

ABRIL 1991

MORFOLIA**BIOLOGIA CELULAR DE LAS MEMBRANAS BASALES**

Dr Edgar Garavito*

En la última década, gracias al estudio de tumores de murinos, capaces de producir grandes cantidades de membrana basal, ha aumentado, en forma considerable, nuestro conocimiento sobre la estructura y función de estas membranas. Estas estructuras especializadas de la matriz extracelular son reconocidas, hoy en día, como involucradas en una serie de procesos biológicos, que tienen que ver con la diferenciación, la proliferación y la migración celulares, que ocurren durante la embriogénesis, la cicatrización de heridas y la regeneración y reparación tisulares. Simultáneamente con estas funciones, las membranas basales actúan como filtros selectivos para el paso de macromoléculas y células que abandonan y/o que llegan a un determinado tejido, y como elementos que estructuran y organizan a las células y a la matriz extracelular, dentro de los diferentes órganos y tejidos. Así mismo, existen varias enfermedades en las que se evidencian alteraciones en la estructura y composición de la membranas basales, que podrían explicar parcialmente las alteraciones funcionales y los hallazgos patológicos observados en estas.

La presente revisión no pretende abarcar todos los aspectos morfológicos, fisiológicos y patológicos de las membranas

basales. Solo se centrará en la descripción de los componentes estructurales de estas, haciendo énfasis en aquellas moléculas con importancia clínica y fisiopatológica. Igualmente, se mencionarán los posibles modelos de ensamblaje molecular de las membranas basales y por último se resumirá la participación de las membranas basales en dos patologías de ocurrencia muy común, la Diabetes Mellitus y las Neoplasias.

COMPONENTES DE LAS MEMBRANAS BASALES

Las membranas basales son formas altamente especializadas de la matriz extracelular, distribuidas ampliamente por todo el organismo y localizadas principalmente entre los tejidos Epitelial y Conjuntivo. Su componente esencial son las glicoproteínas, de las cuales podemos encontrar tres clases. Unas de tipo colágeno, otras de tipo proteoglicano y las últimas de tipo estructural (glicoproteína no colágeno, no proteoglicano), algunas de las cuales se caracterizan por ser tejido-específicas.

Glicoproteínas de tipo colágeno

Colágeno tipo IV: Representa del 30 al 80% de la masa total de las membranas basales. Junto con la Laminina, el colágeno IV constituye el principal componente

determinante de la estructura de las membranas basales. Su molécula es un heterotrímero compuesto por dos cadenas alfa 1(IV) y una cadena alfa 2(IV), genéticamente diferentes (1,2). Las cadenas juntas forman una triple hélice, de 400 nm de longitud, que forma en su extremo carboxilo un gran dominio globular llamado NC1 (No Colágeno 1) y en su extremo amino un dominio 7S (de acuerdo a su coeficiente de sedimentación) (Figura 1). Un potencial de 26 dominios no triple helicoidales, flexibles ocurren a lo largo de la molécula, los cuales, interrumpen la secuencia Gly-X-Y, estabilizadora de la conformación triple helicoidal (2). Esta composición particular permite que la molécula de colágeno IV, tenga la flexibilidad necesaria para adaptarse durante el proceso de ensamblaje de la membrana basal.

En el espacio extracelular estas moléculas forman un complejo ensamblaje reticular, gracias a interacciones moleculares término-terminales entre sus dominios NC1 y latero-laterales entre sus dominios 7S (1,2) (Figura 1 y 2). La información necesaria para el ensamblaje de esta red tridimensional de colágeno está presente en la misma estructura de la molécula, lo cual, permite plantear un mecanismo de autoensamblaje dependiente, inicialmente, de la



FIGURA 1
Molécula de Colágeno Tipo IV

* Instructor asistente Unidad de Histología y de Embriología.

MORFOLIA

concentración y, posteriormente, de la formación de puentes disulfuro (3).

