

Artículo original

Metabolismo energético y esteroidogénico de la placenta humana

Federico Martínez,¹ Ma. T Espinosa-García,¹ Cecilia García,¹ Guadalupe Maldonado,¹ Rebeca Milán,¹ Aída Uribe,¹ Óscar Flores-Herrera¹

¹ Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM.

Resumen

Las células del sincitiotrofoblasto obtienen el ATP a través de la glucólisis anaerobia. Sin embargo, aunque las mitocondrias de la placenta sintetizan ATP, éste no participa en los procesos citoplasmáticos. Nuestros datos muestran la presencia de una ATP-difosfohidrolasa (apirasa) asociada a las mitocondrias de la placenta, que se inhibe por vanadato y FSBA. En este trabajo proponemos la hipótesis de que la apirasa y el ATP que sintetizan las mitocondrias de las células del sincitiotrofoblasto están asociados al transporte de colesterol necesario para la síntesis de progesterona, y que el uso del ATP y la actividad de la apirasa están asociados a los puntos de unión mitocondriales.

Palabras clave: *Placenta humana, metabolismo del ATP, síntesis de progesterona, transporte de colesterol, ATP-difosfohidrolasa, fosforilación de proteínas.*

Summary

The syncytiotrophoblast cells get their ATP from anaerobic glycolysis. Although human placental mitochondria synthesizes ATP, this ATP is not used at the cytoplasm functions. Our data showed the presence of an ATP-diphosphohydrolase (apyrase) tightly bound to placental mitochondria, which is inhibited by vanadate and FSBA. In this paper, we propose that apyrase and the ATP synthesized by mitochondria from syncytiotrophoblast cells are closely related to cholesterol transport, which is necessary for progesterone synthesis. Also, the apyrase activity and ATP are associated to the mitochondrial attachment points.

Key words: *Human placenta, ATP metabolism, progesterone synthesis, cholesterol transport, ATP-diphosphohydrolase, protein phosphorylation.*

Aspectos generales

La placenta humana tiene la función de mantener el embarazo. En las mitocondrias de este tejido se sintetiza la pregnenolona a partir de colesterol a través de una cadena de transporte compuesta por la adrenodoxina, la adrenodoxina reductasa y el citocromo P450 que rompe la cadena lateral del colesterol (P450_{sc}). La pregnenolona se transforma rápidamente en progesterona dentro de la mitocondria por el complejo enzimático de la 3 β -OH-esteroide-deshidrogenasa-D⁵⁻⁶isomerasa. En la actualidad se conoce de manera preliminar el mecanismo del control de la esteroidogénesis que emplean las mitocondrias de las glándulas suprarrenales. Sin embargo, aunque la placenta también es un tejido esteroidogénico, a la fecha no se conoce qué hormona(s) o sustancia(s) son las responsables de modular la transformación de colesterol en progesterona durante el embarazo.^{1,2} Incluso se han aislado proteínas comunes que participan en la transferencia de colesterol en los ovarios, los testículos y en las glándulas suprarrenales que no se han detectado en la placenta, lo que indica que este tejido tiene propiedades esteroidogénicas únicas.

Se ha demostrado que el incremento en la concentración citoplasmática de AMPc en las células del trofoblasto en cultivo (normales o cancerosas), a través del uso de análogos del AMPc como el 8-Br-AMPc, estimulan la síntesis de pregnenolona. Esto sugiere que hay un primer mensajero (hormonal o de otra especie) a través del cual se puede modular la concentración de este segundo mensajero en el trofoblasto. El AMPc aumenta los niveles de los RNA mensajeros de la adrenodoxina reductasa, la adrenodoxina y del citocromo P450 que, como se mencionó, se encargan de transformar el colesterol en pregnenolona.^{3,4}

Con esta información, proponemos que los tejidos esteroidogénicos deben ser divididos en dos grandes grupos, los que sintetizan pregnenolona como respuesta a un estímulo hormonal externo bien determinado, como en el ovario, las glándulas suprarrenales y el testículo; y un segundo grupo que incluya a la placenta y el cerebro, que sintetizan hormonas esteroides y que responden a estímulos autocrinos y paracrinos aún no identificados.

