

Microscopia electrónica de barrido del estroma de la vellosidad molar

Drs. Olivar C Castejón S, Renato Belouche C, Virginia Morett de Castejón

Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua, Universidad de Carabobo. Hospital "Angel Larralde", Instituto Venezolano del Seguro Social. Hospital "Carabaño Tosta", Maracay, Estado Aragua.

RESUMEN

Objetivo: Visualizar el estroma de las vesículas de una mola hidatidiforme en el segundo trimestre del embarazo en forma tridimensional con técnicas de microscopia electrónica de barrido y compararlas con las vellosidades de un aborto de la misma edad.

Método: Se utilizó la técnica convencional de hematoxilina-eosina, microscopia electrónica de barrido y microscopia de luz.

Ambiente: Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Maracay, Estado Aragua.

Resultados: Indican 5 formas de organizarse el estroma.

Conclusión: La disposición y distribución del estroma en esta variable morfológica, da una nueva visión tridimensional de la citoarquitectura del estroma de la vellosidad molar.

Palabras clave: Estroma. Vellosidad molar. Microscopia electrónica de barrido.

SUMMARY

Objective: The tridimensional visualization of the stroma of vesicles of a hydatidiform mole in the second trimester of pregnancy with scanning electron microscopy technique and compare them with same gestational age abortus villi.

Method: Conventional hematoxylin-eosin, scan electron microscopy and light microscopy were used.

Sitting: "Centro de Investigacion y Analisis Docente Asistencial del Nucleo Aragua. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo". Maracay, Estado Aragua.

Results: Five forms of stromal organization are shown.

Conclusion: Disposition and distribution in this morphological variable, give a new mole villi tridimensional stromal cyto-architecture.

Key words: Stroma. Mole villi. Scanning electron microscopy.

INTRODUCCIÓN

La vellosidad molar es la obtenida de pacientes con mola hidatidiforme, patología obstétrica poco común que afecta al embarazo como enfermedad trofoblástica gestacional (1). Esta vellosidad anormal se caracteriza por proliferación trofoblástica y edema del estroma que la transforma en vesícula de variable tamaño, dando el aspecto típico de un racimo de uvas. Clínicamente, esta patología ha sido clasificada en dos entidades: la completa, que tiene un riesgo del 20% para desarrollarse en un tumor trofoblástico y la parcial un 5% (1). La incidencia en Venezuela es de 1 por 988 embarazadas y su alta incidencia en algunas poblaciones se atribuye a

factores socioeconómicos y nutricionales (2,3). Numerosos estudios sobre la mola hidatidiforme hacen referencia a los aspectos histopatológicos (4,5), citogenéticos, epidemiológicos, clínicos, terapéuticos, ultrasonográficos, citométricos de flujo, bioquímicos, biomoleculares (6,7) y de análisis de imágenes geométricas asistida por computador (fractal) (8).

En los estudios histopatológicos, se ha tratado de relacionar la estructura histológica con su tendencia a malignizarse. De notable importancia clínica por cuanto las mujeres con embarazo molar requieren de seguimiento con mediciones urinarias de la gonadotropina B coriónica humana para detectar enfermedad trofoblástica persistente y tratamiento clínico inmediato. La microscopia electrónica, en general, ha sido escasamente aplicada al estudio de

CIADANA, Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua, Fac Cs de la Salud, Universidad de Carabobo. Trabajo a ser presentado en el XV Congreso Nacional de Obstetricia y Ginecología. Hotel Macuto Sheraton Resort 11-14/3/1998.

la mola. Los estudios de la microscopia electrónica de transmisión han hecho énfasis en la ultraestructura del trofoblasto (9,10) con muy poca referencia a las características del estroma. La visión tridimensional obtenida con el microscopio electrónico de barrido, y mayor profundidad de campo, permite la observación más rápida de grandes extensiones de tejidos dando un enfoque exactamente igual al existente *in vivo* con una mejor imagen de conjunto.

La microscopia electrónica de barrido (MEB), ha proporcionado elementos morfológicos típicos referidos al trofoblasto molar que explican la hiperplasia observada (11). En este estudio se espera obtener nuevos datos tomados del estroma de la vellosidad molar en un esfuerzo por encontrar algún rasgo ultraestructural en el estroma que pueda ser de importancia en lograr una correlación más efectiva con el diagnóstico clínico (12,13). Es nuestra intención describir aquí las características tridimensionales de la organización del estroma de la vellosidad molar, los cambios con relación al patrón normal y el contenido del mismo con las técnicas de MEB.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se obtuvo material de mola hidatidiforme de un embarazo terminado a mediados del segundo trimestre al cual no se le practicó estudio genético; ni se pudo conocer sobre presencia o ausencia de embrión. Siguiendo los rasgos morfológicos de Mazur y Kurman (4); Szulman y Surti (14) la clasifican como mola parcial. Material de la misma edad procedente de un aborto se tomó como control.