Colágeno tipo VII: Esta molécula contiene un dominio triple helicoidal largo, de 467 nm, con pequeños dominios globulares en cada uno de sus extremos, NC1 en el extremo carboxilo y NC2 en el extremo amino (2,4,5) (Figura 3). Las microfotografías de la molécula, obtenidas por la técnica de sombreado rotatorio, muestran estructuras supramoleculares dimericas y antiparalelas de 800 nm. de longitud, que presentan una zona de superposición de aproximadamente 60 nm (5). Estos dímeros pueden agregarse por asociación lateral para formar estructuras fibrosas densamente empaçadas (Figura 3). Estas estructuras fibrosas representan el componente principal de las fibrillas de anclaje vistas en la lámina fibrorreticular (sublámina densa) y su papel es aumentar la adhesión de la membrana basal a la matriz extracelular del tejido conjuntivo subyacente (2,4). Anticuer-

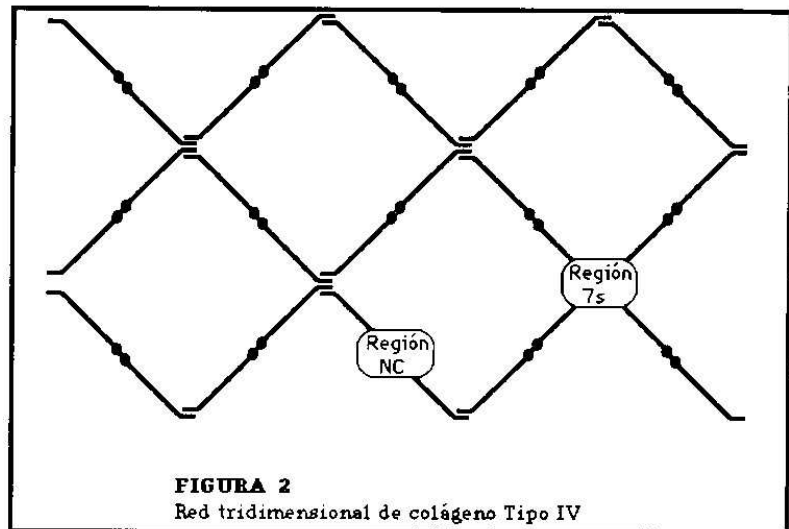


FIGURA 2

Red tridimensional de colágeno Tipo IV

bajo de la lámina densa (4,6).

Actualmente, existe consenso de que el colágeno tipo V hace parte de una subclase de los llamados colágenos fibrilares (tipos I a III) (2), los cuales, se hallan distribuidos por toda la matriz extracelular de los diferentes tejidos. Al igual que para estos colágenos fibrilares, no ha sido

son los proteoglicanos de heparan sulfato. Estos proteoglicanos presentan dos formas, una de bajo peso molecular (y de alta densidad), y otra de alto peso molecular (y de baja densidad). Un proteoglicano de bajo peso molecular está constituido por un núcleo central protéico, del cual, parten 4 cadenas del glucosaminoglucano heparan sulfato (7). Por su parte, el proteoglicano de alto peso molecular está constituido por una proteína central, con seis dominios globulares, del último de los cuales, parten tres cadenas de heparan sulfato (7) (Figura 4). Estos proteoglicanos pueden encontrarse formando pequeños macroagregados (oligómeros) o, más comúnmente, relacionados con el andamiaje supramolecular de laminina y colágeno IV que da soporte a las membranas basales. Gracias a la gran cantidad de grupos sulfatos y carboxilos, estos proteoglicanos responden por el papel de filtro molecular selectivo de las membranas basales (1,8). Esta función es de importancia capital en la membrana basal glomerular, donde la presencia de estos proteoglicanos, permite el paso hacia el espacio subpo-

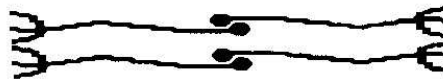


FIGURA 3

Colágeno tipo VII formando las fibrillas de anclaje

pos monoclonales dirigidos contra el colágeno tipo VII, reaccionan con la lámina fibrorreticular del epitelio amniótico. Las fibrillas de anclaje también han sido observadas en esta localización (2,4).