Las mitocondrias de los tejidos esteroidogénicos

En el campo de la biología reproductiva, y en particular en el embarazo, aún hay varias preguntas que no se han con-

tado y sus respuestas permitirán tener un conocimiento claro de cómo funciona la placenta humana, su relación con el feto y sus adaptaciones para llegar a término. Por ejemplo, se ha considerado que la función principal de la placenta es la síntesis de progesterona, la hormona que mantiene el embarazo. Sin embargo, cuando se analiza la cantidad de citocromos en las mitocondrias de la placenta y se compara con las glándulas suprarrenales, se observa que el citocromo P450_{scc}, tiene concentraciones inferiores a los citocromos de la cadena respiratoria (cuadro 1), mientras que en las mitocondrias de las glándulas suprarrenales, la concentración del citocromo P450_{scc} es 2 a 6 veces más alta que la citocromo oxidasa de la cadena respiratoria.

Aunque hay variaciones, es claro que las glándulas suprarrenales tienen como función principal la transformación de colesterol en pregnenolona (cuadro 1). De manera contraria, en la placenta humana, en donde la concentración de los citocromos de la cadena respiratoria es mayor que el citocromo P450_{scc}, sugiere que sus mitocondrias participan en otras funciones además de la transformación de colesterol en pregnenolona. De primera instancia, se podría sospechar que las mitocondrias de la placenta participan proporcionando ATP al citoplasma para las funciones celulares del sincitiotrofoblasto. Como se verá, proponemos que las mitocondrias de la placenta sintetizan ATP para consumirlo en sus actividades esteroidogénicas, y de esa manera aseguran que el embarazo llegue a término con éxito.

Metabolismo intermedio

A continuación se analizará el metabolismo energético de la placenta y posteriormente se evaluará el posible papel de las mitocondrias en las funciones de la placenta. Es bien conocido que el transporte de glucosa en el sincitiotrofoblasto es por difusión facilitada y que emplea el transportador GLUT1, cuya expresión no se afecta por la concentración de glucosa extracelular (3.7 mM o 70 mg/dL y la fetal de 3.2 mM o 61 mg/dL).¹² Aunque no se han detectado hormonas que disminuyan la captura y transporte de glucosa, se ha sugerido que la progesterona, el estriol y el estradiol podrían tener un efecto inhibitorio a altas concentraciones.¹³ Se ha

reportado que la placenta se mantiene en una hipoxia constante, razón por la cual presenta una metabolismo glucolítico, en donde el 70% del total de glucosa incorporada se utiliza para producir el ATP a través de la glucólisis anaerobia.¹⁴ El consumo de glucosa durante el embarazo es importante en varias especies; por ejemplo, en la oveja, a la mitad de la gestación, el 90% de la glucosa se utiliza por los tejidos utero-placentarios y disminuye al 50-70% a término. Hay datos que muestran que aun en condiciones de oxigenación adecuada, sólo el 20% de glucosa ⁻¹⁴C se degrada por la vía aerobia y el resto llega a lactato,¹⁵ sugiriendo que la obtención de ATP por la fosforilación oxidativa a nivel mitocondrial podría ser relevante; sin embargo, esto no es así (cuadro 2).

El glucógeno en la placenta sólo se sintetiza como respuesta primaria a una hiperglucemia materna. Aunque hay glucógeno durante todo el embarazo,¹⁶ la placenta no lo sintetiza eficientemente;¹⁷ sin embargo, hay reportes que demuestran la presencia de las enzimas de la gluconeogénesis.¹⁸ Recientemente Prendergast et al¹⁹ mostró evidencias de que la placenta puede sintetizar glucosa, y se ha determinado también la presencia de glucosa-6-fosfatasa por histoquímica.²⁰ Sin embargo, aún se desconoce si la producción de glucosa pudiera tener alguna relevancia fisiológica.