A ambos tipos de material se aplicaron las técnicas convencionales de hematoxilina - eosina y las de MEB. Numerosos especímenes de las vesículas molares fueron tomados para ser procesadas al microscopio de luz (ML) y al MEB.

Vesículas de mola fueron fijadas en 3% de formaldehído en Buffer cacodilato y deshidratadas en una serie creciente de etanol, desecadas en un desecador de punto crítico (HCP2, Hitachi, Tokyo, CO, LTD, Japón). Una vez desecadas fueron cortadas en mitades, bajo lupa estereoscópica, para mostrar el contenido de la región estromal. Este procedimiento permitió la observación de los elementos estromales mediante una adecuada micromanipulación.

Se realizó microdissección hasta la región que separa el estroma del trofoblasto, donde se ubica la

membrana basal. De cada vesícula se mostraron sus mitades en los porta especímenes, los cuales fueron cubiertos con oro en el cobertor iónico (IB3, Eiko, Co, LTD, Tokyo, Japón) y posteriormente observados en un microscopio electrónico de barrido Hitachi S2300 (Nissei Sangyo, Co, LTD, Tokyo, Japón).

RESULTADOS

El corte de una vesícula molar (Figura 1) da una imagen periférica redonda, oval o irregular del trofoblasto y un estroma central que contiene una abundante red de fibras colágenas dispuestas en forma densa o laxa según la región estromal que se observa (Figura 2). En esta malla suelen observarse células mesenquimales y fibroblastos (Figura 3 y 4). No se observaron células de Hofbauer.

A menudo se ven espacios que semejan cavernas divididas por estrías irregulares de tejido conjuntivo. Ocasionalmente pueden observarse paquetes de glóbulos rojos en el estroma. Hay vesículas en las cuales se observa una cavidad central grande e irregular y, una trama compleja de células, fibras o detritus celulares se nota desplazada y adosada a la capa más interna de las células trofoblásticas que conforman la pared de la vesícula molar. En otras se observan amplios espacios separados por pliegues o invaginaciones del trofoblasto o por tejido conjuntivo avascular, dando el aspecto de un laberinto (Figura 5).

En algunas vesículas se nota en la región estromal un material pastoso con apariencia de corrientes turbulentas que dejan regiones donde se ve una trama fibrosa desorganizada (Figura 6). En vesículas pequeñas de aproximadamente 3-5 mm, la región estromal puede aparecer avascular o acelular y ocupada por una densa red de fibras colágenas (Figura 7). Ocasionalmente se observaron en el estroma canales empotrados en la malla de fibras del estroma como surcos ramificados que evidencian la primitiva formación de vasos. De esta manera se pueden describir cinco formas de organizarse el estroma molar con: 1. cavidades irregulares y una trama fibrosa celular o no, íntimamente adosada a la pared del trofoblasto. 2. Espacios laberínticos limitados por tejido conjuntivo o pliegues de trofoblasto. 3. Masas de un material que semejan corrientes turbulentas. 4. Material fibroso denso. 5. Una combinación de las anteriores.



Figura 1. Corte de una vellosidad indicando el trofoblasto (flecha) región cisternal (flecha curva) y la trama de elementos estromales.



Figura 4. Región estromal laxa con fibroblastos (flecha).



Figura 2. La micrografía demuestra una red apretada de elementos estromales en algunas zonas y laxa en otras.



Figura 5. Trofoblasto (flechas) con pliegues hacia las cisternas (asteriscos). Se observa tejido conjuntivo sobre los pliegues (flecha curva).



Figura 3. Región de células mesenquimales con aspecto reticular (flecha) y fibroblastos (cabeza de flecha) en una compleja y densa trama de fibras colágenas.

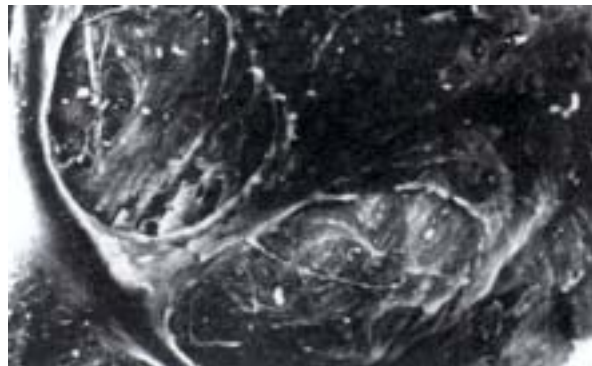


Figura 6. Una región del estroma con aspecto de fluidos en movimientos.

