

La vellosidad placentaria en meroanencefalia

Drs. *Olivar C Castejón**, *Norka Robles***, *Virginia Morret de Castejón****

RESUMEN

Objetivo: Se pretende con estudios de microscopía de luz y electrónica de barrido presentar una visión simultánea de imágenes de la vellosidad en caso de meroanencefalia según desarrollo del árbol vellosa con los tipos de estructura vellosa y grado de maduración.

Método: Muestras de las últimas ramificaciones del árbol vellosa, de la semana 28, con grado "I" de madurez se compararon con normales de la misma edad.

Ambiente: Laboratorio de Microscopía Electrónica del CIADANA, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo-Maracay-Venezuela.

Resultados: vellosidades troncales, intermedias inmaduras y maduras y vellosidades terminales fueron observadas. Hay predominio de intermedias inmaduras. Ocasionalmente se observaron intermedias maduras con escasas terminales.

Conclusión: los resultados indican inmadurez vellosa sincrónica acorde con el patrón normal. Las técnicas descritas dan información diagnóstica adicional útil cuando las demás pruebas como la ultrasonografía y determinación de alfa feto proteína resultan complementarias.

Palabras clave: Vellosidad placentaria. Anencefalia.

SUMMARY

Objective: It is our proposal to present a simultaneous view of images of placental villi in a case of meroanencephaly according to development of villous tree with the types of villi and maturation associated.

Methods: Samples of the last branches of the villous tree, of 28 week from placenta grade I, were compared with normal villi of the same age.

Setting: Laboratory of Electron Microscopy, CIADANA, Faculty of Health Sciences, University of Carabobo, Maracay-Aragua, Venezuela.

Results: Stem villi, mature and immature intermediate villi and terminal villi were seen. Occasionally were observed mature intermediate villi with scanty terminal villi. Immature villi are the dominating feature.

Conclusion: The findings indicate synchronous villous immaturity. Villous maturation is retarded. This additional information with these stains is useful when other tests as AFP determination or ultrasonographic studies have been correlated.

Key words: Placental villi. Anencephaly.

INTRODUCCIÓN

La meroanencefalia es una malformación fetal del sistema nervioso central con ausencia del cerebro anterior y medio, letal, que resulta de un defecto en el cierre del neuroporo rostral durante la cuarta semana del desarrollo. Los hemisferios cerebrales están ausentes y con frecuencia también el diencefalo y la mayor parte del cerebro medio (1).

Esta malformación ha sido estudiada en sus aspectos anatomoclínicos, etiológicos y epide-

miológicos (2-6). Se presenta con una incidencia variable entre 1 y 2 a 6 por cada mil nacimientos (4,3).

La vellosidad placentaria normal ha sido muy bien estudiada en los casos de madurez vellosa sincrónica, entre las ocho y veinte semanas posmenstruación y la anormal en los casos de incompatibilidad Rh; asfixia fetal, embarazo prolongado, hipoxia, retardo del crecimiento intrauterino, diabetes, prematuridad, desórdenes

*Coordinador General del CIADANA. Prof. Titular en Biología Celular. Fac. Cs de la Salud, Universidad de Carabobo. Maracay, Edo. Aragua.

**Médico Obstetra-Ginecólogo de la Maternidad "La Floresta", Edo. Aragua.

***Bioanalista Titular del Laboratorio del Hospital Carabaño Tosta "IVSS" Maracay, Edo. Aragua.

CIADANA: Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua, Fac. Cs de la Salud, Universidad de Carabobo.

Recibido: 16-03-99

Aceptado para publicación: 20-9-99

hipertensivos y placentas en altitudes muy elevadas (7).

Los estudios clínicos realizados con esta malformación dan poca información sobre las características de la vellosidad placentaria haciendo referencia a insuficiencia placentaria o circulatoria. Los pocos estudios que reportan la vellosidad en caso de meroanencefalia (8-11) nos obligan a clasificar el aspecto de la vellosidad según grado de madurez siguiendo los criterios actuales de malformación vellosa dados por Benirschke y Kaufmann (7). Hay una nomenclatura del árbol vellosa normal que debe aplicarse a estas vellosidades según su estructura y grado de maduración deducible.

