliales de epidídimo y del túbulo contorneado -- proximal del riñón, la cual, está relacionada con un material mucopolisa-

cárido. Las capas celulares filamentosas fueron consideradas inicialmente como productos de la célula. La indicación de que la capa celular es una estructura permanente de la membrana celular y no una adherencia no específica lo demuestra la observación de una capa de pelusa que cubre la secreción de moco de microvellos de las células de la mucosa gástrica, mientras que la superficie de las células parietales adyacentes siempre están libres de una capa similar. La presencia de una capa de pelusa sobre células acinares pancreáticas las cuales no tienen células mucosas asociadas demuestra que la capa es simplemente una lámina de moco extraño.

Observaciones histoquímicas y morfológicas de la capa de la superficie intestinal revelan que es positiva al rojo de rutenio y que en varias especies mamíferas aparece como una lámina gruesa de 0.1 a 0.5 micras cubriendo completamente la superficie libre de microvellos, formada por una alfombra de ramificaciones de finos filamentos extendiéndose de la hoja exterior de la trilaminar membrana plasmática y distinguida del total de moco libre encontrado en la luz intestinal; además, es resistente al prolongado lavado con solución salina y no la afectan algunas enzimas proteolíticas y mucolíticas. En la luz microscópica, la capa de la superficie fue positiva al PAS, azul de alcian, hierro coloidal Hale's, así como al torio coloidal. La fosfatasa alcalina fue encontrada en la base de la capa de la superficie celular solamente, por lo que de estas observaciones se concluye que la capa de la superficie celular en el epitelio intestinal es una capa de ácido mucopolisacárido formando una parte integral de la membrana plasmática.

El grado de desarrollo de la superficie de la capa en el borde estriado intestinal es tremendamente variable de especie a especie. Estas diferencias parecen no estar relacionadas con la afinidad taxonómica o hábitos dietéticos de los animales. Este grado de desarrollo en algunos tipos de células varía de una capa invisible a una capa moderadamente gruesa. Se han encontrado importantes variaciones de la capa de la célula en el pequeño intestino de ratón en donde las células epiteliales en el colon y yeyuno demuestran una similaridad notable en su fina estructura en tanto

que en sus capas superficiales, una considerable diferencia. Estas diferencias fueron interpretadas como relacionada al grado de maduración y al estado funcional de las células absorptivas intestinales, además comprueba la temprana interpretación de que el glucocáliz es un producto de la célula en la cual está presente.

Las capas celulares encontradas en la superficie libre de las células epiteliales parecen ser activamente sintetizadas es decir, que la célula manufactura su propia capa de la superficie basándose en la observación de las bruscas diferencias en el grosor de la capa sobre las células adyacentes. Estudios radioactivos muestran que la incorporación inicial de azúcares en la biosíntesis del glucocáliz está en el complejo de golgi seguido por movimientos de glucoproteínas para la superficie celular. En las células absorptivas de gato se encontró que la incubación de acetato tritinado, glucosa, galactosa y manosa resultaron en acumulación al marcar en el borde estriado y capa vellosa después de un largo período inicial de 30-60 minutos. Cuando los tejidos fueron marcados había una continua disminución en la marca radioautográfica en la capa de la superficie después de 6 horas, indicando que es verdaderamente un componente celular dinámico siendo reemplazado constantemente.

La capa de la superficie tiene una función mecánica previniendo el desgarrar del borde de la célula o activando como un filtro para partículas grandes, además, puede activamente participar en los procesos digestivos por medio de enzimas digestivas asociadas. Pequeñas partículas de 40-60 Å de diámetro han sido obtenidas de microvellos aislados del epitelio intestinal; estas partículas fueron encontradas asociadas con disacáridos y peptidasas, algunas más pequeñas de 25 Å fueron obtenidas conteniendo maltasa e invertasa. Han sido descritas también protuberancias globulares en membranas de células de hígado negativamente teñidas, probablemente localizadas en áreas especializadas de la membrana celular, tales como la superficie libre revistiendo los espacios biliares. Las protuberancias aisladas contienen leucina, aminopeptidasa activamente. Estas partículas detectadas en el hígado y en el epitelio intestinal probablemente son parte de la membrana plasmática trilaminar y, entonces, son re

lacionadas solamente para los aspectos basales de la capa celular. La fosfatasa alcalina, trifosfatasa de adenosina, trifosfatasa de tiamina, son limitadas en la membrana plasmática o en la región inmediatamente adyacente de la capa celular, lo cual favorece el panorama de que la actividad enzimática en la superficie libre de la célula epitelial es función de la membrana plasmática más bien que propiedad de la capa celular, sin embargo, por medio del aislamiento de los bordes intestinales encontraron que casi toda la fosfatasa alcalina, sucrasa, maltasa, isomaltasa, y lactasa de la célula estaban en la fracción del borde y se especula -- que esas y otras enzimas presentes sobre o posiblemente dentro de la membrana plasmática fueron involucradas en la digestión terminal de carbohidratos y proteínas, señalando la importancia de la zona justa externa a la membrana plasmática como siendo el sitio más importante para la digestión terminal y absorción.

Las capas de la superficie de revestimiento de células epiteliales proveen una barrera mecánica para la infección viral. Se ha visto que las células amnióticas intactas o recientemente triptinizadas fijadas en una gruesa capa positiva a la plata son resistentes a la infección con poliovirus 1. Sin embargo, la infección con poliovirus de células amnióticas cultivadas en las cuales la reacción periférica es marcadamente disminuída produce una completa destrucción celular. El material de la superficie previene la penetración del virus por restricción de adsorción viral o por limitación de la actividad fagocitaria. Cuando la membrana celular amniótica humana es teñida con rojo de rutenio y visualizada en el microscopio electrónico, los microvellos en la superficie libre aparecen cubiertos por una densa capa de material positivo al rojo de rutenio de 700 Å de grueso, (Figura 1). En estas altas magnificaciones, la densa capa de la superficie está formada por un material lanudo denso localizado en las puntas de los microvellos (figura 2), además, una capa celular uniforme teñida de rojo de rutenio de 110 Å de grueso, la cual cubre completamente el aspecto exterior de la membrana plasmática apical (figura 2). La capa de la superficie gruesa no se presenta hasta el sexto día de cultivo en células amnióticas (figura 3), una vez que las células son susceptibles a la infección viral. Por lo tanto, parece que el grue

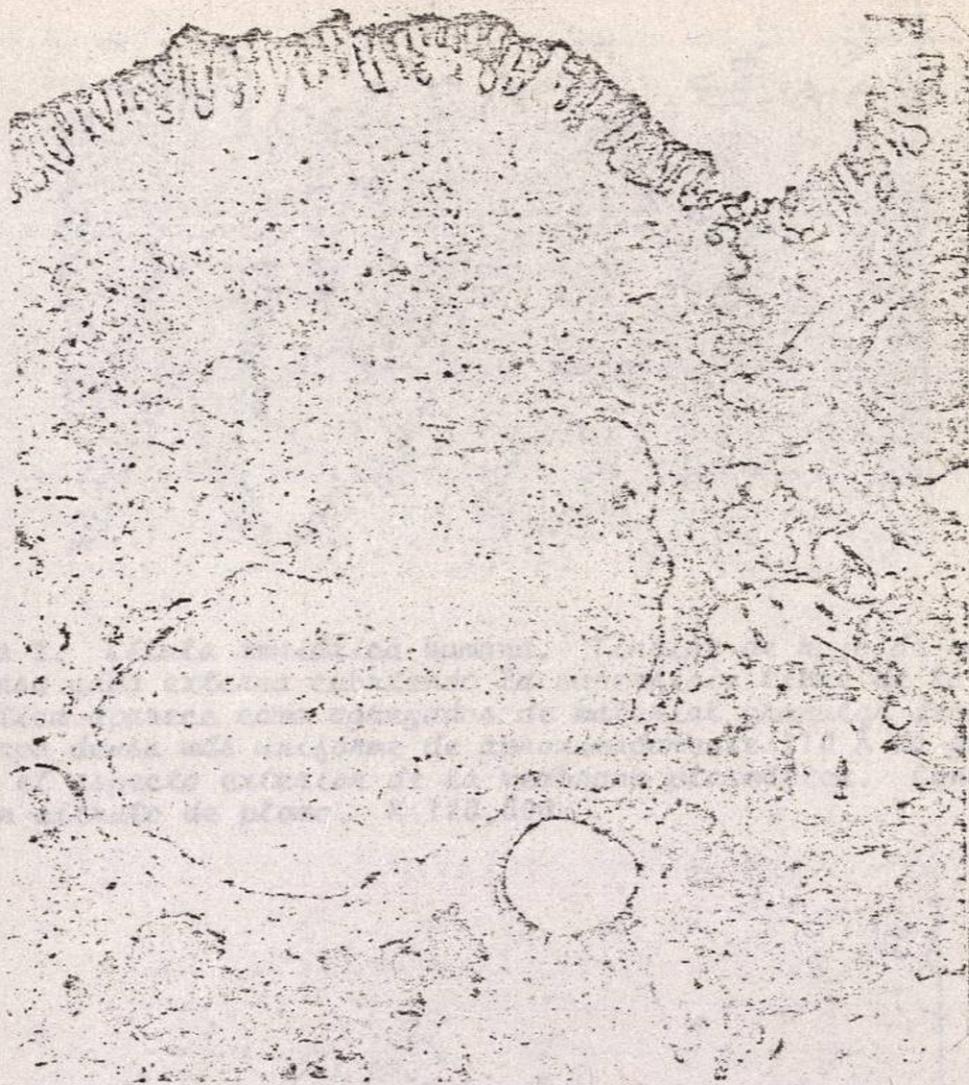


Figura 1. Célula amniótica humana. Tinción de rojo de rutenio. La superficie libre está cubierta de una gruesa capa densa de material positivo al rojo de rutenio. Acumulaciones de rojo de rutenio en los desmosomas laterales son vistos como densas películas cortas (flechas). Contrasteada con citrato de plomo. X 12,000.

Figura 2. Célula amniótica humana, sección del núcleo. La densa capa exterior de material de rojo de rutenio no está presente más tiempo, sin embargo, una delgada capa celular de 100 Å persiste, contrastada con citrato de plomo. X 12,000.



Figura 2. Célula amniótica humana. Tinción de rojo de rutenio. La densa capa externa cubriendo la superficie libre de la célula amniótica aparece como agregados de material granular denso. Una capa densa más uniforme de aproximadamente 110 Å de grueso - cubre el aspecto exterior de la membrana plasmática. Contrateñida con citrato de plomo. X 120,000.