Estudios morfométricos de estas fibrillas han revelado una anomalía de estas estructuras en las diferentes formas de epidermolisis bullosa distrófica, las cuales, pueden responder por la aparición de ampollas justo de-

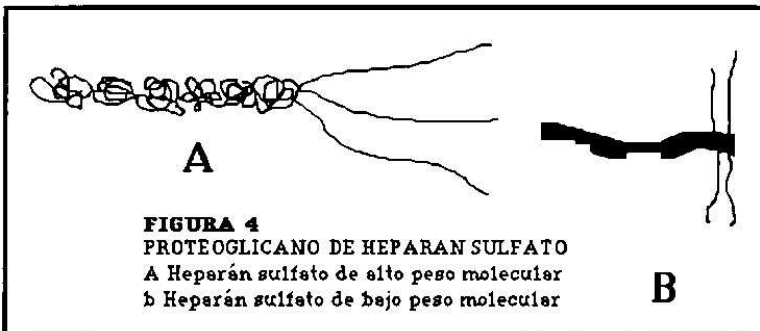
posible detectar la presencia del colágeno tipo V en las membranas basales (1). Este colágeno está constituido por dos cadenas alfa 1(V) y una cadena alfa 2(V). Algunos autores han descrito la ocurrencia de una tercera cadena alfa 3(V), haciendo parte del colágeno tipo V presente en el epitelio amniótico (2).

Proteoglicanos

Los principales representantes de estas glicoproteínas, presentes en las membranas basales,

ABRIL 1991

MORFOLIA



dócítico, de moléculas con cargas iónicas positivas y restringe el paso de moléculas con cargas negativas (como la albúmina) (1).

Glicoproteínas estructurales

Laminina: Es la principal glicoproteína estructural presente en todas las membranas basales estudiadas (1,7). Esta proteína exhibe una serie de acciones relacionadas con la adhesión, migración, crecimiento y diferenciación celular; con la formación de neuronas y la promoción de metástasis tumorales (7,8,9). Cada molécula está compuesta por tres cadenas polipeptídicas genéticamente diferentes, llamadas A, B1 y B2, respectivamente, las cuales, se entrelazan formando una estructura similar a una cruz, con tres brazos cortos y un brazo largo (1,7). Dos brazos cortos están formados individualmente por una cadena B, y el tercero por la cadena A. A su turno, el brazo largo está formado por el entrecruzamiento de las tres cadenas (1,7,10) (Figura 5). A todo lo largo de la molécula existen secuencias peptídicas (dominios) que sirven como sitios de unión para las glicoproteínas de la matriz (colágeno, nidógeno, proteoglicanos de heparan sulfato, etc.), de receptores presentes en la membrana plasmática de las células (inte-

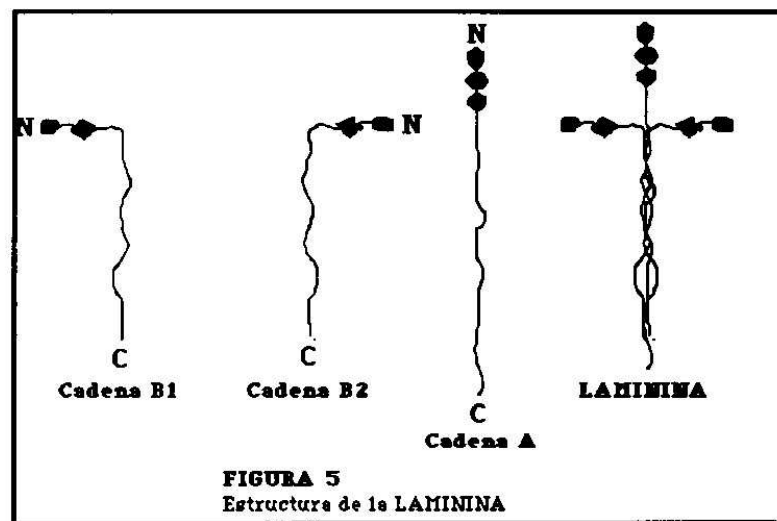
grinas) (7), así como de diferentes macromoléculas tisulares (plasminógeno, subcomponente C1q del complemento, gangliósidos, galactosil-transferasa y otras). De la interacción de esta serie de moléculas con la estructura polivalente de la laminina, resultan muchas de las funciones, mencionadas anteriormente, de esta glicoproteína.