Se pretende con estudios de microscopia de luz y electrónica de barrido (ML y MEB) presentar una visión simultánea de imágenes de la vellosidad en caso de meroanencefalia acorde con el patrón actual de la citoarquitectura que informa sobre el grado de maduración alcanzado por el árbol vellosa. Nuestro propósito en este estudio es la de dar a conocer los tipos de estructura vellosa, el grado de maduración y una visión tridimensional con especial referencia a la vellosidad intermedia inmadura en este caso de malformación nerviosa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras fueron tomadas de la placenta de una paciente de 21 años a las 28 semanas y seis días de embarazo, a quien se le determinó por ultrasonografía, placenta grado I con el diagnóstico de meroanencefalia.

Microscopia de luz

Muestras de vellosidades pertenecientes a las últimas ramificaciones del árbol vellosa conocidas en la literatura como "*ramuli chorii*", a una distancia de 4 mm de la placa coriónica, fueron procesadas con la técnica convencional de H-E. Secciones de 3-5 μm y 8 μm fueron cortadas en parafina y comparadas con el control de la misma semana de gestación procedente de aborto terapéutico.

Observaciones fueron hechas con un Fotomicroscopio Standard Clínico Zeiss con cámara MC63A (West Germany).

Microscopia electrónica de barrido

Los cortes de 3-5 μm y 8 μm de la ML fueron procesados para MEB según método modificado de Boyde y Reid (12). Así los cortes preparados con H-E fueron cortados con lápiz de diamante del portaobjeto o lámina de vidrio en aquellas zonas de

interés para las observaciones. Posteriormente fueron lavados, deshidratados, desecados en el desecador de punto crítica HCP-2 Hitachi, cubiertos con Au en el Cobertor Iónico Eiko IB-3 (Eiko Engineering, Co, Ltd, Japón) y observados al MEB Hitachi S2300 (Nissei Sangyo Co. Ltd, Tokio, Japón).

Los cortes de 8 μm se realizaron para obtener una mayor profundidad de campo. Teñidos o no los cortes son aptos para MEB.

El mismo material observado por el histólogo o patólogo es susceptible de ser observado por el microscopista electrónico de barrido ampliando el horizonte de observación de los dos primeros, enriqueciendo los detalles (12).

RESULTADOS

Microscopia de luz

Vellosidades troncales, intermedias maduras, intermedias inmaduras y terminales fueron observadas en los cortes de 3-5 μm . Las troncales se reconocieron sobre la base de un estroma rico en fibras del tejido conjuntivo y vasos conteniendo una capa media. Estos son dos arteriolas y una vénula que mostraron una luz congestionada por eritrocitos normales en la mayoría de los casos. Las troncales observadas correspondieron a las ramificaciones conocidas en la literatura como "*ramuli chorii*". Vasos muy pequeños en diámetro de la red paravascular también fueron vistos. No hay, en general, variación con respecto a las observadas de 28 semanas como control.

Las vellosidades intermedias maduras son muy escasas, con pocas fibras en un estroma laxo, reducido número de capilares periféricos, capa de trofoblasto relativamente ancha y los vasos sin una media identificable son arteriolas o vénulas. Cuando logran observarse se notan con pocas vellosidades terminales asociadas en comparación con una normal a término. Éstas se observaron originándose de las intermedias inmaduras y al igual que las troncales no son aquí demostradas.

Las vellosidades intermedias inmaduras son el tipo predominante (Figura 1). Se logran observar hasta doce cortes de secciones transversales con el objetivo de 10x. De éstas se originan muy ocasionalmente intermedias maduras; pero con más frecuencia brotes sinciciales y vellosidades terminales. Se caracterizan por un estroma reticular, de células reticulares cuyas prolongaciones citoplasmáticas conforman una compleja red que dejan unos espacios los cuales constituyen canales

tridimensionales a lo largo del eje longitudinal de la vellosidad donde se alojan macrófagos o células de Hofbauer. Estos canales con macrófagos identifican la vellosidad cuyo estroma contiene pocos vasos y fibras de tejido conjuntivo (Figura 2,6).