Se ha observado en la incubación de las células del trofoblasto, de explantes placentarios o placentas profundas, que la glucólisis anaerobia deriva en una producción elevada de ácido láctico,²¹ el cual usa el producto.²² Datos recientes han descrito que la radiactividad de la glucosa marcada con ¹⁴C se distribuye de la siguiente manera: lactato 60-69%, glucógeno 1.3-4.8%, vías de las pentosas 5%, ácidos grasos 0.7-1.4%, CO₂ 1.6-2.4%.²³ De manera similar, en rebanadas de placenta humana a mitad de la gestación, el 73% de la glucosa se degradó por la glucólisis, el 10% al ciclo de las pentosas y el resto a lípidos y síntesis de glucógeno. Aunque se ha descrito el ciclo de las pentosas en la placenta,²⁴ los reportes sugieren que ésta no contribuye de manera importante al metabolismo de la glucosa.²⁵

Es necesario considerar que las células del trofoblasto consumen gran parte del ATP en la síntesis de macromoléculas como las proteínas, que en la placenta se producen en cantidades elevadas para funciones hormonales, estructura-

Cuadro 1. Concentración de citocromos en las mitocondrias de la placenta humana y en las glándulas suprarrenales.

Citocromo	Placenta humana			Glándula suprarrenal		
	mmol/mg			mmol/mg		
<i>a</i> ₁ + <i>a</i> ₃	0.140 ⁵	0.10 ⁶	—	0.23 ⁸	0.75 ⁹	
<i>B</i>	0.089 ⁵	0.07 ⁶	—	0.17 ⁸	0.32 ⁹	
<i>c</i> + <i>c</i> ₁	0.125 ⁵	0.13 ⁶	—	0.29 ⁸	0.67 ⁹	
P450 _{scc}	0.110 ⁵	0.10 ⁶	0.123 ⁷	1.50 ⁸	1.30 ⁹	0.39 ¹⁰ 1.0 ¹¹

Los números indican las referencias de donde se obtuvieron los datos.

Cuadro 2. Consumo de glucosa y producción de lactato en la placenta humana.

Condición de oxígeno	Consumo de glucosa mmol/h/g	Producción de lactato
95 % O ₂ + 5% CO ₂	6.96 ± 2.50 (77%)	21.23 ± 7.79 (153)
95% N ₂ + 5% CO ₂	12.50 ± 3.36 (65%)	24.06 ± 5.24 (100)

Tomado de Schneider et al., 1988⁵⁰.

les y de secreción. Además, la síntesis de progesterona consume cantidades importantes de NADPH + H⁺, que es otra forma de energía. Por otro lado, se consume una gran cantidad de ATP en todos los sistemas de transporte, tanto de nutrientes que pasan de la madre al feto, como de aquellas sustancias que se necesitan eliminar provenientes del feto y del propio metabolismo placentario. Hay que considerar también la energía necesaria para otras funciones celulares como la duplicación, la diferenciación y los mecanismos de vasodilatación que emplean ATP, entre otros. Estos datos sugieren que la producción de energía en la placenta es elevada, cualquiera que ésta sea (ATP o NADPH) y que le permite realizar eficientemente sus funciones. En este sentido, Carter²⁶ propuso que del 100% de ATP que produce la placenta, el 30% se emplea en la síntesis de proteínas y esteroides, y entre el 20 y 30% se consume por la ATPasa Na⁺/K⁺, lo que hace a estos procesos los más costosos y los principales consumidores de la energía placentaria. Los datos muestran, sin lugar a dudas, que la obtención de ATP en la placenta es por la glucólisis anaerobia.

Los lípidos son otra alternativa para obtener energía; sin embargo, la placenta transporta el 50% de los ácidos grasos al feto durante el último trimestre del embarazo, lo que no los hace buenos candidatos para generar ATP. Además, las membranas placentarias poseen una lipasa lipoproteica que cataliza la degradación de los triacilglicéridos de las lipoproteínas, principalmente de la VLDL.²⁷ Los ácidos grasos y el glicerol se transportan por difusión simple y una vez dentro del trofoblasto, se unen a proteínas y se transportan al extremo basal para difundir hacia el feto. Sin embargo, se ha observado que una porción de los ácidos grasos se oxidan de manera incompleta dejando cadenas cortas que pasan a la circulación fetal. Por otro lado, la concentración de acetyl-CoA-carboxilasa es baja, por lo que se supone que no hay síntesis de ácidos grasos en la placenta, aunque hay reportes contradictorios.²⁸ Asimismo, la placenta no sintetiza glicerol, por lo que la producción de ácidos grasos se hace aún más remota. Finalmente, se ha sugerido que los ácidos grasos que se esterifican producen glicolípidos, los cuales son reservas maternales que sirven de fuente de ácidos grasos para el feto.²⁹