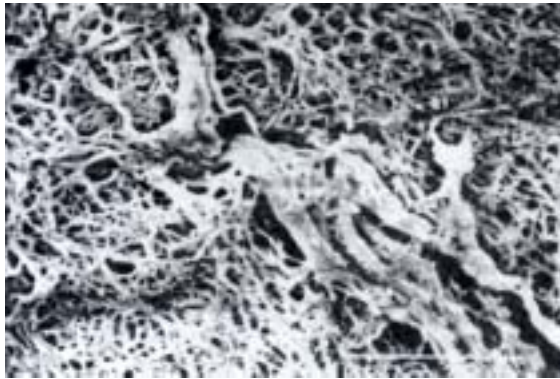


Figura 7. Parte del estroma que se observa en las vellosidades fibróticas.



Figura 9. Ampliación de una región similar a la mostrada en la Figura 8. Hendiduras (flecha) se notan entre las células trofoblásticas.

No se observó una lámina basal (Figura 8 y 9) que estuviese sosteniendo a las células trofoblásticas en la cercanía de éstas con el estroma. Sobre la superficie externa de la pared trofoblástica de la vesícula se observaron a veces estructuras con forma de cráteres.



Figura 8. Zona en la cual debería verse la membrana basal, presenta elementos fibrosos del estroma en contacto directo con las células internas del trofoblasto.

DISCUSIÓN

El estroma molar presentó una variabilidad morfológica con respecto al patrón normal formado, para la misma fecha, por una red de fibras colágenas que envuelven a células mesenquimales, células de Hofbauer y fibroblastos en la cual pueden observarse pequeños vasos fetales (15). En la vellosidad molar, en esta red, los espacios irregulares observados corresponden a zonas donde se encontraba una matriz extracelular la cual *in vivo* contiene un líquido causante del edema de la vellosidad. En aquellas vesículas de cavidad central grande e irregular ésta se corresponde con las cisternas descritas con la microscopia de luz por Szulman y Surti (14). La disposición y distribución de estos componentes del estroma en forma tridimensional organizando la citoarquitectura del estroma molar es lo realmente nuevo en este trabajo. La intercalación de espacios entre tejidos conjuntivos, en forma paralela, es la expresión de profundos pliegues de trofoblasto que invaden la cisterna dando una imagen de laberinto. O bien, pliegues de trofoblasto en serie pueden indentar el tejido conjuntivo que está adosado al trofoblasto hacia el interior de la cisterna y un corte del mismo que pueda pasar por éste da una imagen como la que exhibe en la Figura 5.

El material encontrado con aspecto de corrientes líquidas y entremezclado con regiones de un estroma, que ha sido desorganizado, revela que este ha penetrado desde el espacio intervelloso hacia el interior de la cisterna estromal. Durante el desarrollo de la vellosidad molar el trofoblasto reactivo hiperplásico envía brotes en forma de mazo hacia el espacio intervesicular que pueden desprenderse y dejar una abertura circular amplia por la cual penetraría plasma o sangre desde afuera. De hecho esta enfermedad cursa con deportación trofoblástica (1) y las estructuras en forma de cráteres observadas en la cara externa del trofoblasto no son aquí presentadas puesto que no son parte del estroma.

Las hendiduras observadas entre los espacios intercelulares de la capa de células trofoblásticas también facilitarían este mecanismo. Este material internalizado puede ser probablemente plasma sanguíneo asociado con mallas de fibrina. Las variaciones de presión en el espacio intervelloso crean una presión negativa en el interior de la vesícula que provoca la entrada de flujo sanguíneo, lo que explica su presencia en el estroma.

Las vesículas de contenido fibroso se han quedado en una etapa de inmadurez semejante al de una vellosidad troncal. El edema de la vellosidad molar crea en las miles de vesículas un escaso flujo sanguíneo entre ellas, en el espacio intervelloso, responsable de la formación fibrótica estromal (16).

El papel de la membrana basal es de interés en la patología de la mola hidatidiforme. Durante el desarrollo normal de la vellosidad en el embarazo, ésta tiende a engrosarse y hacerse impermeable (17). No se ha reportado el paso de sustancias a través de la membrana basal en vellosidad normal de 20-21 días, ni en vellosidades molares (18).

En estas condiciones de hipoxia o isquemia su tendencia es la de incrementar su grosor (16). Además, sostiene dos o tres capas de células las cuales pueden contribuir con la formación de mayor cantidad de material sobre ella y a engrosarla más. Si todo esto es cierto el edema es explicable: el fluido entra en dirección trofoblasto-cisterna central en el proceso evolutivo de la vellosidad molar (1) y se queda expandiendo la cisterna retenido por una membrana impermeable.