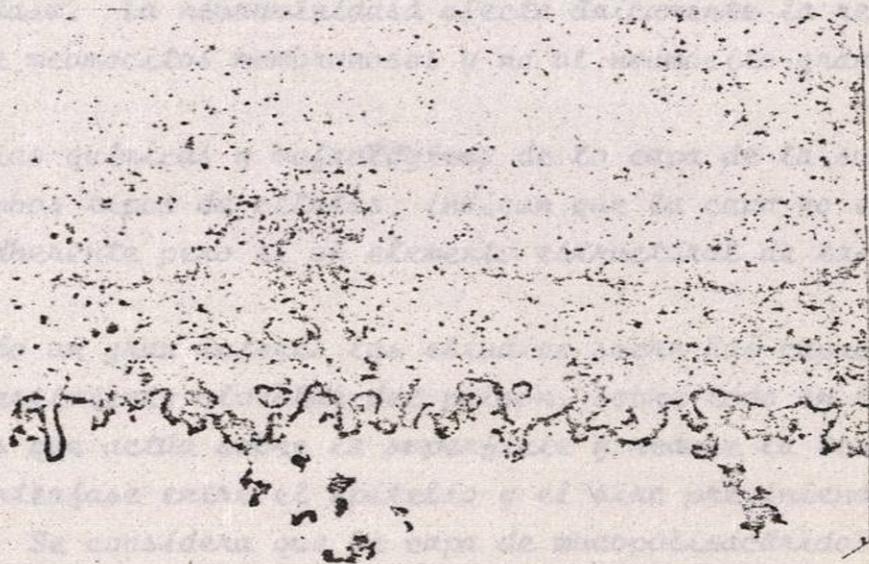


Figura 3. Célula amniótica humana; sexto día de cultivo. La densa capa exterior de material de rojo de rutenio no está presente más tiempo, únicamente una delgada capa celular de 100 Å - persiste, contrateñida con citrato de plomo. X 18,000.

so de 700 Å de la capa positiva al rojo de rutenio corresponde a la capa positiva a la plata que resiste la infección de polivirus, sin embargo, es marcadamente disminuida en las células cultivadas en las cuales los virus son multiplicados realmente.

B. CAPAS DE LAS CELULAS PULMONARES DE CELULAS EPITELIALES ALVEOLARES.

Las capas de la superficie libre recientemente han sido descritas en células epiteliales alveolares. La superficie alveolar del neumocito granular demuestra una capa de pelusa de 200-400 Å de grueso formada por unos filamentos que se originan aparentemente en la hojilla exterior de la membrana plasmática, estos filamentos son menos evidentes en el neumocito membranoso. Los carbohidratos contenidos en la capa de la superficie dan reacción positiva al hierro coloidal vista en la periferia de las células epiteliales alveolares, reacción que desaparece con el tratamiento de neuraminidasa. La neuraminidasa afecta únicamente la reacción en la superficie de meumocitos membranosos y no al neumocito granular.

Las diferencias químicas y morfológicas de la capa de la superficie asociadas con ambos tipos de células, indican que la capa no es una película de moco adherente pero sí un elemento estructural de la membrana.

Han despertado un gran interés los estudios sobre las capas de la superficie de revestimiento alveolar del pulmón, sobre todo en la película de lipoproteínas que actúa sobre la superficie y reduce la tensión superficial en la interfase entre el epitelio y el aire previniendo el colapso del alveolo. Se considera que la capa de mucopolisacáridos no actúa en la superficie por sí misma, ya que, usando una técnica de perfusión vascular descubrieron una doble capa en la superficie alveolar; la capa de la superficie probablemente compuesta de fosfolípidos y la basal solo parece ser responsable de la reacción de carbohidratos. De esta manera, -

la superficie parece estar formada por dos capas de diferente composición química, la lámina basal es representada por una capa celular similar en estructura y afinidad tintorial a la capa de la superficie libre de otras células epiteliales.

C. CAPAS DE CELULAS ENDOCAPILARES.

Demostrar un revestimiento capilar con técnicas estándar ha sido un fracaso en microscopía electrónica. La frecuente aparición de filamentos o agregaciones amorfas sobre el interior de la membrana plasmática de células endoteliales es considerado como un artefacto de su irregular apariencia. La cerrada aposición entre membranas de células rojas sanguíneas y el lado interior de las células endoteliales, las cuales pueden estar separadas por un espacio aproximadamente de 100 Å de ancho, considera que si una capa interna reviste todos los capilares, la capa de cualquiera de las dos debería de ser de dimensión molecular o ser movida fácilmente por la circulación de las células rojas sanguíneas. Posiblemente el fracaso para detectar la capa endotelial interna pueda estar relacionado ya sea con la extracción del material de la superficie durante los procedimientos preparativos o con las propiedades de dispersión baja de los materiales de recubrimiento. Esta segunda hipótesis parece ser correcta; una capa celular endocapilar ha sido demostrada con rojo de ruténio y con PTA. Parece ser prematuro hasta el presente, especular sobre el rol funcional de la capa endocapilar, sin embargo, algunas de las propiedades del endotelio capilar tales como viscosidad normal y anormal podrían estar relacionadas con las capas celulares.

2.- CAPAS CELULARES LATERALES Y BASALES.

Las membranas celulares de las células adyacentes están separadas por un claro espacio intercelular de 150-200 Å de ancho. La constancia de este espacio ha permitido la sugestión de que éste es ocupado por un material, probablemente mucopolisacárido, contínuo a la capa basal visto con técnicas estándar de microscopía electrónica.

Las capas laterales de las células epiteliales no se extienden a la superficie luminosa para cubrir la totalidad de la periferia de las células. La capa es interrumpida cerca del lado luminal donde membranas plasmáticas laterales especializadas forman un conjunto de elementos. En estos sitios, ambas, la membrana plasmática y la capa celular demuestran modificaciones regionales. El material de la capa de la superficie se concentra a el nivel de los desmosomas; esto es particularmente evidente en desmosomas de membranas amnióticas humanas teñidas con rojo de rutenio. La capa celular lateral es modificada al nivel de las uniones impermeables formando un cinturón contínuo donde la hojilla exterior de la membrana plasmática adyacente se une para formar una línea única. En esta región la capa de la célula está ausente. Las capas celulares laterales y basales se juntan para formar una capa contínuo encajando a menudo células epiteliales completamente.

En la superficie basal una capa celular no puede ser claramente distinguida de la gruesa lámina basal extracelular cuando es usada la técnica de PASM, sin embargo, con el rojo de rutenio una capa celular delgada separada de la lámina basal subadyacente puede ser observada en el aspecto basal en células ectodérmicas de embrión de pollo. Ambas capas celulares laterales y basales probablemente pueden representar productos conteniendo carbohidratos localizados ya sea en la laminilla exterior de la membrana plasmática trilaminar o externamente. Esto indica que la capa celular de la membrana plasmática es completamente uniforme en composición, la interrupción total de la capa celular a nivel de uniones impermeables ha sido interpretada como evidencia de que la capa de la célula

no forma una parte integral de la hojilla exterior de la membrana plasmática; sin embargo, la básica estructura de lipoproteínas de la membrana celular parece ser modificada localmente en esas uniones.

3.- CAPAS DE LA SUPERFICIE DE CELULAS LIBRES.

Células del tejido conectivo motil y elementos circulantes de la sangre recientemente son considerados de estar desprovistos de una capa celular. Algunas excepciones fueron encontradas en las capas de la superficie parcialmente involucradas en la absorción selectiva de proteínas y en las modificaciones de la superficie focal de eritroblastos asociados con hierro. Con adecuados métodos histoquímicos, algunos tipos de células libres muestran componentes de la superficie no visible con técnicas estándar.

Como en capas de células epiteliales, el material de contenido carbohidratos es localizado sobre la hojilla exterior de la membrana plasmática, -- formando una capa de aproximadamente 160Å de grueso. La capa celular está ausente a nivel de uniones estrechas vistas frecuentemente en fibroblastos de embrión de ratas. Además de los fibroblastos algunos tipos de elementos circulantes de la sangre están cubiertos por materiales de la superficie externa a la membrana plasmática. La superficie de las células rojas de la sangre no son teñidas con PASM, pero es positiva al hierro coloidal, rojo de rutenio, y PTA. Los leucocitos neutrófilos unen -- el torio coloidal a su superficie, ya que otras células blancas sanguíneas no demuestran reacción; partículas de torio se encuentran separadas a distancia de 220-300 Å de la membrana celular, debido a que la reacción en células rojas sanguíneas es localizada en la superficie exterior de la membrana plasmática.

La membrana plasmática de plaquetas sanguíneas es cubierta por una capa celular de 150-200 Å de grueso mejor visualizada con azul de alcian añadi

do a los fijadores; la capa absorbe ferritina, torotrasto y peróxido de rábano picante. La capa de la superficie de plaquetas probablemente está compuesta por ácido mucopolisacárido como el sugerido por la reacción positiva con rojo de rutenio y la anulación de ésta con tratamiento de hialuronidasa. También se ha encontrado que la capa reacciona con hierro coloidal y torio coloidal, concluyendo que la capa de la superficie ---- constituye un elemento funcional y estructural de la membrana de plaque--tas, el cual probablemente actúa como una sustancia cemento o adhesiva.

Resultados interesantes ha ofrecido un estudio en el cual, usando lecitinas (planta aglutinina) que une sobre la superficie celular residuos espe--cíficos de azúcar, indicando la presencia de oligosacáridos sobre la super--ficie exterior de la membrana celular pero no sobre la superficie cito---plasmática. Este método muy sensitivo para la particular designación de carbohidratos sobre la superficie celular, ha contribuido mucho al enten--dimiento de la naturaleza química específicamente del glucocáliz.

4.- CAPAS SUPERFICIALES DE CELULAS NERVIOSAS.

En el sistema nervioso central, la membrana plasmática de neuronas adya--centes y gliales están separadas por un espacio de 150-200 Å de baja den--sidad electrónica, excepto en las regiones de membrana de fusión ultraes--tructuralmente similar a las uniones estrechas (zónula ocludens ó unión -íntima) descrita en el epitelio de revestimiento. Este espacio indica -- que las membranas son cubiertas por una capa celular de aproximadamente -75Å de grueso. En el neurópilo las membranas de las células nerviosas y gliales están cubiertas de un material reactivo a PASM, PTA y rojo de ru--tenio, el cual llena los espacios intermedios irregularmente dando un as--pecto de líneas densas interrumpidas. La irregular distribución del pro--ducto de reacción puede ser atribuible a la inadecuada penetración del co--lorante, la condensación regional ó extracción del material de la capa ce

lular durante el procedimiento de preparación o la presencia de estructuras focales destruidas de membranas plasmáticas adyacentes desprovistas de material de la capa celular. Posiblemente haya una relación entre la variación de su composición química y física, y la diferente distribución de la capa celular y el material intercelular.

En la corteza cerebral, la sinapsis característicamente muestra una acumulación de material teñible a PTA localizado entre las membranas pre y postsinápticas. El rojo de rutenio tiñe también intensamente el material de la superficie en hendiduras sinápticas de la corteza cerebral de rata. La sinapsis cortical tiene las características morfológicas de uniones intermedias descritas en otros tejidos tal como la acumulación focal de material extracelular, paralelismo entre membranas sinápticas adyacentes y bandas de material denso en la matriz citoplasmática subadyacente de elementos pre y postsinápticos. En estas regiones especializadas, el material de la capa celular está involucrado en el mantenimiento probablemente de fuerte adhesión entre células.