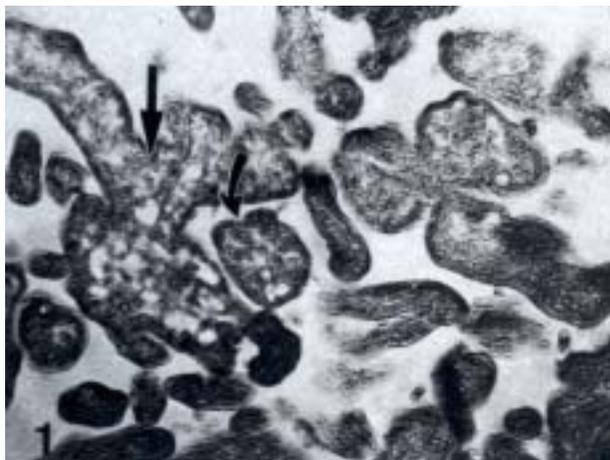


Figura 1. Vellosidades intermedias inmaduras como sacos irregularmente ramificados o expandidos se observan (flecha). Se nota el inicio de ramificaciones dicotómicas (flecha curva). 125x.

Las vellosidades terminales surgen de las intermedias maduras y ocasionalmente de las intermedias inmaduras (Figura 2) o de las troncales. De dos a cuatro capilares fetales dilatados sinusoidalmente se localizan en un estroma (Figura 2).

De estos cuatro tipo de vellosidades las que mayor llaman la atención, son las intermedias inmaduras de gran calibre, que suelen ramificarse (Figura 2), contener prominentes citotrofoblastos debajo del sincitio, mostrándose como sacos irregularmente expandidos (Figura 1). Sobre la superficie de estos sacos pueden verse brotes sinciciales o el inicio de ramificaciones dicotómicas (Figura 1).

El árbol velloso así descrito contiene los cuatro tipos de vellosidades con predominio de intermedias y terminales.

Microscopía electrónica de barrido

Sectores del *ramuli chorii* se correlacionaron con los cortes obtenidos con ML (Figuras 3,4). Estos hallazgos revelaron vellosidades intermedias inmaduras ramificadas (Figura 4) dando origen a terminales, brotes sinciciales o nuevas vellosidades intermedias inmaduras. Éstas suelen tener el aspecto de vejigas infladas o bulbosas sobre cuya superficie irregular suelen notarse el inicio de las nuevas



Figura 2. Sección de vellosidad intermedia inmadura que exhibe canales estromales (flecha) con macrófagos en su interior. Dos vellosidades terminales con capilares se notan en la parte media superior de la microfotografía. 496x



Figura 3. Vellosidades intermedias inmaduras globulosas se observan en la parte media superior y central con vellosidades terminales asociadas. La flecha curva señala ramificación dicotómica de vellosidades terminales.

ramificaciones dicotómicas (Figura 5). El corte de 3-5 μm (Figura 6) de una región de esta vellosidad revela la compleja trama formada por las células reticulares y fibras en el estroma la que se comparó con la obtenida de 8 μm por la MEB (Figura 7).

Los canales estromales se observan con cierta profundidad con este tipo de corte (Figura 8) y con los cortes de 3-5 μm se pudo notar la presencia de macrófagos en los canales cuyas paredes están conformadas por el cuerpo y las prolongaciones citoplasmáticas de células reticulares que toman contacto (Figura 9).



Figura 4. Una ampliación de la Figura 3 en la cual se exhibe una ramificación (flecha) saliendo de una vellosidad intermedia inmadura.



Figura 5. La región media inferior muestra una vellosidad intermedia inmadura con forma de saco que presenta brote sincicial (flecha curva) y el principio de ramificación dicotómica (flecha).

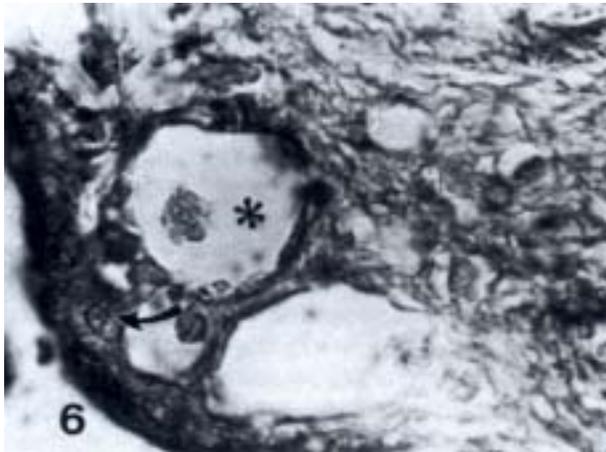


Figura 6. Corte con ML de una región estromal de vellosidad intermedia inmadura con destacados canales estromales(*) que contienen células de Hofbauer. Prominentes citotroblastos se notan (flecha). Los canales se delimitan por células reticulares. 496x.