La laminina es el único componente de las membranas basales, diferente del colágeno IV, capaz de autoensamblarse para formar grandes macroagregados (Figura 4). Este autoensamblaje es acelerado por la interacción entre heparina (y heparan sulfato) y laminina, dado que las primeras ocasionan

cambios de conformación en la estructura de la última, que facilitan su agregación. Otro elemento importante para el autoensamblaje de la laminina, son los cationes divalentes, pues se ha demostrado que los quelantes del calcio (EDTA), bloquean la formación de grandes macroagregados de esta (1).

De especial interés, resulta la interacción entre la laminina y el nidógeno, una glicoproteína exclusiva de las membranas basales, cuya forma se asimila a la de una pesa, con dos dominios globulares separados por un dominio central en forma de cuerda (11) (figura 6). Este nidógeno tiene alta afinidad tanto por la estructura de la laminina como por la estructura del colágeno IV, lo cual hace factible, que esta glicoproteína juegue un papel como molécula de adhesión dentro de la membrana basal (1,11).

Merosina: Glicoproteína específica de las membranas basales del trofoblasto humano y del músculo estriado y las células de Schwann de monos (12). Esta glicoproteína, a diferencia de la laminina, aparece tardíamente en el desarrollo embrionario



MORFOLOGIA

(12). Desde el punto de vista estructural presenta dominios en su extremo carboxilo muy similares a dominios del extremo carboxilo de la cadena A de la laminina. Estos dominios de la laminina contienen los sitios de adhesión a las células y axones, por lo cual, se ha planteado una posible interacción entre la merosina y las células. Teniendo en cuenta su localización específica y su aparición onto-

brana plasmática basal de las células con la respectiva membrana basal subyacente (1,8).

ENSAMBLAJE DE LAS MEMBRANAS BASALES

Hoy en día, se empiezan a entender las reglas de ensamblaje y la estructura supramolecular de muchos de los componentes de las membranas basales. Lo anterior, sin duda alguna, está cam-

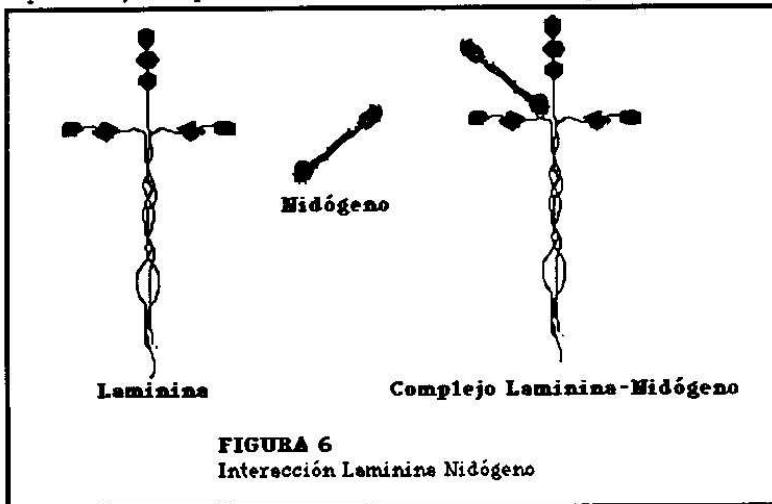
son depositados en diferentes estratos, que las láminas rara y densa están hechas de diferentes componentes y que estas están conectadas por interacciones de superficie (1).

El segundo modelo plantea que los diferentes componentes de las membranas basales son preformados intracelularmente como grandes complejos multimoleculares (matrisomas), los cuales, una vez secretados sirven como módulos o bloques requeridos para el ensamblaje de las membranas (1). Este modelo no explica la formación de la red poligonal de colágeno tipo IV, vista con la técnica de sombreado rotatorio.

El tercer modelo se apoya en la habilidad del colágeno tipo IV, la laminina y el heparan sulfato para autoensamblarse formando grandes complejos, los cuales, pueden estar relacionados entre sí, por puentes de entactina y nidógeno o por interacción directa (1,3) (Figura 6). Este modelo propone al autoensamblaje como el mecanismo dominante, responsable de la estructura de las membranas basales (3). Así, la arquitectura de estas se va adquiriendo en la medida en que los protómeros son secretados en concentraciones correctas, tanto relativas como absolutas, y en la medida en que exista un medio solvente extracelular correcto (3). Esta hipótesis explica con facilidad las variaciones en la estructura y composición de las membranas basales vistas en los diferentes tejidos.