La capa celular rica en carbohidratos parece ser de importancia para la función neuronal. Esta capa celular de neuronas está compuesta principalmente de gangliósidos y glucoproteínas pues los ácidos mucopolisacáridos son generalmente localizados en los espacios intermedios intercelulares. Se ha postulado un modelo de estructura de membrana neuronal la cual integra la membrana trilaminar de lipoproteínas, la capa celular de contenido carbohidrato y el espacio intercelular dentro de un concepto más grande de membrana. La clasificación asimétrica supramolecular de gangliósidos y glucoproteínas, con sus grupos cargados negativamente extendiéndose fuera de la membrana celular podrían determinar su papel como encuadernadores de cationes y específicos en los procesos de excitación neuronal y recuperación. Los polisacáridos intercelulares probablemente proveen una trayectoria estructural de transporte molecular y iónico selectivo, formando canales hidratados intercelulares y altamente cargados. La hipótesis de los sucesos de cambios conformacionales durante la despolarización es supuesta por la observación de modificaciones en las propiedades de dis-

persión de luz del axón de calamar gigante durante el pasaje de una acción potencial.

5.- CAPAS SUPERFICIALES DE CELULAS EMBRIONARIAS.

La importancia de las propiedades de la superficie celular en la diferenciación celular normal, es evidente por los cambios en la adhesividad de las células durante los movimientos morfogénéticos, la transición de la blástula a la temprana gástrula en huevos de teleosteo es acompañada por un incremento de adhesividad de la gástrula la cual aplana extensivamente sobre el sustrato cristalino, mientras que las células de la blástula -- permanecen esféricas bajo similares condiciones de cultivo. La morfogénesis del metanefrón de ratón es también acompañada por un incremento -- gradual en la adhesividad mutua como un preludio para la diferenciación morfológica. Durante la diferenciación celular y organización tisular -- toma sitios de cambios importantes en la superficie celular. La periferia de las células de huevo de anfibios y la envoltura de las capas celulares de huevo de teleosteo están cubiertas por una capa celular funcionalmente importante. Hemos observado que las capas de las células pueden ser demostradas tempranamente en el desarrollo del embrión. En la fase primitiva, la superficie basal de células ectodérmicas están cubiertas por una lámina basal uniforme estrechamente relacionada con la capa celular ectodérmica delgada positiva al rojo de ruténio. En posteriores fases, derivados del mesénquima tales como las células del corazón están cubiertas por una uniforme capa de material positivo al rojo de ruténio cuidadosamente aplicada a la membrana celular. En células de embrión de pollo disociadas, ha sido detectada una capa celular resistente a varios tratamientos enzimáticos pero susceptibles a la fosfolipasa y usando lan tano para su detección.

En la superficie del epitelio salival embrionario se encontró un material

que incorpora glucosamina tritiada; este producto de la superficie probablemente representa una capa celular basal compuesta de mucopolisacáridos principalmente, puesto que la marca es removida con hialuronidasa pero no con colagenasa. Productos periféricos pueden tener también un papel en las afinidades histogénéticas selectivas.

La formación de elementos de unión especializados es una modificación importante de la superficie celular durante la interacción celular normal y la morfógenesis.

El componente de la superficie en huevo marino está entre el primero de ser estudiado y reconocido. Oocitos maduros de erizo de mar, *Arbacia punctulata*, son de 70 micras de diámetro y tienen una capa gelatinosa de más o menos 30 micras de grosos. La ultraestructura de la capa gelatinosa es vista como una red de finos filamentos extendiéndose al exterior del oolema. Esta estructura se parece a la capa de la superficie vellosa del epitelio intestinal pero es mucho menos densa y los filamentos tienden a estar orientados circunferencialmente.

Se ha hecho un número de estudios para determinar la composición química de las capas gelatinosas aisladas y revelan una glucoproteína conteniendo alrededor de 20% de proteínas y el resto de polisacáridos esterificados con grupos sulfato.

Huevos de erizo de mar tratados con concanavalina A, una globulina de origen vegetal, la cual reacciona con los grupos polisacáridos específicos, claramente demuestra la disminuída fertilidad. Este bloqueo de fertilización es un resultado de la unión de la concanavalina A con los oligosacáridos en la superficie del huevo. Similares fertilizaciones en mamíferos, han demostrado que el germen de trigo aglutina específicamente unido con oligosacáridos en la zona difusa y previene la penetración del esperma.

Dentro de la función de las capas gelatinosas está la obvia naturaleza -- protectora. El huevo gelatinoso del erizo de mar suelta una sustancia --

que pasajeramente aglutina en espermatozona y entonces estimula su motilidad. Esta sustancia fue llamada fertilizin y ha sido extensamente estudiada; sus investigaciones han guiado a la creencia de que la capa gelatinosa es fertilizin por sí misma o que fertilizin es un componente estructural mayor de la capa gelatinosa. Este glucocálix hasta ahora ha sido implicado en el proceso de fertilización normal y parece probable que capas celulares de huevo de otras especies puedan jugar papeles relacionados.

En adición a la capa gelatinosa extracelular, hay otro componente para el glucocálix del huevo de erizo de mar. La membrana de fertilización completamente formada (figura 4) presenta una capa delgada de material de reserva el cual permanece sobre el oolema aún a pesar de que la capa gelatinosa es removida, esta ha sido descrita como membrana vitelina o desarrollo primario. Estas partes de formas de glucocálix sobre el plasmalema de huevos durante la diferenciación de los oocitos contienen un compuesto de mucopolisacáridos y proteína. Después del tiempo de fertilización del huevo, la vitelina primaria desarrolla formas elevadas de membrana plasmática de huevo (figura 6). Llega a ser espesada pero en esta fase todavía no representa la formada membrana de fertilización plenamente. El espacio nuevamente creado entre el huevo y el glucocálix formado en activación es la hialina o espacio previtelino. Dentro de este espacio los gránulos corticales de los huevos (figura 5 y 6) liberan sus contenidos. Este material y posiblemente otros componentes celulares son incorporados dentro del cáliz de activación el cual llega a ser completamente grueso y gradualmente asume la apariencia de membrana de fertilización característica o chorion (figura 4). Esta estructura pasa entonces por un proceso de endurecimiento que devuelve fuerza y elasticidad para que sirva como un sobre protectoro desarrollándose en el cigoto.

La ultraestructura del chorion difiere en finos detalles. En secciones delgadas es de alrededor de 500 Å de grosor y aparece laminar. Dos capas de cerca de 150 Å de grosor son separadas por una zona clara relativamente de alrededor 200 Å de ancho. Cada una de las capas exteriores pue

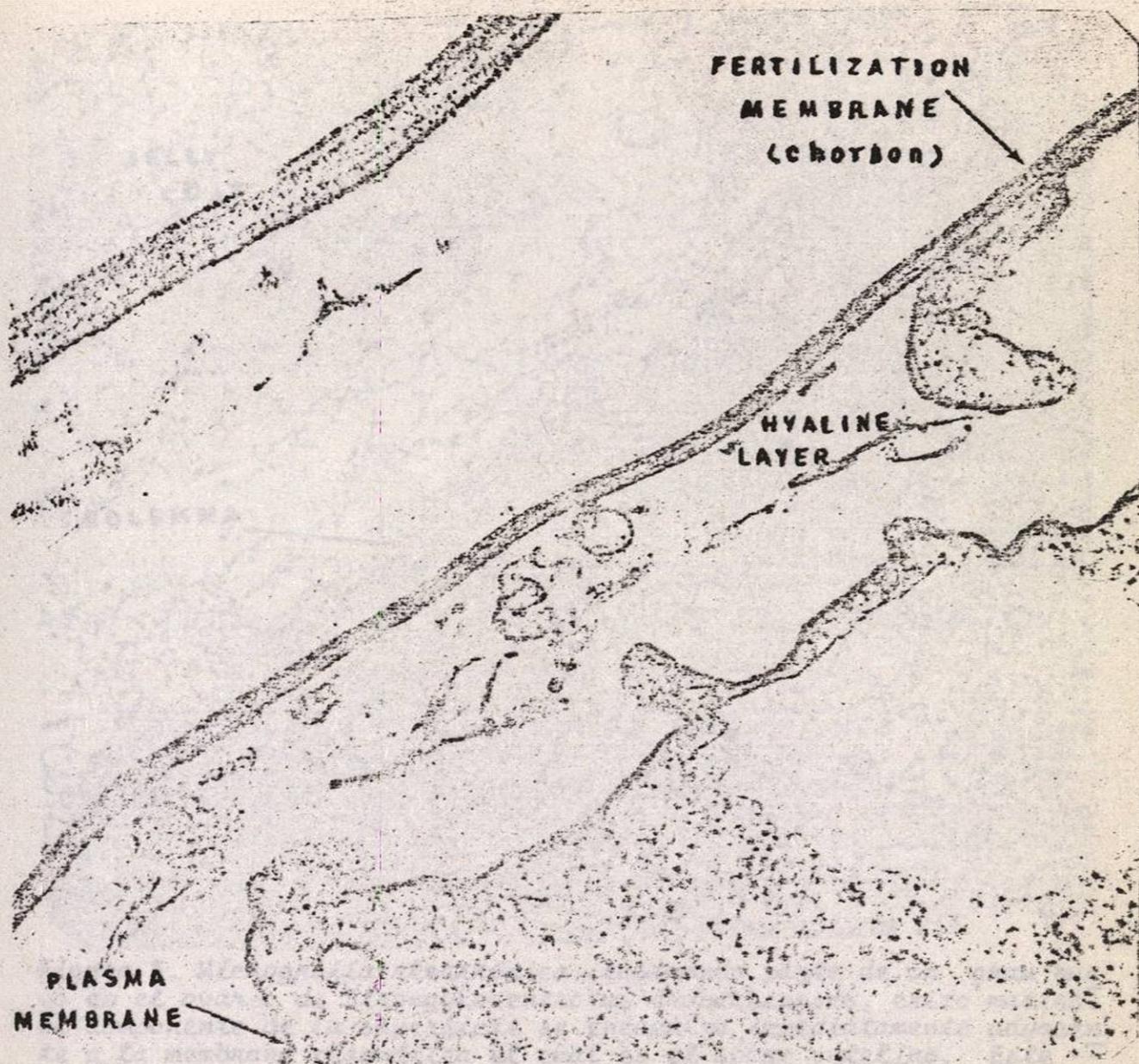


Figura 4. Pequeño segmento del glucocáliz y citoplasma periférico de una Arbacia desarrollando fijada en la fase 4 celular, 75 minutos -- después de la fertilización. La gruesa membrana de fertilización o chorion tiene cerca de 500 Å de ancho con una zona central clara de 200 Å aproximadamente. Capas interiores y externas del chorion tienen alrededor de 150 Å de grueso y puede aparecer trilaminar o como una serie de perfiles circulares de cerca de 150 Å de diámetro. El extremo superior ilustra el chorion en alta magnificación. El espacio previtelino el cual es el área entre la membrana plasmática y el chorion contiene la capa hialina y microvellos. X 65,000; extremo - sup. X 160,000.