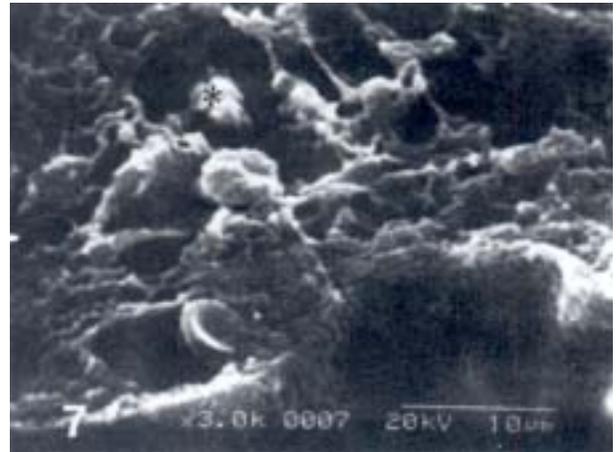


Figura 7. Una región de 8 μ m (lámina histológica) similar a la observada en la Figura 6 con MEB. Se aprecia la superficie del trofoblasto, capilar estromal superficial, macrófago(*) dentro de canal estromal en una trama tridimensional de fibras y células.

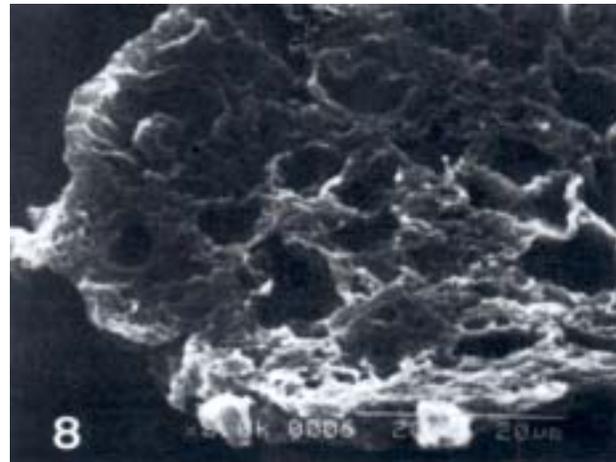


Figura 8. Un corte transversal de 8 μ m de espesor correspondiente a vellosidad intermedia inmadura en la cual se aprecia la profundidad de varios canales estromales.

DISCUSIÓN

Los factores involucrados en la génesis de los defectos del tubo neural han sido: dosis tóxicas de salicilatos (2); deficiencia de Zn (3,4); alimentarias y de ácido fólico (2); ácido retinoico y grandes cantidades de vitamina D (1); alteraciones cromosómicas (2,4) y lesiones mecánicas por bridas amnióticas, por lo que esta malformación es de origen multifactorial (1). Según los resultados

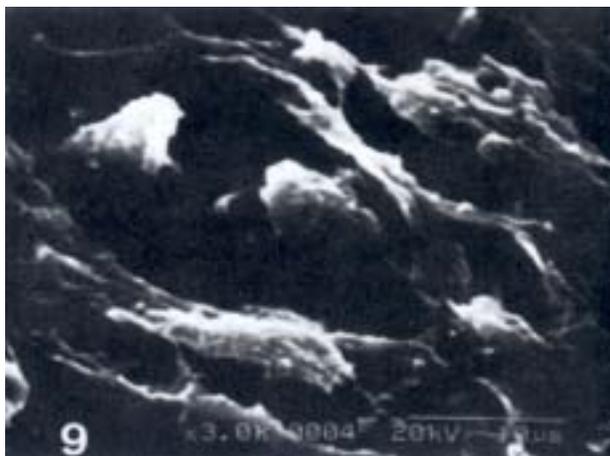


Figura 9. Detalle de una región estromal observada en láminas histológicas de 3-5 µm con técnica de MEB. Dos macrófagos se observan a nivel de la ubicación del canal estromal. El contacto entre prolongaciones de células reticulares es notable.

obtenidos las vellosidades de este caso de meroanencefalia no son diferentes a las observadas durante la semana 28 del desarrollo normal.