El papel de las mitocondrias en la producción de energía

La concentración de los adenin-nucleótidos es otra manera de analizar las vías productoras de energía en forma de ATP. La concentración total de nucleótidos al momento de la expulsión es de 0.766 a 0.816 mmol/g de peso húmedo, con ATP 0.49, ADP 0.23 y AMP 0.12 nmol/g de peso húmedo.³⁰ En las mitocondrias aisladas de la placenta humana a término, las concentraciones de los nucleótidos son 1.24 5.78 y 1.09 nmol de ATP, ADP y AMP/mg de proteína, respectivamente.³¹ Estos datos sugieren que a pesar de la anoxia producida por el trabajo de parto, la placenta sintetiza principalmente ATP, mientras que los niveles de glucógeno no cambian de manera significativa hasta los 60 minutos después del parto.³² El hecho de que las mitocondrias sinteticen ATP, no implica que éstas aporten ATP de manera importante al trofoblasto para su función celular.

Una propuesta para el uso del ATP sintetizado en las mitocondrias de la placenta

En este sentido y como se mencionó, el que la mitocondria de la placenta humana tenga una concentración mayor de los citocromos de la cadena respiratoria en comparación con el citocromo P450_{sc}, sugiere que su función no es la síntesis de pregnenolona. La pregunta que surge es: ¿cuál es el destino final del ATP que sintetiza la mitocondria placentaria? En este trabajo se plantea la hipótesis de que el ATP sintetizado por la mitocondria se usa en la esteroidogénesis que la misma mitocondria realiza. La propuesta se basa en las siguientes evidencias experimentales:

1. Las mitocondrias de la placenta humana a término sintetizan ATP pero antes de ser liberado al exterior citoplasmático se usa por proteínas de la misma mitocondria. Existen datos de la literatura que demuestran que las mitocondrias aisladas de placentas a término consumen oxígeno cuando en el medio de incubación se adiciona ADP.³³ La velocidad de este consumo de oxígeno es similar al observado en mitocondrias de otras fuentes celulares. La respiración de las mitocondrias aisladas de la placenta humana se inhibe por cianuro y se desacopla con DNP, lo cual indica que el consumo de oxígeno observado está directamente asociado a la cadena respiratoria y a la fosforilación oxidativa, como sucede con las mitocondrias de otros tejidos. Ya que durante la síntesis de pregnenolona a partir de colesterol se utiliza oxígeno, es razonable suponer que el consumo de oxígeno observado se podría adjudicar a la actividad del citocromo P450_{sc}; los datos de la literatura demuestran que el consumo de oxígeno en la síntesis de progesterona es de unos cuantos ng at de oxígeno.⁵ Nues-

tros datos, obtenidos bajo condiciones experimentales similares, muestran que el consumo de oxígeno inducido por el ADP es de 30 a 40 (19.8 ± 4 , $n = 4$) ng at de oxígeno/mg/min, mientras en la síntesis de progesterona se consumen entre 3 a 4 (1.2 ± 0.18 , $n = 4$) ng at de oxígeno/mg/min, con base en que el citocromo P450_{sc} emplea tres átomos de oxígeno por molécula de colesterol transformada en pregnenolona, la cual, al ser transformada a progesterona, no requiere oxígeno.

2. Las mitocondrias de la placenta tienen una ATP-difosfohidrolasa (apirasa) extramitocondrial que no desacopla la respiración. Hay varios reportes de que las mitocondrias de la placenta tienen enzimas unidas a sus membranas capaces de hidrolizar nucleótidos.^{16,34} En las mitocondrias aisladas de hígado de rata, la adición de ATP al medio de respiración no produce un estímulo del consumo de oxígeno, a menos que exista alguna enzima contaminante, como la miocinasa que hidroliza el ATP sintetizado a ADP, el cual estimula nuevamente la respiración, haciendo un ciclo fútil o de desperdicio energético con desacoplamiento y en donde es imposible observar la transición entre el estado 3 y 4 de la respiración.