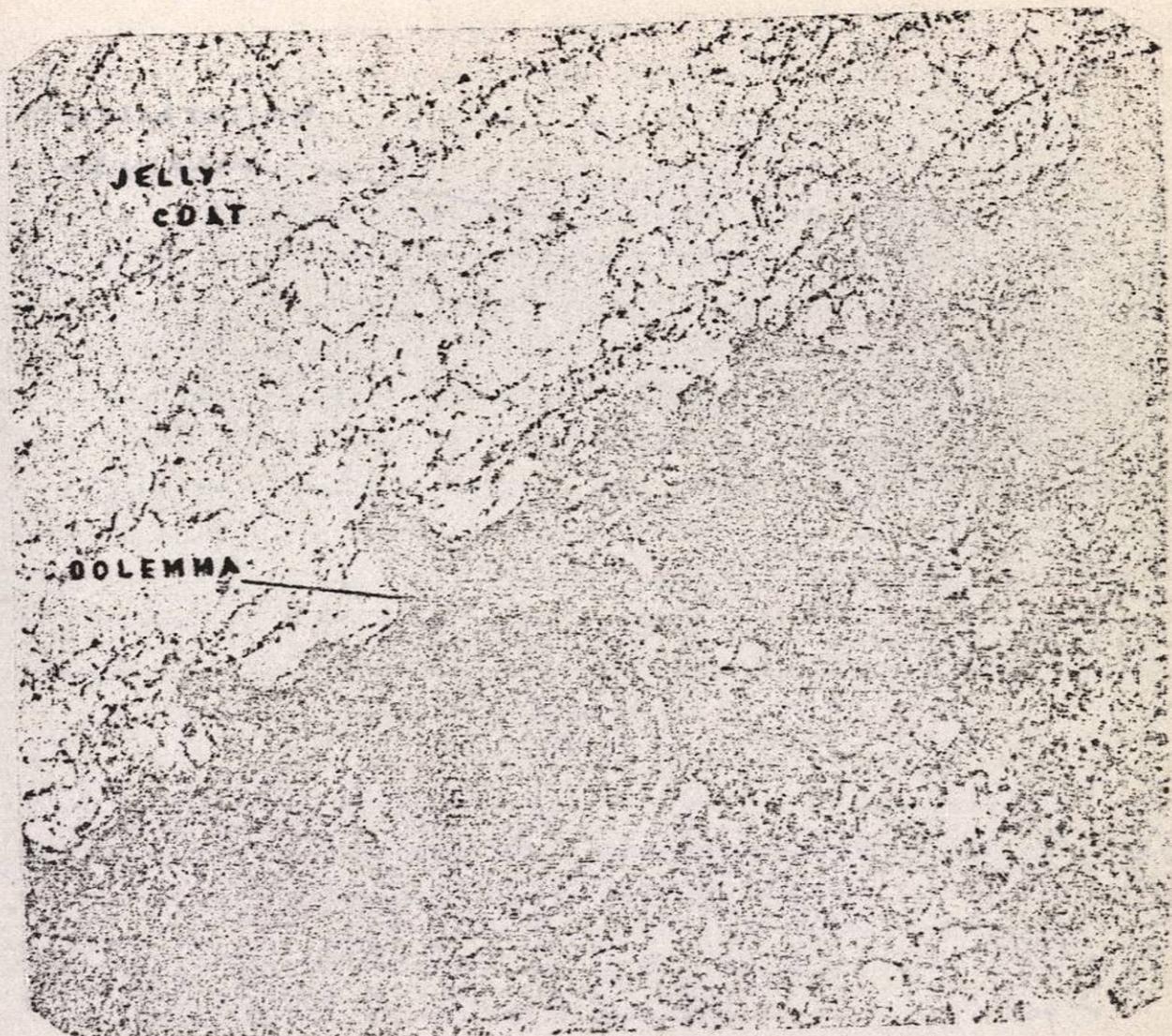


Figura 5. Micrografía electrónica ilustrando parte de un gran huevo en el ovario de *Strongylocentrotus drobachiensis*, erizo marino. El componente de la superficie se encuentra inmediatamente adyacente a la membrana plasmática el cual es el sobre vitelino. Este complejo de capas de huevo es el glucocáliz. Los gránulos corticales los cuales tienen una ultraestructura característica por cada especie son numerosos en la periferia del citoplasma. X 60,000.

Fig. de activación. X 45,000.

FERTILIZATION

MEMBRANE

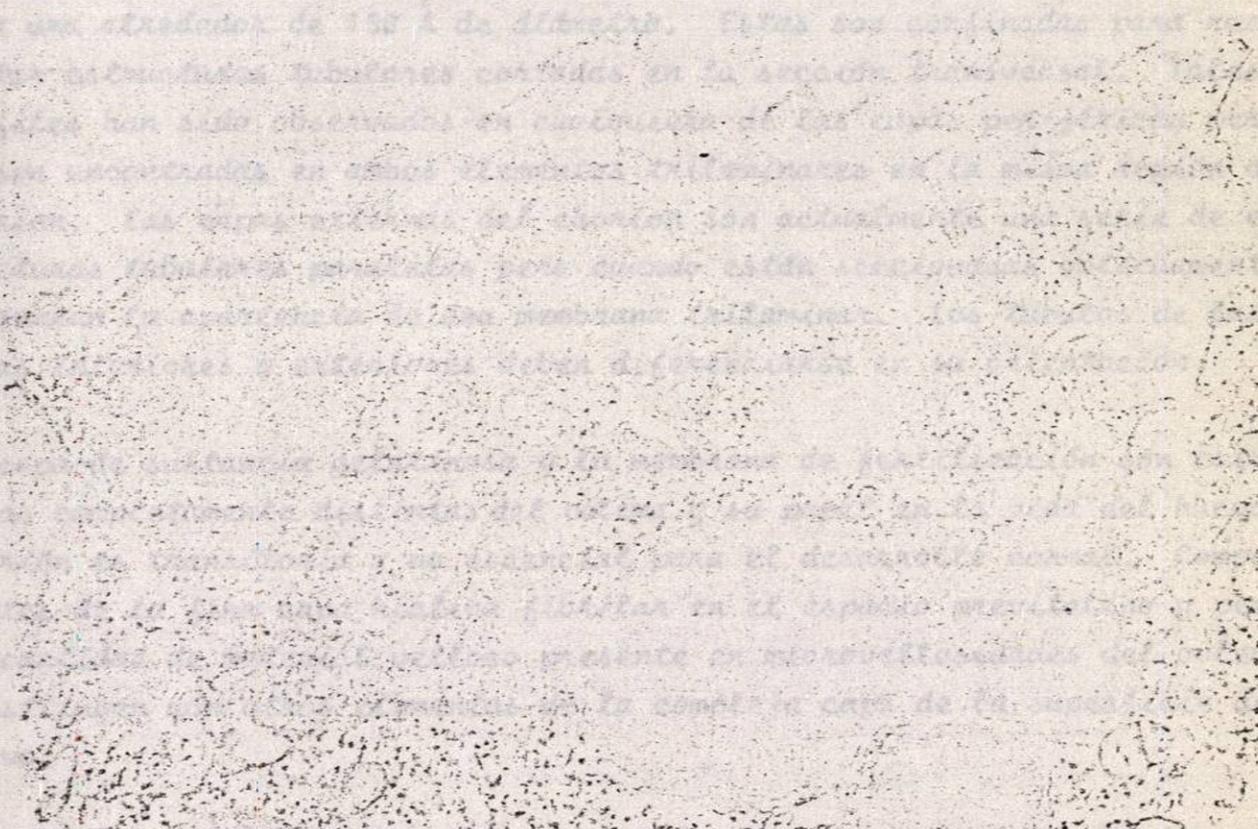


Figura 6. Parte de la superficie de un huevo Arbacia fijado un minuto después de la inseminación. La capa gelatinosa ha sido perdida por el procedimiento de la técnica. Hacia la izquierda del sobre vitelino está sin embargo cuidadosamente atada a la membrana plasmática. Aunque el sobre vitelino es elevado desde la membrana celular como se muestra en esta ilustración, esto se conoce como membrana de fertilización ó, más apropiadamente como el cáliz de activación. X 45,000.

den, en ciertos planos de sección, aparecer trilaminar con dos densidades de líneas de 50 Å separadas por un espacio de 50 Å de baja densidad. En ciertos planos de sección (figura 4) la apariencia de los componentes exteriores sugieren una interpretación diferente. Las capas exteriores pueden aparecer como líneas de perfiles circulares cercanamente aproximadas, cada una alrededor de 150 Å de diámetro. Estas son confinadas para representar estructuras tubulares cortadas en la sección transversal. Tales perfiles han sido observados en cualquiera de las capas periféricas pero no son encontradas en ambos elementos trilaminares en la misma región del chorion. Las capas externas del chorion son actualmente una serie de estructuras tubulares paralelas pero cuando están seccionadas oblicuamente presentan la apariencia de una membrana trilaminar. Los túbulos de las capas interiores y exteriores deben diferenciarse en su orientación.

La capa de sustancia gelatinosa y la membrana de fertilización son estructuras completamente distintas del oolema y su papel en la vida del huevo y embrión es transitoria y no esencial para el desarrollo normal. Componentes de la fina capa hialina fibrilar en el espacio previtelino y pequeña cantidad de material veloso presente en microvellosidades del oolema constituyen aún otros elementos de la compleja capa de la superficie del huevo.

6.- CAPAS SUPERFICIALES DE LAS CELULAS TUMORALES.