La placenta obtenida fue grado I por ecografía y se desarrolló, según historia clínica hasta la semana 28 y seis días por lo que estamos en presencia de inmadurez vellosa sincrónica. Este último término es usado para las características histológicas del árbol vellosa inmaduro que corresponde a lo que se espera que sea normal para la etapa del embarazo (7).

Los criterios clásicos de madurez placentaria han sido los siguientes: 1. aumento de espacios vasculares en la vellosidad. 2. disminución del tejido conjuntivo intravellosa periférico con aumento en el número de puentes sinciciales. 3. decrecimiento en el diámetro vellosa con aumento en la superficie de la vellosidad individual. 4. aumento en las hojas de tejido conjuntivo de los vasos en las vellosidades troncales.

Nuestros resultados reportan verdaderos brotes sinciciales saliendo de vellosidades intermedias inmaduras al igual que en la vellosidad control. Además prominentes citotrofoblastos y vellosidades intermedias inmaduras indican inmadurez placentaria. Batson y col. (8) reportaron con estudios morfométricos asistidos por un computador que la población de citotrofoblastos es mayor en la placenta de anencefalos la cual no posee gránulos de lipofuscina. Si bien nuestro caso pertenece a un embarazo al principio del último trimestre, datos

aportados por otros autores al final del último trimestre (8,11) indican que la placenta de anencefalos permanece con inmadurez vellosa asincrónica. Se especuló que el feto intacto participa en el control de la maduración placentaria (8). Tapp reportó en un caso de anencefalia a las 33 semanas de gestación vellosidades inmaduras para el período de embarazo (9) y un rasgo no común de depósitos de calcio bajo la membrana basal que sostiene al trofoblasto. Avery y Aterman (10) corrigieron la falsa impresión de que los depósitos de calcio observados por Tapp son, en realidad, frecuentes en la placenta humana. No se observó este rasgo en el caso nuestro no estando relacionado con esta malformación.

La importancia de este estudio radica en que los patólogos tienen la oportunidad de continuar el estudio de la vellosidad con mayor detalle ya que la misma lámina observada por ellos puede ser procesada para MEB (12).

En los casos donde los niveles de alfafeto-proteínas (AFP) se sobreponen con los valores encontrados entre la semana 16 a 18 y se imposibilita el diagnóstico seguro de esta malformación; la biopsia coriónica y posterior evaluación con estas técnicas aquí descritas amplían el horizonte del conjunto de técnicas y procedimientos a utilizar en el diagnóstico prenatal (13).

Son los estrógenos los que parecen estar regulando el proceso de maduración placentaria de la vellosidad. Se conoce que la adrenal fetal produce un precursor de estrógeno el cual se metaboliza en la placenta a estradiol o estriol. Cambios degenerativos, en placenta con feto anencefálico, observados en el estroma de la vellosidad (11) influyen en la acción de los capilares impidiendo el acceso del precursor al espacio intervallosa y por lo tanto una baja secreción de estradiol urinario materno. La escasez de vellosidades intermedias maduras indican inmadurez.

Los fetos anencefálicos tienen una marcada atrofia de la zona fetal de la adrenal, por consiguiente, disminuye la producción de precursores de estrógeno que serán en parte los responsables de la maduración en la vellosidad. Esta deficiencia estrogénica disminuye notablemente el flujo sanguíneo a través de los vasos placentarios (14). La disminución del flujo sanguíneo origina que haya poca cantidad de HCG provocando una escasa diferenciación de citotrofoblastos en sincitio, retardando la maduración. Esto explica la observación de vellosidades intermedias inmaduras y escasas maduras que se notan en la meroanencefalia confirmada por otros

(8). La diferenciación del trofoblasto es clave en el proceso de maduración de la vellosidad (15). Por otro lado, la HCG que sintetizada en el trofoblasto también estimula a la zona fetal de la suprarrenal para la producción de DHEA y que por estar en la semana 28, hay proceso de involución (14) que disminuye la producción de estriol esencial para la maduración. Alrededor del 90% del estriol llega a ser originado a partir de DHEA fetal. No conocemos de otros factores involucrados directamente en la maduración. Es posible que independientemente de la zona fetal adrenal o flujo sanguíneo materno la placenta secrete su propio agente modulador de maduración.

Hormonas polipeptídicas, como la hormona del crecimiento placentario (PGH) (16), insulina, factores de crecimiento insulínico PG1 y PG2 (14), inhibina, activina, folistatina (17), GnRH, HCG, u otros probablemente conformen un sistema regulador interno placentario que auto regule la maduración. Estas especulaciones requieren de posterior estudio.