En las mitocondrias de la placenta describimos la actividad de una ATP-difosfohidrolasa (apirasa) orientada hacia el lado citoplasmático que se inhibe por vanadato.³⁵ Esta enzima es la responsable de que el ATP estimule la respiración, al degradarlo a ADP. Sin embargo, la presencia de esta apirasa no genera un ciclo fútil, y parece estar regulada por el estado energético de la mitocondria.³⁶

Se observó que la incorporación de colesterol exógeno en las mitocondrias de la placenta humana se inhibió parcialmente por vanadato,³⁷ lo que nos permite sugerir que la apirasa juega un papel relevante en el metabolismo mitocondrial placentario. Esta propuesta también se apoya en la hipótesis general de que el transporte de colesterol entre las membranas mitocondriales de los tejidos esteroidogénicos se realiza por un complejo proteico a través de puntos de unión, que requiere GTP y que se asocia a una GTPasa.³⁸ En la placenta humana, el ATP y la apirasa podrían estar relacionados con el transporte de colesterol de manera semejante al GTP y la GTPasa de las mitocondrias de las glándulas suprarrenales.

3. La apirasa de las mitocondrias de la placenta humana está relacionada con la síntesis de progesterona. Existe evidencia de que el FSBA, un análogo del ATP, puede unirse de manera covalente a las enzimas que emplean nucleótidos de adenina. El FSBA inhibió más del 95% la actividad de la apirasa mitocondrial de la placenta humana (Flores-Herrera et al., manuscrito en preparación). Estos datos permitieron evaluar el efecto del FSBA en el consumo de oxígeno de mitocondrias aisladas de placenta a término y sobre la síntesis de progesterona.

Los resultados mostraron que en presencia del FSBA, el ATP no estimula el consumo de oxígeno, mientras que el ADP sí induce la respiración. Este dato sugiere que el FSBA está inhibiendo la actividad de la apirasa, ya que otras enzimas o proteínas que usan nucleótidos de adenina (como la H⁺-ATPasa o el acarreador de los adenin-nucleótidos) están funcionando adecuadamente al observar cambios en la transición entre el estado 3 y 4 de la respiración.

Las mitocondrias incubadas con el FSBA no sintetizaron progesterona, mientras que en presencia de ATP se observó una estimulación de su producción (figura 1), sugiriendo que el ATP es necesario para la síntesis de progesterona. Si bien es cierto que todavía desconocemos el nivel en el cual se está usando el ATP, en su conjunto los datos reportados por nuestro grupo de trabajo nos permiten suponer que el ATP y la apirasa participan en el transporte de colesterol entre las membranas mitocondriales. Reforzando nuestra hipótesis, actualmente se ha sugerido que el paso limitante en la síntesis de hormonas esteroides es a nivel del transporte de colesterol entre las membranas de la mitocondria (para más información vea la referencia 1).

4. La apirasa está asociada a la fosforilación de proteínas. En la figura 2 se puede apreciar que la incubación de las mitocondrias de la placenta humana con ATP marcado con fósforo radiactivo (³²P), mostró tres bandas de proteínas marcadas con el ³²P. La adición de vanadato disminuyó la intensidad de la marca radiactiva. Estos datos sugieren que la apirasa, que se inhibe por vanadato, está relacionada con la fosforilación de proteínas de la mitocondria de la placenta humana. Aunque desconocemos a qué proteínas corresponden estas bandas fosforiladas, es posible que estén involucradas en el transporte de colesterol o en la esteroidogénesis mitocondrial.