Las alteraciones de adhesividad celular son consideradas significativamente en el mantenimiento y establecimiento de transformación maligna. Se ha demostrado la baja adhesividad de células de tumores epiteliales, en la participación estimulante en las propiedades de la superficie de células tumorales y normales. Los procesos carcinogénicos no están simplemente reflejados en la disminución de la adhesividad de la célula; células transformadas por virus oncogénicos adhieren fuertemente sustratos dife-

rentes tales como cristales o filtros de milporos. La disminución de adhesividad intercelular de células tumorales es posiblemente uno de los factores que conduce a los cambios en la conducta social de las células, como la reflejada en sistemas de cultivo de tejido debido a la baja inhibición de contacto de las células de movimiento y la pérdida de inhibición de contacto de la división celular. Esta disminución de adhesividad en células tumorales puede surgir al mismo tiempo de una disminución en la fuerza atractiva o un aumento en los factores repulsivos. La reducción en la cantidad de calcio limita a los tejidos tumorales y la relativa ausencia de uniones intercelulares estables entre las células tumorales pueden contribuir a la reducción de los elementos adhesivos. Las fuerzas repulsivas pueden incrementar por aumento de la carga negativa de la superficie de las células, la repulsión electrostática creada por grupos carboxil del ácido sílico dominando las fuerzas atractivas en células tumorales. La carga de la superficie fue estudiada primero por medio de cálculos de movilidad electroforética, y llegó a ser evidente que la carga negativa sobre células de hepatoma y tumorales de riñón fueron de las más altas en duplicado normal. El incremento de la movilidad electroforética corresponde aproximadamente a la capacidad invasiva de las células. Se ha encontrado que altas cargas de la superficie están presentes en la regeneración de células normales durante la mitosis. No puede generalizarse sobre la alta movilidad electroforética de células tumorales o la contribución del ácido sílico a la carga total de la superficie celular, no hay duda de que ambos factores son operativos en diferentes tipos de células tumorales. En el caso de las células tumorales de ascitis, una alta proporción electroforética y su disminución con neuraminidasa ha sido claramente demostrada. La distribución periférica de ácido sílico en células de tumor de ascitis fue reforzada por la demostración morfológica de una capa celular positiva al hierro coloidal y sensitiva a neuraminidasa, y químicamente por la aislación de la superficie de células de tumor de ascitis del ácido sílico conteniendo sialomucopolipéptido como grupo terminal.

Importantes diferencias estructurales entre membranas celulares de hepatoma e hígado normal han sido descritas. Estas modificaciones están a la vez en la propia membrana plasmática y en la capa de carbohidratos de la

superficie. La tinción granular de la hojilla exterior de la membrana -- vistas en membranas de hígado con hierro coloidal es reemplazada por áreas de tinción uniforme en ambos lados de las membranas de hepatoma y -- menos sensitiva a la acción de la neuraminidasa que la del material normalmente encontrado en la superficie de membrana de hígado. Se han encontrado distintos ejemplos de protuberancia de productos de contenido carbohidrato en la superficie de células tumorales; la superficie apical de células mamarias tumorales de rata demuestra una violenta reacción con PTA.

Estos estudios mencionados sugieren una correlación entre un incremento -- en mucopolisacáridos de la superficie y las modificaciones de comportamiento social demostrado por células transformadas con DNA de virus oncogénicos. La demostración para la ausencia de la inhibición por contacto es un resultado de la producción aumentada de estas sustancias, y para el último acto por incremento de la carga aún careciendo. Recientes estudios tienden a indicar que macromoléculas de la superficie pueden jugar -- un papel central en la regulación de movimiento y crecimiento de las células. Componentes macromoleculares de la superficie celular que alteran -- la velocidad de desarrollo de células cultivadas han sido descritos; un material de la superficie ha sido obtenido del cultivo de células de riñón de hámster y de los derivados de la misma línea transformados por virus de polioma mediante tratamiento de EDTA. Una fracción de alto peso molecular aislada de células normales inhibidas por contacto producen una transitoria pero marcada inhibición de proliferación celular. Estudios adicionales han demostrado que las células transformadas por virus de polioma tienen una gruesa capa positiva al azul de alcian como la vista en las células no transformadas, el EDTA extrajo más del 30% de material por peso seco que las células normales. Estudios microquímicos sobre el material extraído de EDTA indican que éste contiene un mucopolisacárido. En contradicción al incremento de algunos productos de la superficie de contenido carbohidrato, la transformación inducida por -- DNA de virus oncogénicos incluye la pérdida de otras diferentes funciones, tales como la marcada disminución de la proporción de hialuronidato y síntesis de colágena. No hay diferencias significativas en cuanto -- al contenido del ácido sílico entre células normales y las tres líneas -- de células transformadas por virus. Estudios sobre la composición química de membranas de hepatoma de rata contienen más del 40% de ácido sílico

co, misma cantidad de membranas normales de células de hígado de rata.

Otras sustancias de contenido carbohidrato fueron también alteradas durante la transformación: el principal glucolípido de fibroblasto normal, marcadamente disminuido en células transformadas por virus de polioma, al mismo tiempo que lactosilceramida, normalmente presente en pequeñas cantidades, aumenta durante la transformación. Aunque no hay prueba de que estos glucolípidos son localizados en la superficie celular, modificaciones de reacciones de aglutinación demostraron un paralelismo con la falta de inhibición por contacto, sugiriendo que un cambio toma lugar en la superficie celular durante la transformación.

Además de la confirmación de la envoltura en la superficie celular durante el proceso carcinogénico obtenida por el reconocimiento de una planta aglutinina que interactúa casi exclusivamente con células malignas, la aglutinina ha sido caracterizada como una glucoproteína pura y, basándose en la inhibición haptano, la N-acetilglucosamina parece ser parte del sitio del receptor específico del tumor. La compleja superficie conteniendo sitios de aglutinación específica de tumor ha sido aislada de leucemia de ratón y células transformadas por virus polioma usando shock hipotónico, sin afectar la viabilidad de las células. El receptor parece ser similar en una variedad de células tumorales inducidas viralmente y químicamente. La transformación involucra la síntesis de nuevos receptores y algunos ya existentes son descubiertos previamente. En resumen hay considerable evidencia que durante la transformación maligna hay una importante turbación en la arquitectura macromolecular de los componentes de la superficie celular los cuales involucran principalmente los productos de contenido carbohidrato de las capas periféricas celulares. Estas modificaciones pueden disminuir la adhesividad intercelular de células tumorales y alterar la composición antigénica de la superficie celular, ambas por encubrimiento de componentes normales ó por exposición de nuevos sitios. Otra consecuencia significativa es la falta de comunicación intercelular en algunos tipos de tejidos tumorales. La baja adhesividad y capacidad para infiltrar los tejidos normales son también vistas en células sanguíneas normales tales como linfocitos y leucocitos, estas células han

perdido la habilidad para multiplicarse. En el caso de células tumorales éstas pueden bien ser la modificación de las propiedades de la superficie al mismo tiempo que retienen aún las células su actividad mitótica, es uno de los factores importantes en el proceso de carcinogénesis.

CAPITULO III.

PROPIEDADES DE LAS CAPAS CELULARES.

La clara evidencia hasta ahora revisada indica que una capa glucoproteínica existe en el exterior de la superficie de la mayoría si no de todas -- las células. Es posible, por consiguiente, atribuir a esta capa alguna -- de las propiedades que en el pasado hablan sido otorgadas vagamente.

1.- La capa celular juega un papel en la permeabilidad celular. Se ha de mostrado trabajando sobre células leucémicas que el ácido sílico de la -- superficie celular interviene en el transporte de iones potasio a través de la membrana plasmática.

Teorías postulan que la presencia del ácido sílico sobre la membrana celu-- lar es necesario para unir una proteína específica la cual es usada para el transporte intercelular de proteínas fuera de la célula. La elimina-- ción enzimática del ácido sílico de la superficie previene el flujo de -- proteínas hacia afuera de las células leucémicas. Para explicar la aso-- ciación de carbohidrato con más proteínas extracelulares y su virtual au-- sencia de proteínas intracelulares, el carbohidrato actúa como una marca química, la cual, en la interacción con la membrana mensajera, fomenta el transporte de la glucoproteína sintetizada recientemente en el medio ex-- tracelular. Las proteínas careciendo de carbohidratos, tales como las en-- zimas digestivas de glándulas parótidas y páncreas pueden ser cubiertas -- por una membrana glucoproteínica para ser excretada. En efecto, cuando -- materiales secretorios conteniendo proteínas con poco o ningún carbohidra-- to, como el caso de las enzimas pancreáticas, pepsina gástrica u hormo-- nas pituitarias (STH o ACTH) fueron examinadas en el microscopio electró-- nico después de técnicas histoquímicas de glucoproteínas, la matriz de -- los gránulos secretorios no fue teñida, pero el borde de los gránulos fue -- ron teñidos con PAS y PTA.

Recientes observaciones sobre las modificaciones de carga de la capa celu--

lar como las proporcionadas por las tinciones de torio coloidal y hierro coloidal en la superficie apical de células epiteliales de vejiga de rana después de la estimulación hormonal, ilustran también que la capa celular puede jugar un papel en la regulación de la permeabilidad celular.

Otra revelante observación es el reporte de las alteraciones estructurales y fisiológicas ocurriendo en la membrana plasmática de la amiba durante la pinocitosis. La serie de sustancias que induce la pinocitosis en la amiba es amplia. Incluye sales simples, aminoácidos, tintes, proteínas, nucleoproteínas; pero en cada caso el agente inductor o componente es de forma catiónica. En el primer paso de pinocitosis induce sales simples tales como proteínas básicas ribonucleasa, citocromo c o azul de alcian; estas sales están unidas a los filamentos de las capas de la amiba y bloques de sus grupos aniónicos. Este paso es seguido por una baja resistencia electrónica de la membrana plasmática, mientras que electrónicamente la capa transparente de la unidad de membrana plasmática llega a ser el doble de gruesa, al mismo tiempo que la permeabilidad de la membrana es incrementada y moléculas tales como glucosa y tal vez ribonucleasa se permiten entrar en la célula. Así, en este caso, una modificación de la capa exterior rica en carbohidratos induce cambios en la membrana plasmática fundamental la cual, llega a ser permeable a moléculas que usualmente no penetran las células. La naturaleza exacta de los cambios inducidos en la membrana plasmática no es conocida.

Experimentos sobre sistemas agua-lípidos, sin embargo, han demostrado -- que un fosfolípido obtenido del cerebro existiría únicamente en dos fases líquidas cristalinas: una fase laminar, formada por una secuencia ordenada de lípidos y una proyectada extensión de agua, y una fase hexagonal, la cual es una colección hexagonal de cilindros circulares hechos sobre un delgado canal de agua cubiertos por hidrófilos de las moléculas de lípidos; estas estructuras líquidas cristalinas son extremadamente inestables y pueden ser alteradas por pequeñas variaciones de su medio ambiente. La transformación de una colección laminar a hexagonal puede ocurrir en los lípidos de la membrana plasmática. Una transformación semejante ha sido postulada de los lípidos de la vaina de mielina. Cuando

la materia blanca cerebral ó nervios periféricos fueron homogenizados con varias concentraciones de cloruro de calcio ó cloruro de sodio, cationes monovalentes tales como el sodio pueden inducir la formación de una emulsión de "aceite en agua" que es, la producción de canales acuosos cubiertos por grupos polares de las moléculas lípidas. En contraste cationes bivalentes tales como el calcio pueden inducir la formación de emulsiones de "agua de aceite" que es la producción de canales aceitósos. La formación de canales atravesando la capa lípida de la membrana plasmática permitirá penetrar moléculas a la célula. Apoyándose en la fase en la cual ninguno de los modelos están formados, los lípidos podrían estar en una fase laminar; en este caso la membrana sería relativamente impermeable y caracterizada por una alta resistencia eléctrica. Sin alguna semejante transición ocurre en la membrana viva permanece estabilizada pues hay evidencia de que los lípidos son estabilizados en el estado bilaminar por asociación con proteínas. La estructura laminar de la capa de lípidos postulada por DANIELLI-DAVSON o cualquier otra estructura de membranas propuesta por más recientes modelos es condicionada y estabilizada por la presencia de la capa celular y, consecuentemente algún cambio en la disposición molecular de la más reciente es posible introducir una reorganización estructural resultando de la modificación de la permeabilidad y propiedades eléctricas de la membrana plasmática.