Las células trofoblásticas podrían ser capaces de degradar con enzimas su membrana basal y liberarse de ella en su carácter invasor (19). Las vesículas con esta tendencia tendrían una mayor probabilidad de malignización. La no observación de la membrana

basal en nuestro caso puede ser por efecto del tratamiento con el desecado de punto crítico o la deshidratación. Para confirmar este evento, estudios criotécnicos que eliminan los procedimientos de desecado por punto crítico y deshidratación, así como ultraestructurales con microscopía electrónica de transmisión recientemente empleados (20) se adelantan en nuestro laboratorio.

REFERENCIAS

1. Cunningham FG, MacDonald PC, Leveno KJ, Gant NF, Gilstrap LC. Diseases and abnormalities of the placenta. Williams Obstetrics. 19ª edición. Norwalk Connecticut: Appleton y Lange; 1993.
2. Quiñones RRJ, Quiñones FAG. Embarazo molar parcial con feto coexistente. Presentación de un caso y revisión de la literatura. Rev Obstet Ginecol Venez 1997;57:61-66.
3. Quiñones ZC. Mola hidatidiforme. Aspectos clínicos, incidencia y factores de riesgo. Ginecol Obstet Mex 1994;83:35-42.
4. Mazur MT, Kurman RJ. Gestational trophoblastic disease. En: Kurman RJ, editor. Blaustein's pathology of the female genital tract. 4ª edición. New York: Edit Springer-Verlag; 1994.p.1055-1093.
5. Paradinas FJ, Fisher RA, Browne P, Newlands ES. Diploid hydatidiform moles with fetal red blood cells in molar villi. 1. Pathology, incidence, and prognosis. J Pathol 1997;181:183-188.
6. Van de Kaa CA, Robben JC, Hopman AH, Hauselaar AG, Vooijs GP. Complete hydatidiform mole in twin pregnancy: differentiation from partial mole with interphase cytogenetic and DNA cytometric analyses on paraffin embedded tissues. Histopathology 1995;26:123-129.
7. Osada H, Litsuka Y, Matsui H, Seikiya S. A complete hidatidiform mole coexisting with a normal fetus was confirmed by variable number tandem repeat (VNTR) polymorphism analysis using polymerase chain reaction. Ginecol Oncol 1995;56:90-93.
8. Cross SS, Howat AJ, Stephenson TJ, Cotton DW, Underwood JC. Fractal geometric analysis of material from molar and non-molar pregnancies. J Pathol 1994;173:115-118.
9. Garancis JC, Patillo RA, Hussa RO, Schultz J, Nattingly RF. Electron microscopic and biochemical patterns of the normal and malignant trophoblast. Am J Obstet Gynecol 1970;108:1257-1268.
10. Fox H, Kharkongor NF. The ultrastructure of molar trophoblast. Br J Obstet Gynaecol 1971;78:652-659.
11. Ockleford C, Barker C, Griffiths J, McTurk G, Fisher R, Lawler S. Hydatidiform mole an: ultrastructural analysis of syncytiotrophoblast surface organization. Placenta 1989;10:195-212.

12. Legier JF. Diagnostic criteria of molar conditions. *Hum Pathol* 1996;27:96-97.
13. Paiva de A S. Mola hidatidiforme. Criterios diagnósticos más resaltantes. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1989;49:13-17.
14. Szulman AE, Surti U. The syndrome of hydatidiform mole II. Morphologic evolution of the complete and partial mole. *Am J Obstet Gynecol* 1978;132:20-27.
15. Castelluci M, Kaufmann P, Wang T, Zaccheo D. Scanning (SEM) and transmission (TEM) electron microscopy of the human placenta villous stroma. *Verh Anat Ges* 1981;75:455-456.
16. Fox H. Pathology of the placenta. *Clin Obstet Gynaecol* 1986;13:501-509.
17. Demir R. Ultrastructure of the epithelium of the chorionic villi of the human placenta. *Acta Anat* 1980;106:18-29.
18. Knoth M. Ultrastructure of chorionic villi from a four-somite human embryo. *J Ultrastructure Res* 1968;25:441-445.
19. Rubin E, Farber JL. Neoplasia. *Patología Fundamentos*. 1ª edición. México: Edit Médica Panamericana; 1992.p.85-118.
20. Kohnen G, Kertschanska S, Demir R, Kaufmann P. Placental villous stroma a model system for myofibroblast differentiation. *Histochem-Cell Biol* 1996;105:415-429.

Agradecimientos

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Carabobo (CODECIHT), por el financiamiento institucional de equipos de MEB; a la Sra. Keyla Aguilar por mecanografiar el manuscrito; al Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Carabaño Tosta del IVSS, Maracay por el espécimen estudiado.