Los puntos de unión, el transporte de colesterol y la actividad de la apirasa

La presencia de la apirasa en la placenta humana abre otras posibilidades. Una de ellas es la propuesta de que la enzima participe en la producción de adenosina, la cual se ha propuesto como reguladora de la termogénesis placentaria.^{39,40} Sin embargo, nuestros datos sugieren que la apirasa está involucrada en el transporte de colesterol. Esta información es relevante, ya que como se mencionó, el transporte de colesterol mitocondrial es fundamental en los tejidos esteroidogénicos, principalmente en la placenta, ya que la producción de progesterona durante el embarazo es vital. Se ha propuesto que los puntos de unión son las estructuras que permiten que el transporte del colesterol se realice desde el citoplasma hasta el citocromo P450_{sc}. Aunque en las glándulas suprarrenales se ha estudiado el proceso del transporte del colesterol desde sus depósitos citoplasmáticos hasta la membrana ex-

terna mitocondrial, así como el transporte de colesterol desde la membrana externa a la interna y de ahí su paso al citocromo P450_{scc}, en la placenta aún se desconoce el mecanismo por el cual se realiza y regula el transporte de colesterol.⁴¹

En general, las mitocondrias poseen varios tipos de puntos de unión, todos asociados a complejos multiproteicos. Se pueden distinguir al menos dos tipos de puntos de unión, uno relacionado con la fosforilación oxidativa, el cual es un macrocomplejo que asocia a varias proteínas como el acarreador de los adenin-nucleótidos, la porina, la creatina cinasa, la hexocinasa, la glutatión transferasa y el receptor periférico a benzodiazepinas, entre otros.⁴² El otro punto de unión está asociado al transporte de proteínas, en donde se encuentran, entre otros, los complejos TOM y TIM, varias proteínas de choque térmico y algunas otras con actividad catalítica.⁴³ Para éstos se han reportado hasta tres diferentes puntos de unión por los cuales las proteínas pasan al interior mitocondrial,⁴⁴ y los cuales se emplean dependiendo el destino que tendrá la proteína, si es la membrana interna, la externa, el espacio intermembranal o el interior mitocondrial.

Jefcoate et al.⁴⁵ utilizó, de manera particular, el punto de unión asociado a la fosforilación oxidativa como modelo para describir el transporte de colesterol entre las membranas mitocondriales de los tejidos esteroidogénicos; posiblemente con base a la presencia de los receptores periféricos a benzodiazepinas que se han asociado al transporte de colesterol a nivel mitocondrial en otros sistemas.^{46,47} Los datos reportados en nuestro laboratorio sugieren que las mitocondrias de la placenta emplean los puntos de unión, en donde una nueva porina podría estar participando,⁴⁸ al igual que la apirasa. Sin embargo, son necesarios más estudios para comprender totalmente el mecanismo del transporte de colesterol en las mitocondrias de la placenta humana y su regulación, permitiéndonos así entender el proceso del embarazo.

Agradecimientos

El presente trabajo tiene el apoyo parcial de la DGAPA de la UNAM (IN202496 e IN200399) y del CONACYT (26096M).

Abreviaturas: FSBA = 5'-p-fluorosulfonil benzoil adenosina, DNP = dinitrofenol. TOM = complejo proteico de la membrana externa mitocondrial. TIM = complejo proteico de la membrana interna mitocondrial.