2.- La presencia de mucoproteínas con propiedades antigénicas en la extraña capa de la amiba sugiere que la capa celular juega también un papel en la inmunidad celular. El tratamiento de las células rojas sanguíneas con virus influenza ó el receptor destructor de enzima (neuraminidasa) de Vibrio cholerae puede inactivar los antígenos N y M de los grupos sanguíneos de la superficie celular. La evidencia de la unión proteínica del ácido sílico siendo involucrado en la química de estos antígenos fue proporcionada cuando se demostró que el tratamiento de células rojas sanguíneas con varias enzimas proteolíticas eran liberadas de la superficie celular con actividad de sialoglupéptidos de los grupos sanguíneos M y N. El tratamiento de eritrocitos con preparaciones conteniendo beta-galactosinasa y beta-glucosaminidasa disminuyeron su habilidad para reaccionar con antiaglutininas I, mientras que la actividad de un sialoglucopéptido con el grupo sanguíneo I, separado de eritrocitos humanos por tripsina --

crystalina demuestra una pérdida concomitante de aglutinógeno en el grupo sanguíneo I. La antigenicidad de estos glucolípidos ha sido usualmente atribuida a su mitad carbohidrata. Los grupos lisisna e-NH₂, son indispensables para la actividad de grupos sanguíneos de glucolípidos M y N; debido a que estos grupos amino participan directamente en la unión de los anticuerpos o ayudan a la molécula a mantener una favorable configuración. Sin duda todos los aglutinógenos en la superficie celular roja no son glucoproteínas puesto que glucolípidos activos A y B han sido aislados de -- las células rojas de estroma, pero esto aclara que las glucoproteínas pueden otorgar propiedades antigénicas a la superficie celular.

3.- La examinación de la superficie celular en preparaciones convencionales de microscopía electrónica ha demostrado filamentos agregados a la membrana plasmática de muchas células; la apariencia de la capa fibrilar o -vellosa, puede variar según las especies. Así, en preparaciones teñidas negativamente, la capa fibrilar es restituida por hileras de unidades globulares de 50-60 Å agregadas a la superficie exterior de la membrana plasmática; observadas en membranas plasmáticas de células intestinales, de corazón, de hígado. Después de la digestión de papaína por cisteína activada, las protuberancias globulares fueron liberadas de la membrana plasmática en células intestinales y de hígado. La examinación con el microscopio electrónico del sobrenadante después de la centrifugación diferencial de membranas aisladas tratadas con papaína revelan la presencia de partículas similares a las protuberancias globulares de la membrana intacta.

Las partículas aisladas contenían aminopeptidasa, leucina, en células de hígado; leucina, aminopeptidasa e invertasa en células intestinales. En adición al material antigénico, la capa celular contiene algunas enzimas, las cuales en el borde de cepillo intestinal pueden realizar la digestión hidrolítica terminal de carbohidratos y proteínas en la superficie de las membranas de microvellos; estas enzimas son glucoproteínas o necesitan un medio ambiente de glucoproteínas para permanecer activadas, no obstante de ser establecidas.

4.- Las glucoproteínas de la superficie pueden ser importantes para el -- mantenimiento de la adhesión de una célula a otra ó a un sustrato extraño.

Las células disociadas con tripsina cristalina y tratadas con neuraminidasa inmediatamente demostraron una reducida capacidad agregativa comparadas con los controles, los cuales no fueron expuestos a neuraminidasa. Estas células reducen significativamente su negatividad de movilidad electroforética, disminución que corresponde a la separación del ácido siálico de la superficie celular. El mecanismo exacto por el cual el ácido siálico puede influir en el proceso de agregación de la célula no está claramente entendido, pero podemos comparar a los cargados grupos carboxil de ácido siálico con las propiedades físicas de sialoglucoproteínas de glándulas submaxilares de ovejuno que conceden rigidez estructural en el -- centro de la proteína fundamental de la periferia celular. La tinción -- con hierro coloidal de los complejos de unión (zónula adherens) no ocurre cuando las membranas tratadas con EDTA fueron subsecuentemente tratadas -- con neuraminidasa, estos resultados indican que las uniones intactas de -- los grupos carboxil de ácido siálico son firmemente unidas por enlaces de -- iones calcio a otros grupos anionogénicos, y presumiblemente otros grupos carboxil del ácido siálico están, por lo tanto, involucrados en el meca-- nismo que guarda la unión intacta.

5.- La célula ha fabricado un mecanismo de biosíntesis capaz de la formación de una gran variedad de estructuras de la superficie para un número mínimo de monosacáridos, lo cual indica, que la estructura y propiedad de la capa celular puede variar de una célula a otra y conceder a la superfi-- cie celular un alto grado de especificidad. La simple adición de azúcar a un medio de cultivo puede alterar la superficie celular y de este modo en distintas formas en diferentes líneas de células. Cuando varias cla-- ses de células embriónicas son mezcladas en un cultivo de tejido, las cé-- lulas de su misma especie construyen estructuras reproduciendo el tejido de origen. El reconocimiento mutuo indica que las células de un tipo da-- do tienen capas celulares con propiedades similares.

Estas propiedades pueden ser alteradas, cuando la adhesividad entre célu--

las neoplásicas circulando y endotelio vascular involucra propiedades de ambas superficies, por ejemplo. Cuando las células tumorales tratadas con neuraminidasa fueron inyectadas intravenosamente en animales, no hubo modificación observada en la cubierta metastásica de las células, pero la inyección intravenosa de la enzima antes de la inoculación de células tumorales dentro de huestes homólogos, produjo una reducción significativa de metástasis. La integridad de la superficie celular de glucoproteínas es esencial para la circulación normal de linfocitos. Realmente, contrario a los linfocitos normales, los linfocitos cuya superficie de carbohidratos es alterada por tratamiento con una mezcla de glucosidasas obtenidas de Clostridium perfringens fueron separados de la circulación por células reticuloendoteliales. Los carbohidratos de la superficie -- del linfocito permite atravesar su único camino a través de los cuerpos y actuando como sitios reconocidos por estructuras complementarias sobre la superficie de las células endoteliales en las vénulas postcapilares de tejido linfoide. Recientemente se ha observado un paralelismo entre la susceptibilidad de la alteración de l-fucosa exhibida por células --- transformadas por virus y su habilidad para ser inhibidas por contacto con células normales. La l-fucosa produce sus efectos por sustitución de un constituyente conteniendo fucosa de células normales las cuales, en cuanto a la combinación con sitios complementarios de células susceptibles, causan cambios característicos de contacto con células normales.

Es probable, por lo tanto, que los carbohidratos de la capa celular juegan un papel importante en la sociología celular y que, su modificación por tratamientos enzimáticos y otros medios pueden profundamente afectar el comportamiento normal de las células.

LAMINAS BASALES.

Las láminas basales forman una fina capa de material amorfo fundamental - de la superficie basal de tejidos epiteliales. Ellas difieren morfológicamente en algunos aspectos de las capas celulares; las láminas basales - constituyen una lámina continua no relacionada a los límites de las células epiteliales o a un tipo de célula dada, mientras que las capas celulares muestran variaciones regionales conforme a los límites celulares y a los tipos de células. Además las capas celulares son íntimamente asociadas con la membrana plasmática, mientras que las láminas basales están separadas de las membranas celulares adyacentes por un estrecho pero constante claro espacio. Estas finas diferencias estructurales y de composición química de ambos tipos de láminas de la superficie rinden la inclusión bajo un sencillo término descriptivo tal como glucocáliz.

El término membrana de base, usado en la literatura de microscopía de luz para identificar una lámina basal positiva a PAS, ha sido aplicado inapropiadamente para designar la densa capa amorfa vista con el microscopio electrónico en límites dermoepidérmicos. El uso de alternativas secciones gruesas y delgadas teñidas con PASM para microscopía electrónica y de luz, respectivamente, han demostrado que la membrana de base del ectocervix de humano en microscopía de luz, está compuesta de fibras de tejido conectivo condensado en una área de 0.5 micras de estroma inmediatamente subadyacente a la densidad electrónica de la membrana o lámina basal. La correcta designación es de práctica importancia puesto que el significado y naturaleza de las láminas basales y membranas de base son diferentes en estados patológicos.

A. ESTRUCTURAS FINAS Y COMPOSICION QUIMICA.

Las láminas basales son encontradas en células con polaridad definida cerca de una superficie libre, únicamente. Ellas han sido descritas en una gran variedad de tejidos pero la mayoría de los significativos estudios sobre su estructura, composición química y papel funcional han sido llevados a cabo en glomérulos de riñón y capilares sanguíneos. Bajo microscopía electrónica la lámina basal parece ser como una banda continua de material amorfo de baja densidad paralelo a la membrana celular basal epitelial pero separada de ésta por un espacio menor de 200-400 Å de ancho. En límites dermoepidérmicos y alrededor de capilares, la lámina basal varía de 300-500 Å en grosor; la lámina basal glomerular tiene un grosor -- que varía según la especie y edad; en vista de la considerable importancia del engrosamiento de la lámina basal glomerular en riñón enfermo, algunos investigadores han probado estimar el significado del grosor de la lámina basal glomerular humana normal. En altas magnificaciones y con el uso de tintes de metales pesados, la lámina basal parece como un trabajo de fieltro de fibrillas irregularmente dispuestas de 30-50 Å en diámetro envueltas en una matriz homogénea, en algunas regiones las fibrillas -- tienden a ser orientadas en uno o varios planos. Los límites internos y externos de la lámina basal son bien definidos; en la superficie exterior el trabajo fibrilar parece burdo con menor número de fibrillas y engrosado. La existencia de esta agregación fibrilar en estado viviente es dudoso; los procedimientos preparativos usados para microscopía electrónica -- pueden alterar hasta la más delicada estructura parecida a gel; las fibrillas no son un componente permanente de las láminas basales pero quizás una representación fijada de un gel tixotrópico el cual en estado viviente es un proceso de interacción dinámica.

Las láminas de base parecen estar unidas a las membranas plasmáticas epiteliales en un lado, y al estroma adyacente en el otro lado, por los elementos fibrilares del tejido conectivo el cual puede formar parte de la membrana basal. En el epitelio escamoso estratificado, las láminas basales están unidas al fundamental estroma por un trabajo de fibrillas de --

200-750 Å de grueso y de una longitud indeterminada, la cual muestra una peculiar asociación; estas fibrillas han sido llamadas fibrillas anclando y difieren en la luz microscópica de las fibras del retículo y de la naturaleza de las fibras colágenas maduras; se caracterizan por la ausencia de periodicidad reconocible y la polarización con respecto a la lámina basal; en la mucosa oral humana, las fibras anclando tienen numerosos filamentos finos de aproximadamente 20 Å en diámetro, los cuales parecen atravesar la lámina basal y el claro espacio adyacente para llegar hasta la membrana celular basal epitelial.