MEMBRANAS BASALES Y CANCER

La interacción entre células tumorales metastásicas y la matriz extracelular ha sido una de las áreas de mayor desarrollo en la última década. La invasión



génica tardía, dicha glicoproteína podría estar implicada en el mantenimiento de la función y diferenciación de las células. Además, es posible utilizar a la merosina como marcador específico de las células trofoblásticas invasoras (derivadas del coriocarcinoma), dentro del estroma uterino (13).

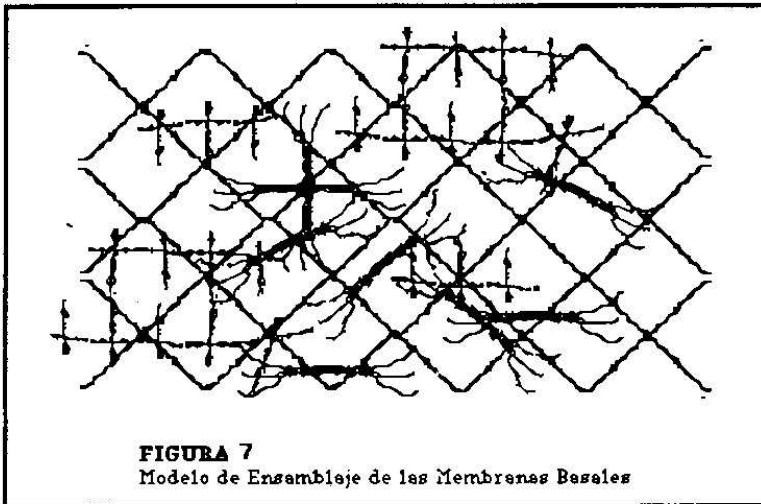
Entactina: Glicoproteína presente en las membranas basales y frecuentemente aislada en conjunto con la laminina (1,8), lo cual, sugiere una posible interacción entre estas dos moléculas. También ha sido encontrada en estrecha cercanía con la superficie basal de las células epiteliales, y ha sido implicada como molécula de adhesión, que puede estar mediando la interacción de la mem-

brando nuestro conocimiento sobre éstas, y en un futuro nos permitirá dilucidar su estructura y relacionar ésta más estrechamente con sus funciones.

Actualmente se plantean tres modelos de ensamblaje como posibles responsables de la estructura de las membranas basales.

El primer modelo de ensamblaje fue estimulado por la estructura típica de las membranas basales vista al microscopio electrónico, donde se aprecia a las membranas basales compuestas por dos láminas; la lámina rara y la lámina densa, apoyadas sobre una sublámina densa o lámina fibroreticular. Este modelo plantea que los diferentes componentes de las membranas basales

ABRIL 1991

MORFOLIA

de la matriz extracelular por células tumorales es facilitada por la presencia de ciertos receptores y de enzimas que degradan la matriz.

Las entidades proliferativas benignas se caracterizan por desorganización y proliferación tisular, mientras que en los desórdenes proliferativos malignos se evidencia una ausencia, o alteración, de la membrana basal que rodea a las células tumorales que invaden el estroma (8,9). Las membranas basales también están ausentes o, por lo menos alteradas, en la periferia de las células tumorales que invaden los linfonodos, y en las metástasis, la pérdida o la organización defectuosa de las membranas basales puede ser debida a disminución en la síntesis de sus componentes, a ensamblaje anormal de estos, o a un incremento en la degradación de estos por proteinasas tumorales (8,9). El proceso de invasión tumoral de los tejidos se cree que al menos ocurre en tres pasos (8), en primer lugar, ocurre la adhesión, la cual, puede estar mediada por la interacción de algunos dominios de la laminina con receptores presentes en la

membrana plasmática de las células tumorales (de ahí que las células tumorales que presentan mayor número de receptores de membrana para la laminina tienen un comportamiento más agresivo); luego de la adhesión, las células tumorales secretan proteinasas, o inducen a las células residentes a producir proteinasas (colagenasa tipo IV, heparinasa, proteinasas de serina, cisteína y otras proteinasas ácidas), que degradan las diferentes glicoproteínas de la matriz; por último, las células tumorales se introducen y colonizan los sitios donde la matriz ha sido alterada.