Referencias

- Martínez F, Strauss JF III. Regulation of mitochondrial cholesterol metabolism. En: Subcellular Biochemistry, Cap. 8, Vol. 28: Cholesterol, its Metabolism and Functions in Biology and Medicine. Plenum Press, N.Y., USA 1997: 205-234.
- Strauss JF III, Martínez F, Kiriakidou M. Placental steroid hormone synthesis: unique features and unanswered questions. Biol Reprod 1996, 54: 303-311.
- Ringler GE, Kao LC, Miller WL, Strauss JF III. Effects of 8-bromo-cAMP on expression of endocrine functions by cultured human trophoblast cells. Regulation of specific mRNAs. Mol Cell Endocrinol 1989, 61: 13-21.
- Strauss JF III, Hilo S, Sayegh R, Sakuragi N, Gafvels ME. The cAMP system and human trophoblast function. Placenta 1999; 20: 1-10.
- Négrel R, N, Michel O, Bouhnik J, Michel R. Oxidative phosphorylation reactions and cholesterol hydroxylation mechanisms in human term placental mitochondria. J Steroid Biochem 1979, 11: 1135-40.
- Simpson ER, Miller DA. Cholesterol side-chain cleavage, cytochrome P450, and iron-sulfur protein in human placental mitochondria. Arch Biochem Biophys 1978, 190: 800-808.
- Meigs RA, Ryan KJ. Cytochrome P-450 and steroid biosynthesis in the human placenta. Biochim Biophys Acta 1968, 165: 476-82.
- Cammer W, Estabrook RW. Spectrophotometric studies of the pigments of adrenal cortex mitochondria. Arch Biochem Biophys 1967, 122: 735-747.
- Harding BW, Nelson DH. Electron carriers of the bovine adrenal cortical respiratory chain and hydroxylating pathways. J Biol Chem 1966, 241: 2212-2219.
- Hanukoglu I, Hanukoglu Z. Stoichiometry of mitochondrial cytochromes P-450, adrenodoxin and adrenodoxin reductase in adrenal cortex and corpus luteum. Implications for membrane organization and gene regulation. Eur J Biochem 1986, 157: 27-31.
- Jefcoate CR, Simpson ER, Boyd GS, Brownie AC, Orme-Johnson WH (1973) The detection of different states of the P-450 cytochromes in adrenal mitochondria: changes induced by ACTH. Ann NY Acad Sci USA 1987; 212: 243-61.
- Ingermann RL. Control of placental glucose transfer. Placenta, 8, 557-571.
- Johnson LW, Smith CH. Glucose transport across the basal plasma membrane of human placental syncytiotrophoblast. Biochimica et Biophysica Acta 1985; 815: 44-50.
- Hanguel S, Dezmaizieres V, Challier JC. Glucose uptake, utilization, and transfer by the human placenta as functions of maternal glucose concentration. Pediatric Research 1986, 20: 269-273. Schneider AB, Challier JC, Danceis J. Transfer and metabolism of glucose and lactate in the human placenta studied by a perfusion system *in vitro*. Placenta 1981; Supp 2: 129-138.
- Ville CA. The metabolism of human placenta *in vitro*. J Biol Chem 1953; 205: 113-123.
- Barash V, Reskin A, Shafrir E, Waddell ID, Burchell A. Kinetic and immunologic evidence for the absence of glucose-6-phosphatase in early human chorionic villi and term human placenta. Biochim Biophys Acta 1991; 1073: 161-167.
- Matalon R, Michals K. Gluconeogenic enzymes in the human placenta. J Inher Metab Dis 1984; 7: 179-181.
- Prendergast CH, Parker KH, Gray R, Venkatesan S, Bannister P, Castro-Soares J, Murphy KW, Beard RW, Regan L, Robinson S, Steer P, Halliday D, Johnston DG. Glucose production by the human placenta *in vivo*. Placenta 1999; 20: 591-598.
- Matsubara S, Takizawa T, Sato I. Glucose-6-phosphatase is present in normal and pre-eclamptic placental trophoblasts: ultrastructural enzyme-histochemical evidence. Placenta 1999; 20: 81-85.
- Battaglia FC. An update of fetal and placental metabolism: carbohydrate and amino acids. Biology of the Neonate 1989; 55: 347-354.
- Piquard F, Schaefer A, Dellenbach P, Haberey P. Lactate movements in the human placenta *in situ*. Biology of the Neonate 1990; 58: 61-68.
- Desoye G, Shafrir E. Placental metabolisms and its regulation in health and diabetes. Mol Aspects Med 1994; 15: 505-682.
- Shelley HJ. Transfer of carbohydrates. In: Placental transfer, GVP Chamberlain, AW Wilkinson (eds), Tunbridge Wells, Pitman Medical 1979: 118-1412.