Otro componente fibrilar del tejido conectivo, el cual usualmente aparece en asociación muy cercana de las láminas basales es la microfibrilla; generalmente encontrada distribuida únicamente en la periferia de la lámina basal, se caracterizan por un diámetro de cerca de 100 Å y una periodicidad débil en secciones horizontales parecen circulares con un hueco o perfil tubular. Las microfibrillas están comúnmente distribuidas y constituidas de espacio extracelular, son particularmente prominentes como los componentes de las fibras elásticas. Aunque han sido sugeridas de naturaleza colágena, las afinidades tintoriales son diferentes de esas fibrillas colágenas.

La heterogeneidad morfológica de las láminas basales está bien reflejada en los resultados de estudios bioquímicos e inmunológicos. En una serie de investigaciones inmunohistoquímicas estudiaron la lámina basal producida por células epiteliales neoplásicas y se encontró que posee características estructurales, histoquímicas e inmunoquímicas de láminas de base epiteliales normales. Un antígeno de esta lámina basal fue encontrado en reacción cruzada en la mayoría de las membranas de base epiteliales, pero no reaccionó como los elementos del tejido conectivo; estos resultados sugirieron que la colágena no fue antigénicamente importante en las membranas de base epiteliales. Estudios químicos reforzaron los conceptos de que las láminas basales de tumor están compuestas de una mucoproteína; importantes diferencias en la composición del aminoácido y contenido de azúcar entre la lámina basal secretada por la yema parietal del saco carcinoso de ratón fueron encontradas. Fue obtenida también colágena; se considera que las membranas de base neoplásica y las láminas basales epi

teliales normales pueden no tener absoluta identidad y que la mucoproteína antigénica puede ser un componente de las láminas basales de tumores que limitan un centro tropocolágeno. La colágena y membranas epiteliales de base contienen especies de antígenos específicos que no reaccionan cruzadamente con cualquier otro; otro antígeno común de las membranas de base y colágena que reacciona cruzadamente entre especies ha sido encontrado también en membranas de base vasculares.

Estudios inmunológicos y bioquímicos indican que las láminas de base glomerulares son formadas principalmente por colágena y otra proteína parecida a colágena. Entre las primeras investigaciones de la composición antigénica de las láminas basales glomerulares revelaron la presencia de antígenos comunes de fibras de colágena; en adición, el suero anticolágena de conejo fue fijado en láminas basales glomerulares de riñón; al mismo tiempo se reportó la presencia de hidroxiprolina en el glomérulo humano aislado. Debido a la ausencia de fibras de colágena en la observación microscópica electrónica llevó a la conclusión que las láminas basales glomerulares contienen una proteína en estado no fibroso la cual posee antigenicidad colágena. Recientes evidencias bioquímicas revelan que la lámina basal del glomérulo renal está formada principalmente por una sustancia altamente polimerizada conteniendo dos componentes mayores: una glucoproteína y una proteína parecida a colágena.

Los ácidos mucopolisacáridos están generalmente ausentes en las láminas basales glomerulares aisladas como las manifestadas por la falta de ácido hexurónico, sin embargo, en la cápsula cristalina, la cual tiene estructura análoga a las láminas basales, cerca del 15% del total de la fracción carbohidrata, está representada por ácidos mucopolisacáridos. La pequeña fracción de carbohidratos de las láminas basales incluye hexosa y hexosaminas, ácido siálico. La lámina basal del glomérulo renal humano contiene dos tipos de carbohidratos: uno se compone de glucosa y galactosa unidos por colágena, y el otro consiste de hexosa, hexosamina, fucosa y ácido siálico con forma de glucoproteína.

B. ORIGEN.

La lámina basal es desarrollada muy tempranamente en la vida embrionaria; en el embrión de pollo, porciones fragmentadas de láminas basales son vistas en el tiempo de formación cuando el blastodermo está formado únicamente por dos capas, el epiblasto e hipoblasto. Una capa irregular de material amorfo es vista primero en contacto con la membrana basal del epi---blasto y se ha observado que en 12 horas de incubación las láminas basa---les forman previamente una capa continua a lo largo de la superficie ba---sal epiblastica (figura No. 7) excepto a nivel de vena primitiva donde la proliferación activa toma lugar. En este tiempo, la lámina basal está representada por una hoja delgada de aproximadamente 350 Å de grueso separa---da de la membrana celular adyacente por una clara banda de 400 Å; la lámí---na está compuesta de numerosos filamentos finos entremezclados, los cua---les ocasionalmente pueden ser vistos en conexión con la membrana celular ectodérmica (figura No. 7). Con el uso del rojo de rutenio, la lámina ba---sal adquiere una salpicada apariencia y puede ser fácilmente distinguida de la membrana celular adyacente la cual parece recubierta por una capa ---positiva al rojo de rutenio de 150 Å de grueso. La lámina basal del endo---dermo desarrolla más tarde; posteriormente los derivados ectodérmicos y ---endodérmicos de origen epitelial, son completamente cubiertos por una lámí---na basal.

El origen de las láminas basales glomerulares ha sido un tema de contro---versia. La presencia de material parecido a las láminas de base en el retículo endoplasmático de células epiteliales glomerulares llevó a conside---rar que, la lámina basal es sintetizada y acumulada en células epitelia---les. Se encontró que usando anticuerpo de ferritina conjugada, el material cisternal y la lámina basal poseen antígenos comunes; en adición, ha sido demostrado que la lámina basal y el material cisternal son similarmente ---teñidos por el PASM. La lámina glomerular basal marcada por administra---ción crónica de nitrato de plata y produciendo un hinchamiento general de la lámina por medio de nefrosis aminonucleósida experimental, está libre ---de gránulos de plata cuando es sintetizada nuevamente y se localiza siem---pre en el lado epitelial de la lámina basal. Estos estudios referentes a la formación de la lámina basal en el organismo adulto, han proporcionado

más argumentos en favor del origen epitelial de la lámina basal.

Durante los estados de desarrollo, la lámina basal del glomérulo renal parece estar formada por ambas células endoteliales y epiteliales. En el glomérulo embrionario, la lámina basal aparece únicamente en áreas en donde ambos tipos de células son añadidas, en algunas regiones, una doble línea densa también sugiere el origen dual de la naturaleza de la lámina basal. El material filamentososo con similar afinidad tintorial a la lámina basal ha sido descrito en células glomerulares epiteliales, en donde también se ha observado dobles capas en el riñón de feto humano. La lámina basal glomerular madura puede deslizarse dentro de dos capas en ciertos estados patológicos experimentales, como si en estado normal estuviera constituida por la fusión de dos componentes. En otras condiciones patológicas hay evidencia que ambas células epiteliales y endoteliales participan en el proceso de reparación de láminas basales. Algunos investigadores marcaron láminas basales de feto y observaron la formación inicial de una capa de láminas basales por células epiteliales, las cuales se fusionan más tarde con una lámina basal delgada de origen endotelial; cerca del 80% de la lámina resultante está constituida de material de origen epitelial. Parece evidente que en el estado adulto la lámina basal glomerular es una estructura estable relativamente la cual engrosa bajo condiciones normales y anormales en la pérdida de células epiteliales, mientras que durante estados de desarrollo ambas células epiteliales y endoteliales participan activamente en el establecimiento de la lámina basal.

Las láminas basales en uniones dermoepidermales han sido consideradas como capas condensadas de sustancias de fondo intercelular; hay evidencias, sin embargo, que en estas regiones células epiteliales también participan activamente en la formación de membranas de base. En la incorporación de prolina tritiada en láminas basales de epidermis de anfibio muestra que la fracción de contenido proteico de la laminilla colagínosa es secretada por células epidérmicas y por fibroblastos; se ha sugerido que la tropocolágena es sintetizada en el mesénquima y trasladada a la superficie epitelial donde es polimerizada, tal vez por interacción con el mucopolisacrido de la capa celular de las células epiteliales. En efecto, en el culti

vo de células epidérmicas de embrión de pollo no se forman materiales de lámina basal. Gran evidencia de la participación de las células epiteliales en la formación de láminas basales ha sido obtenida observándose que diferentes tipos de tumores epiteliales sintetizan las láminas basales en cultivos de tejido y en ausencia de los elementos del tejido conectivo. Con respecto a las láminas basales vasculares se ha considerado que están formadas por células endoteliales.

C. PAPEL FUNCIONAL.

La localización topográfica de las láminas basales y sus finas características estructurales indican que pueden servir:

- 1.- Como una barrera entre el epitelio y el estroma manteniendo en alguna condición la diferenciación de las células epiteliales.
- 2.- Como microesqueleto proporcionando unión y soporte a las células, y
- 3.- Como filtro para las grandes moléculas.

Si las láminas basales están involucradas en el mantenimiento de la diferenciación de células epiteliales como lo indica su muy temprana formación en el desarrollo embrionario, pueden por lo tanto, proporcionar básicamente un sustrato estructural inerte. Se ha encontrado que las células epidérmicas de pollo pueden crecer en cultivo sobre filtros de mil poros - después de la separación de la lámina basal, fuera de la alteración de su orientación característica o actividad mitótica. El mantenimiento de estas actividades epiteliales pueden ser atribuibles a la acción soportativa del filtro. Una función mecánica de la lámina de base como una armazón para soportar células epiteliales y endoteliales y para anclar estas células al estroma subadyacente es sugerido por la relación estructural de las láminas a las células adyacentes y elementos del tejido conectivo. Esta acción soportativa parece ser reforzada por fibras anclando en el epitelio escamoso estratificado sometido a considerable fricción. La integridad estructural y flexibilidad de las láminas basales epiteliales están demostradas por su doblamiento durante la atrofia epitelial en el te

jado testicular de ratas hipofisectomizadas y durante la fase transicional del crecimiento del pelo en el ciclo folicular en ratón.

La función de la lámina basal como un factor importante en la permeabilidad capilar ha sido clarificada por el estudio de velocidad de filtración de partículas de densidad electrónica de varios tamaños. El grado de permeabilidad varía de acuerdo con el tipo de capilaridad; moléculas de ferritina (aproximadamente de 100 Å) son en su mayoría retenidas por láminas glomerulares basales, pero no por láminas basales de capilares musculares. La lámina basal glomerular es libremente permeable a moléculas de menos de 50 Å y retiene efectivamente partículas más grandes de 100 Å, con un rango crítico entre 50-90 Å. Elld está considerada sobre estas bases como la principal barrera de filtración de moléculas de medidas medianas en los glomérulos del riñón. La lámina basal de capilares continuos es más permeable; grandes partículas tales como quilomicrones no son completamente retenidos.