MEMBRANAS BASALES Y DIABETES MELLITUS

Uno de los hallazgos histopatológicos característico de la diabetes, es el engrosamiento difuso de las membranas basales vasculares. Estas membranas basales alteradas, responden por la fisiopatología de la nefropatía, retinopatía y arteriosclerosis prematura vista en esta entidad. Los estudios bioquímicos indican que las membranas basales de los

pacientes diabéticos, se caracterizan por presentar mayor cantidad de laminina y colágeno tipo IV y menores cantidades de proteoglicanos de heparan sulfato, comparadas con las membranas basales de sujetos normales (8,14).

In vitro, se han descrito cambios en la interacción molecular de los diferentes componentes de las membranas basales cuando estos son colocados en un medio hiperglicémico. Se ha planteado que un mecanismo de glicosilación no enzimática (unión de la glucosa a proteínas sin la participación de enzimas) responde por la sobreglicosilación de las glicoproteínas (laminina, colágeno IV, heparina y heparan sulfato) que altera sus propiedades de unión (14). Varios estudios han demostrado cambios en la asociación molecular de la laminina con la heparina y de la laminina con el heparan sulfato, debidos a la glicosilación no enzimática de la laminina in vitro.

Una hipótesis razonable que podría correlacionar los hallazgos histopatológicos con la fisiopatología de la diabetes es la siguiente: Los niveles plasmáticos elevados de glucosa podrían provocar la sobreglicosilación tanto de la laminina como del colágeno tipo IV, estas dos glicoproteínas alterarían su capacidad para unirse a la heparina y al heparan sulfato, lo cual, podría reflejar las bajas cantidades de estos proteoglicanos hallada en las membranas basales y la alteración de la propiedad de filtro selectivo de estas estructuras, dado que ésta depende en primera instancia de estas dos moléculas. Como un mecanismo de respuestas las células se ven abocadas a sintetizar nuevos componentes de membrana basal que de nuevo estarán expuestos a los altos niveles

MORFOLIA

de glucosa sanguínea, completándose así el ciclo. El resultado final sería, el engrosamiento difuso de la membrana basal y una membrana basal funcionalmente alterada.

REFERENCIA:

1. Timpl, R., Aumailley, M. Biochemistry of basement membranes. *Adv Nephrol*, 18: 59-76, 1989
2. Seyer, J., Kang, A. Collagen and elastin. In Kelly, W. *Textbook of Rheumatology* W.B. Saunders Co. Philadelphia. 1989 p.22
3. Yurchenco, P. Assembly of basement membranes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 580: 195-213, 1990
4. Eady, R. The basement membrane. Interface between the epithelium and dermis: Structural features. *Arch Dermatol* 124: 709-12, 1988
5. Burgeson, R., et al. The structure and function of type VII collagen. *Ann N.Y. Acad. Sci.* 580: 32-44, 1990
6. Fine, J. Antigenic features and structural correlates of basement membranes. *Arch Dermatol* 124: 713-17, 1988
7. Treilstad, R. Matrix glycoproteins. In Kelly, W. *Textbook of Rheumatology* W.B. Saunders Co. Philadelphia. 1989 p.44
8. Abrahamson, D. Recent studies on the structure and pathology of basement membranes. *J Pathol* 149: 257-78, 1986
9. Liotta, L. Tumor invasion and metastasis: Role of the basement membrane. *Am J Pathol* 117: 339-48, 1984
10. Treilstad, R. Matrix macromolecules: Spatial relationships in two dimensions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 580: 391-420, 1990
11. Timpl, R. et al. Structure and function of the laminin-nidogen complex. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 580: 311-24, 1990
12. Ehrig, K., et al. Merosin and laminin: Molecular relationship and role in nerve-muscle development. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 580: 276-81, 1990
13. Laurila, P., Leivo, I. Basement membrane protein merosin is a new marker for the intermediate trophoblast cells of choriocarcinoma and placenta. *Ann N.Y. Acad. Sci.* 580: 505-508, 1990
14. Tarsio, J. et al. Molecular mechanism in basement membrane complications of diabetes. *Diabetes* 37: 532-8 1988