No obstante, factores genéticos como la triploidia parecen expresar un fenotipo de vellosidades esféricas o bulbosas así obtenidas de aborto temprano y que son semejantes a las aquí demostradas (18). Es un hecho conocido también, que la vesícula molar conforma una vellosidad con estroma mesenquimal, inmadura, cuya estructura globulosa es la expresión fenotípica de su genotipo triploide. En conclusión, la maduración de la vellosidad parece depender de múltiples factores. La asociada con meroanencefalia presenta inmadurez sincrónica por una deficiencia estrogénica caracterizada por un retardo en la transformación de vellosidades troncales o intermedias en vellosidades maduras en el último trimestre del embarazo (7,19).

Agradecimientos

Al fondo fijo institucional de la Fac. Cs de la Salud de la Coordinación Administrativa del Núcleo Aragua para materiales reactivos y servicios del CIADANA. A la Sra. Carmen Espinoza por su asistencia técnica en la preparación de láminas histológicas. Al Dr. Renato Belouche por la obtención del material.

REFERENCIAS

- Moore KL. Elementos de embriología humana. 1ª edición. México: Interamericana. Mc Graw-Hill; 1991.p.165-168
- Santángelo MT. Cuatro anencéfalos con mielosquisis y onfalocelo en el Hospital Universitario de los Andes, Mérida. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1998;58:43-47.
- Del Villar LP, De Serrano GN, Del Villar A. Defectos del tubo neural en el Hospital Pedro García Clara, Edo. Zulia Venezuela. *Invest Clin* 1993;34:41-52.
- Main DM, Mennuti MT. Neural tube defects: Issues in prenatal diagnosis and counselling. *Obstet Gynecol* 1986;67:1-14.
- Agüero O, Kízer S, Castellanos R, Soto J. Anencefalia. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1975;35:329-347.
- Ávila MA, Ferrer DE, Sevilla R. Anencefalia en el Hospital Adolfo D'Empaire de Cabimas. *Epidemiología y Anatomía Patológica en 63 casos, con referencia especial a malformaciones asociadas.* *Acta Méd Venez* 1984;31:13-25.
- Benirschke K, Kaufmann P. Pathology of the human placenta. 3ª edición. New York: Springer-Verlag; 1995.p.167-181.
- Batson JL, Winn K, Dubin NH, Parmley TH. Placental immaturity associated with anencephaly. *Obstet Gynecol* 1985;65:846-847.
- Tapp E. Basement - membrane calcification in the placenta. *J Pathol* 1969;99:333-335.
- Avery CR, Aterman K. Calcification of the basement-membrane of placental villi. *J Pathol* 1971;103:199-200.
- Berge BS. The placenta in anencephaly. *Gynaecology* 1965;159:359-364.
- Boyde A, Reid A. A new method of scanning electron microscopy for imaging biological tissues. *Nature* 1983;302:522-523.
- Moreno H, Valera V, Bracho A, Rodríguez Z, Martínez X, Herrera M, et al. Atención genética perinatal primaria para la prevención de los defectos del nacimiento. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1998;58:217-229.
- Gómez TG. Endocrinología del embarazo. En: Cifuentes BR, editor. *Obstetricia de alto riesgo.* 4ª edición. Cali: Aspromédica; 1994.p.49-63.
- Shi Qj, Lei ZM, Rao CV, Lin J. Novel role of human chorionic gonadotropin in differentiation of human cytotrophoblasts. *Endocrinology* 1993;132:1387-1395.
- Patel N, Alsat E, Igout A, Baron F, Hennen G, Porquet D, et al. Glucose inhibits human placental GH secretion in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1743-1746.
- Petraglia F. Inhibin, activin, and follistatin in the human placenta a new family of regulatory proteins. *Placenta* 1997;18:3-8.
- Reckelein G, Ulmer R, Schwille R. Surface and branching of placental villi in early abortion: Relationship to karyotype. Scanning electron microscopic study. *Virchow Arch A Pathol Anat Histopathol* 1990;417:151-158.
- Castellucci M, Scheper M, Scheffen I, Celona A, Kaufmann P. The development of the human placental villous tree. *Anat Embryol (Berl)* 1990;181:117-128.