Se ha atribuido la acción de la filtración de las láminas basales a numerosas cortaduras al azar entre moléculas tropocolágenas, cubiertas por una capa delgada de mucopolisacáridos, sin embargo, se considera que si -- las láminas basales estuvieran compuestas de un trabajo de red estable de filamentos de proteínas, grandes partículas tales como agregados de globina no podrían pasar, o su paso podría producir visibles deformaciones de la lámina basal, una lámina basal puede actuar más como barrera de difusión que como un filtro; pequeñas partículas tales como electrolitos, glucosa y urea pueden pasar a través de la rejilla molecular; moléculas ligeramente más grandes tales como ferritina puede ser muy grande para pasar fácilmente, mientras moléculas aún más grandes como globina pueden pasar por licuefacción de la lámina basal producida por la presión local aplicada por la molécula, proporcionada ya sea por extrusión activa de la célula endotelial o por transmisión de presión vascular. El mecanismo mencionado del paso de grandes moléculas requiere que la lámina basal proceda como un gel tirotrópico.

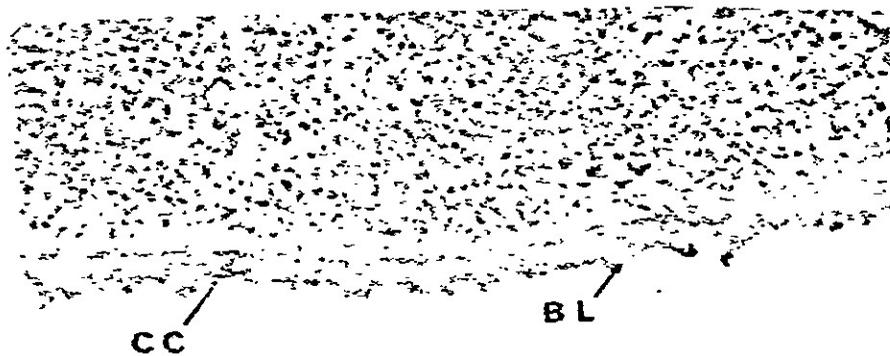


Fig. 7. Embrión de pollo; rasgo de estado primitivo. En la superficie basal de una célula ectodérmica aparece una lámina basal continua separada de la membrana celular adyacente por una banda clara de irregular anchura. El rojo de rutenio tiñe ambas, la lámina basal (BL) y la delgada capa celular (CC) cuidadosamente unida a la membrana celular. Contraste: nido de citrato de plomo. X 28,000.

El desarrollo normal de algunos epitelios parece requerir de la presencia de materiales extracelulares, incluyendo láminas basales. La morfogénesis de glándulas salivales embrionarias depende de factores sensitivos de colagenasa; una similar dependencia es observada durante el desarrollo del epitelio pulmonar y brote uretérico, sin embargo, la colagenasa no afecta la formación del epitelio pancreático. El efecto desarrollador de la colagenasa sobre el epitelio puede resultar de una acción directa sobre las láminas basales y otros materiales extracelulares. Microscopías electrónicas de cultivos de órganos tratados con colágena han revelado una disolución de la lámina basal; el mecanismo por el cual el material sensitivo de colagenasa, incluyendo láminas basales, estabilidad de la morfogénesis epitelial no está claro en el presente.

LAMINAS EXTERNAS.

Microscopías electrónicas han revelado la presencia de una uniforme capa delgada de la superficie envolviendo completamente la mayoría de las células mesenquimatosas sésiles tales como fibras musculares estriadas y lisas, células nerviosas de Schwann, y periocitos. Las similitudes en la fina estructura y afinidad tintorial entre su capa superficial y láminas basales ha llevado a la incorrecta designación de las láminas de la superficie mesenquimatosa como "membrana de base", ya que estas células no son polarizadas con respecto a una superficie libre, el término membrana externa o capa de límite, parece ser más apropiados.

Las láminas externas sirven probablemente más a una función primeramente mecánica proporcionando un estructural trabajo organizado de células mesenquimatosas. La lámina externa de las células de Schwann puede jugar un importante papel como un sustrato decisivo en el desarrollo y la regeneración de nervios periféricos.

BENNETT (1963) sugirió que las láminas externas de células musculares son involucradas en la permeabilidad selectiva de iones, sin embargo, la asociación de los materiales de la superficie con la unión de iones es posiblemente más una función de componentes mucopolisacáridos de la capa celular que una propiedad de las láminas externas.

CONCLUSIONES

Los estudios con microscopio electrónico han demostrado la presencia de dos tipos de capas de la superficie asociadas a la periferia de las células animales 1) capas celulares localizadas por fuera de la superficie de la mayoría de los tipos de células y, 2) láminas basales y externas en el borde de la superficie epitelial y mesenquimatosa de las células respectivamente. Ambos tipos de capas superficiales se han incluido bajo un término especial "GLUCOCALIZ". Ellas difieren en su fina estructura, afinidad tintorial, en la relación topográfica de la membrana plasmática, así como probablemente en la composición química.

El glucocáliz está constituido por: 1) porciones glucídicas de las moléculas de los cerebrosidos y gangliosidos de la membrana plasmática que hacen prominencia en la superficie de la membrana; 2) glucoproteínas y, 3) mucopolisacáridos ácidos. Evidencias indirectas sugieren que los cerebrosidos y gangliosidos de la lámina externa de la membrana plasmática tienen sus moléculas dispuestas en tal forma que la parte glucídica hidrófila, se sitúa en el glucocáliz. Los gangliosidos por ejemplo poseen en sus moléculas una parte glucídica muy compleja que contiene un resto de D-glucosa y dos de D-galactosa, uno de n-acetil-D-galactosamina y una de ácido N-acetil neuramínico. Cuando se les trata con la enzima neuraminidasa, que remueve los glúcidos, ciertas células experimentan grandes alteraciones en las propiedades de su superficie. Sobreviene una reducción en la carga eléctrica negativa que hay en la superficie celular y una remoción de componentes responsables de la captación de proteínas y de otras sustancias, las que normalmente se adhieren a la superficie celular, antes de ser englobadas en el citoplasma por pinocitosis.

Las glucoproteínas del glucocáliz están formadas por proteínas sintetizadas en el retículo endoplasmático granular que, al nivel de complejo de

Golgi, se combinan con polisacáridos, ahí producidos. Posteriormente las macromoléculas de las glucoproteínas son transferidas hacia fuera de la célula, yendo a formar parte del glucocálix. Uno de los mucopolisacáridos ácidos cuya presencia se ha detectado en el glucocálix de ciertas células, es el ácido hialurónico.

Las láminas basales y externas son láminas compuestas de proteínas como colágena más una pequeña fracción de carbohidrato, más bien ellas forman estructuras independientes de las membranas celulares separadas por una banda en el espacio extracelular, lo cual sirve principalmente y supuestamente como armadura y como filtro.

Las capas celulares han sido demostradas en una gran variedad de células animales con contenido carbohidrato, componente de la membrana celular. En algunas células las capas superficiales han sido detectadas como motitas periféricas de azúcar de glucoproteína en la membrana plasmática; otras células forman una delgada capa de mucopolisacáridos o glucoproteínas, material insertado a la hoja externa de lipoproteínas de la membrana plasmática, su resistencia a los tratamientos enzimáticos, físicos y su relación específica de tipos de células en vista de que éstas no son películas meramente de grupos de condensación, sustancia o moco; pero sí integran componentes de la membrana celular responsables para algunas propiedades fundamentales de la superficie celular.

Numerosas pruebas demuestran que la superficie celular está dotada de cierto grado de especificidad, lo que permite a las células reconocerse mutuamente y establecer ciertos tipos de relación y del fenómeno conocido como inhibición por contacto, en donde el contacto de las células del mismo tipo inhibe la multiplicación celular. Es interesante anotar que las células cancerosas continúan dividiéndose y se aglomeran unas sobre otras, de modo desordenado, Esto indica que además de otras alteraciones en las células cancerosas se produce una alteración del glucocálix que ciertamente es uno de los factores responsables de la aparición de este proceso maligno.

Las células semejantes al reconocerse mediante la superficie celular lo hacen adheriéndose específicamente unas a otras y rechazando a las células diferentes; el contacto de las células semejantes que están proliferando, puede inhibir las divisiones mitóticas, regulando así el grado de proliferación.

Además, el glucocáliz desempeña otras actividades en el funcionamiento de las células, es antigénico interviniendo en el estímulo que lleva a la formación de anticuerpos que promueven el rechazo de injertos; es obvio que, para producirse el rechazo de las células recibidas de otro organismo, el receptor precisa reconocer a las células extrañas y se reconocen mediante el glucocáliz, por ser la cubierta externa de la célula.

Las sustancias responsables de los grupos sanguíneos A, B, AB se localizan en el glucocáliz, inclusive en los hematíes. En cierto tipo de células el glucocáliz desempeña además de sus funciones generales, ciertas funciones específicas del tipo celular considerando. En ejemplo está en el glucocáliz de las células absortivas del intestino, reviste las microvellosidades y contiene enzimas que promueven la etapa de la digestión de los glúcidos y proteínas. En estas células el glucocáliz también facilita la absorción de los alimentos.

Los estudios sobre la biología molecular del glucocáliz han comenzado apenas, y solamente se han examinado algunos tipos celulares. Sin embargo, la existencia del glucocáliz, en la mayoría de las células, se ha comprobado plenamente mediante el microscopio electrónico. El glucocáliz aparece como una cubierta irregular, cuyo espesor varía según el tipo de célula.

B I B L I O G R A F I A

BENNETT, H. Stanley

Morphology of extracellular polysacharides,
J. Histochem. Cytochem., U.S.A., 1963, 11, p.14

ITO, Susumo

Structure and function of the glycocalyx,
Federation Proceedings, U.S.A., 1969, 28, p. 12

ITO, Susumo

Form and function of the glycocalyx on free cell surfaces,
Philosophical Transactions Royal Society Londoner, Great Britain,
1974, 268, p. 55

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J.; LOPEZ SAEZ, J.F.

Biologia Celular,
Prensa Médica Mexicana, México, D.F., 1976, p.87

MARTINEZ PALOMO, A.

The surface coats of animal cells.
Int. Rev. Cytol., U.S.A., 1970, 29, p. 29

NOVIKOFF, B. Alex and HOLTZMAN, Eric

Cells and organelles,
Editorial Interamericana, México, D.F., 1970, p. 194

RAMBOURG, A.

Merphological and histochemical aspects of glycoproteins at
the surface of animal cells,
Int. Rev. Cytol., U.S.A., 31, p. 57

REVEL, Jean Paul

Electron microscopy of glycogen,
J. Histochem. Cytochem., U.S.A., 1964, 12 p. 104

GUADALUPE CABRERA

Fuente Chica No. 145

Tel. 5-60-63

San Luis Potosí, S. L. P.