24. Moe AJ, Farmer DR, Nelson DM, Smith CH. Pentose phosphate pathway in cellular trophoblast from full-term human placentas. *Am J Physiol* 1991; 261 CellPhysiol 30: C1042-C1047.
25. Carter AM. Placental oxygen consumption. Part I: *in vivo* studies-a review. *Placenta* 2000; 21 Suppl A: S31-37.
26. Coleman RA. Placental metabolism and transport of lipids. *Federation Proceedings* 1986; 45: 2519-2523.
27. Coleman RA, Haynes EB. Synthesis and release of fatty acids by human trophoblast cells in culture. *J Lipid Res* 1987; 28: 1335-1341.
28. Freinkel N. Effects of the conceptus on maternal metabolism during pregnancy. In: *On the nature and treatment of diabetes*. 1st edn. BS Leibel, GA Wrenshall (eds), Amsterdam, Excerpta Medica Foundation 1965: 679-691.
29. Young MPA, Schneider H. Metabolic integrity of the isolated perfused lobule of human placenta. *Placenta* 1984; 5: 95-104.
30. Martínez F, Chávez E, Echegoyen S. Decreased exchange of adenine nucleotides in human placental mitochondria. *Int J Biochem* 1987; 19: 275-279.
31. Bloxam DL, Bobinski PM. Energy metabolism and glycolysis in the human placenta during ischaemia and in normal labour. *Placenta* 1984; 5: 381-94.
32. Martínez F, Espinosa-García MT, Flores-Herrera O, Pardo JP. Respiratory control induced by ATP in human term placental mitochondria. *Placenta* 1993; 14: 321-331.
33. Martínez F, Meaney A, Espinosa-García MT, Pardo JP, Flores-Herrera O. Characterization of the F_1F_0 -ATPase and the tightly-bound atpase activities in submitochondrial particles from human term placenta. *Placenta* 1996; 17: 345-350.
34. Flores-Herrera O, Uribe A, Pardo JP, Martínez F. A novel ATP-diphosphohydrolase from human term placental mitochondria. *Placenta* 1999; 20: 475-484.
35. Martínez F, Pardo JP, Flores-Herrera O, Espinosa-García MT. The effect of osmolarity on some functions from human term placental mitochondria. *Int J Biochem Cell Biol* 1995; 27: 795-803.
36. Navarrete J, Flores-Herrera O, Uribe A, Martínez F. Differences in cholesterol incorporation into mitochondria from hepatoma AS-30D and human term placenta. *Placenta* 1999; 20: 285-291.
37. Xu X, Xu T, Robertson DG, Lamberth JD. GTP stimulates pregnenolone generation in isolated rat adrenal mitochondria. *J Biol Chem* 1989; 264: 17674-17680.
38. Schroder HJ, Power GG. Engine and radiator: fetal and placental interactions for heat dissipation. *Exp Physiol* 1997; 82: 403-414.
39. Ball KT, Gunn TR, Power GG, Asakura H, Gluckman PD. A potential role for adenosine in the inhibition of nonshivering thermogenesis in the fetal sheep. *Pediatr Res* 1995; 37: 303-309.
40. Stocco DM. Intramitochondrial cholesterol transfer. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1486: 184-197.
41. Brdiczka D. Function of the outer mitochondrial compartment in regulation of energy metabolism. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1187: 264-9.
42. Jensen RE, Kinnally KW. The mitochondrial protein import pathway: are precursors imported through membrane channels? *J Bioenerg Biomembr* 1997; 29: 3-10.
43. Douglas MG, Smagula CS, Chen WJ. Mitochondrial import of proteins. In: *Intracellular trafficking of proteins*. Ed. Steer CJ, Hanover JA, Cambridge University Press, Cambridge 1991: 658-696.
44. Jefcoate CR, McNamara BC, Artemenko I, Yamazaki T. Regulation of cholesterol movement to mitochondrial cytochrome P450_{scc} in steroid hormone synthesis. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1992; 43: 751-767.
45. Papadopoulos V. Peripheral-type benzodiazepine/diazepam binding inhibitor receptor: biological role in steroidogenic cell function. *Endocr Rev* 1993; 14: 222-40.
46. Culty M, Li H, Boujrad N, Amri H, Vidic B, Bernassau JM, Reversat JL, Papadopoulos V. *In vitro* studies on the role of the peripheral-type benzodiazepine receptor in steroidogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999; 69: 123-30.
47. Espinosa-García MT, Struss JF III, Martínez F. A trypsin-sensitive protein is required for utilization of exogenous cholesterol for pregnenolone synthesis by placental mitochondria. *Placenta* 2000; 21: 654-660.
48. Schneider H, Malek A, Duft R, Bersinger N. Evaluation of an *in vitro* dual perfusion system for the study of placental proteins: energy metabolism. In: *Placenta as a model and a source*, O. Genbacev, A. Klopffer & R Beaconsfield (eds), Plenum Press, New York, USA 1988: 39-50.